

Zum histologischen Bild der sogenannten Primärheilung der Knochenkomplexe nach experimentellen Osteotomien am Hund

Bei einer einwandfrei stabilen Osteosynthese kann eine Schaftfraktur ohne oder fast ohne röntgenologisch sichtbare Kallusbildung heilen, namentlich dann, wenn die Frakturstelle unter Druck gesetzt wird^{1,2}. DANIS hat diese Art Frakturheilung als «soudure autogène» beschrieben und vermutet, dass sie in erster Linie von der Corticalis selber ausgehen müsse. In der deutschen Terminologie spricht man von einer «primären Heilung». Bis heute ist aber das histologische Äquivalent dieser Vorgänge noch unbekannt.

Physiologischerweise erfolgt in der Corticalis zeitlebens ein Umbau, der vom Inhalt der Haversschen Kanäle ausgeht und zu einer steten Erneuerung der Osteone führt. KNESE stellt deshalb der periostalen und endostalen Osteogenese begrifflich durchaus zutreffend eine «intracanalikuläre», unseres Erachtens besser «intracanaläre» Osteogenese zur Seite (als «canaliculi» werden heute die für die Osteocytenausläufer ausgesparten Kanälchen bezeichnet). Träger dieser intracanalären Osteogenese sind Zellen mesenchymaler Herkunft, die in Begleitung der Blutgefäße den Inhalt der Haversschen Kanäle ausmachen. In Anpassung an die jeweilige lokale Reaktionslage (z. B. Wachstum, Belastung, Veränderung des Stoffwechsels) entwickeln diese Zellen eine osteoblastische oder osteoklastische Aktivität, die von charakteristischen cytologischen und histochemischen Differenzierungen begleitet ist.

Die knochenbildenden Potenzen der intracanalären Zellen kommen auch bei der Heilung von Corticalisdefekten zur Auswirkung. So konnte BASSETT³ unter bestimmten experimentellen Bedingungen den Nachweis erbringen, dass gegen das Periost und das Endost abgeschirmte Corticalisdefekte ausgehend vom Inhalt der eröffneten Haversschen Kanäle knöchern ausgefüllt werden.

Es lag nahe, die Rolle einer solchen, von der Corticalis ausgehenden Knochenbildung auch bei der Frakturheilung zu überprüfen, insbesondere unter den von DANIS geforderten mechanischen Bedingungen. Zur Abklärung dieser Fragen hat unsere Arbeitsgruppe⁴ Druckosteosynthesen am Radius von Hunden ausgeführt. Als Frakturmödell diente eine Querosteotomie von 0,2 mm Schnittbreite. Die Osteosynthese erfolgte mit einer 4-Lochplatte, welche unter einer Vorspannung von 0, 10, 20 und 30 kg aufgeschraubt wurde und die Fragmente einwandfrei stabilisiert (Figur 1). Eine äußere Fixation erübrigte sich, die Tiere konnten nach dem Erwachen aus der Intubationsnarkose die operierte Extremität beladen und bewegten sich nach Abschluss der Wundheilung frei. Wöchentliche Röntgenkontrollen zeigen, dass die anfänglich deutlich sichtbare Osteotomiestelle innerhalb von 6–8 Wochen durchgebaut wird und konsolidiert. Periostale Auflagerungen sind im Bereich der Osteotomie selten, dagegen regelmäßig in der Umgebung der Schrauben und entlang der Plattenränder nachweisbar (Figur 1). Mikroskopisch ist im Übersichtsbild die periostale und endostale Knochenbildung um das Schraubengewinde klar ersichtlich, die Osteotomiestelle weist dagegen nur eine geringe periostale Auflagerung und endostale Verbalkung auf (Figur 2). Der Durchbau der Osteotomie erfolgt überwiegend oder ausschließlich durch eine von den intracanalären Zellen und Gefäßen ausgehende Ossifikation. Aus methodischen Gründen (Ausgleich der dorsalkonvexen Durchbiegung des Radius durch die völlig plane Platte) ist die Adaption der Fragmentenden nicht über

den ganzen Querschnitt gleich. Dies führt zu charakteristischen Unterschieden im Ablauf der histologischen Vorgänge. An leicht klaffenden Stellen (0,1–0,3 mm) wachsen Zellen und Gefäße in die Spalte ein und entfalten anfänglich eine überwiegend osteoklastische Tätigkeit, die zu einem «Anfrischen» der Fragmentenden führt. Dieser Abbau hält sich in engen Grenzen und wird nach spätestens 10–14 Tagen von einem intensiven Knochenaufbau abgelöst. Nach 4 Wochen (Figur 3) ist die Spalte durch neu

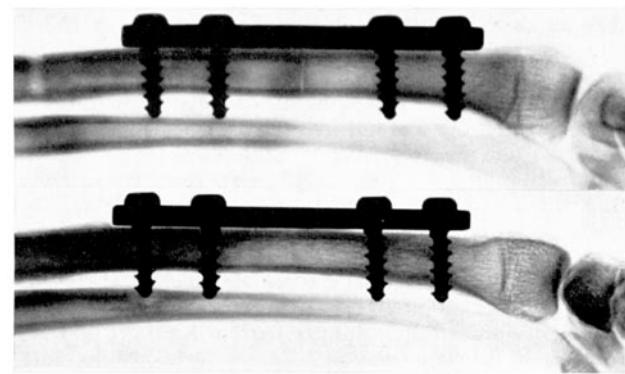


Fig. 1. Röntgenbilder des Radius eines Hundes nach Querosteotomie und Druckosteosynthese mit 20 kg. Oben 3 Tage, unten 10 Wochen nach der Operation.

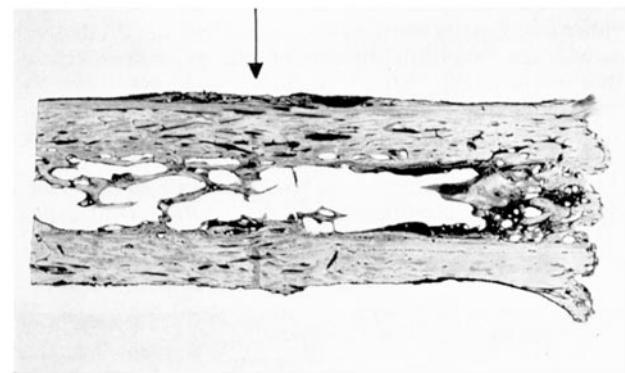


Fig. 2. Längsschliff des Falles der Figur 1, 10 Wochen *post operationem* 4:1. Am rechten Bildrand ist die periostale und endostale Knochenbildung um ein Schraubengewinde erkennbar. Die Osteotomiestelle (Pfeil) ist auf dem Wege einer «intracanalären Osteogenese» – d. h. ausgehend vom Inhalt eröffneter Haversscher Kanäle – knöchern durchgebaut.

1 R. DANIS, *Théorie et pratique de l'ostéosynthèse* (Masson & Cie, Paris 1949).

2 H. WILLENEGGER, R. SCHENK, F. STRAUMANN, M. MÜLLER, M. ALLGÖWER und H. KRÜGER, Langenbecks Archiv und Dtsch. Z. Chirurgie 301, 846 (1962).

3 C. A. L. BASSETT, Surg., Gyneec. Obst. 112, 145 (1961).

4 M. ALLGÖWER, Chir. M. MÜLLER, St. Gallen, R. SCHENK, Basel, H. WILLENEGGER, Liestal, F. STRAUMANN, Waldenburg, *Grundlagenforschung über stabile Osteosynthese*, mit Unterstützung der FRITZ HOFFMANN-LA ROCHE-STIFTUNG zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz.

angebauten, kompakten Knochen überbrückt. Die Orientierung der neu gebildeten Osteone folgt der Ausbreitungsrichtung der einsprossenden, sich verzweigenden Gefäße. Die Anschlussflächen an die Fragmentenden nehmen den Charakter von Kittlinien an. Die Festigkeit der Verbindung ist bereits nach 4 Wochen bemerkenswert, lassen sich doch ohne Einbettung feine Scheiben heraussägen und auf eine Dicke von $15-30 \mu$ herunterschleifen. Die ursprüngliche Struktur der Corticalis kann an solchen Stellen aber erst auf dem Wege eines Durchbaues mit sekundären Osteonen wiederhergestellt werden. Diese sind in der 4. bis 6. Woche bereits in voller Ausbildung begriffen und verlaufen histologisch unter einem, dem Haversschen Umbau analogen Bild. Die Umbaurate ist aber im Bereich der Osteotomie enorm gesteigert. Durch osteoklastischen Abbau entstehen Resorptionskanäle, die parallel zu den vorbestehenden Osteonen orientiert sind und sich stellenweise spitzwinklig verzweigen. Histologisch interessant ist der Befund, dass sich die Osteoblasten am blinden Ende der Resorptionskanäle zu einer Art «Bohrkopf» vereinigen, der den Kanal in axialer Richtung verlängert (Figur 4). Unmittelbar im Anschluss an die Osteoklasten folgt ein zell- und gefäßreiches Blastem, aus dem sich Osteoblasten differenzieren, welche auf die Wandung des Resorptionskanals neue Knochenlamellen ablagern.

An optimal adaptierten Osteotomiestellen stehen die Fragmente praktisch in unmittelbarem Kontakt und verhindern ein Einwandern von Zellen in die höchstens einige μ breite Spalte. Der durch die partielle Devitalisierung der Fragmentenden ausgelöste osteoklastische Abbau beschränkt sich auf die Ausbildung von Resorptionskanälen, deren Orientierung mit der Anordnung der ursprünglichen Osteone übereinstimmt. Der Aufbau der sekundären Osteone erfolgt demnach von Anfang an gerichtet und setzt nach unseren Beobachtungen auch 2-3 Wochen früher ein. Bereits nach 6 Wochen sind solche Stellen von zahlreichen Osteonen durchwachsen, die eine beträchtliche Wandstärke aufweisen (Figur 5). Durch diese Regenerate werden die Fragmentenden miteinander verzapft. Die übriggebliebenen, teilweise devitalisierten Corticalisbezirke werden im Laufe der Zeit durch weitere Osteone ersetzt, können als Schaltlamellen aber auch noch über längere Zeitabschnitte erhalten bleiben.

Die dargelegten Befunde zeigen, dass nach idealer Reposition und einwandfreier Stabilisierung der Fragmente die Corticalis einen wesentlichen Beitrag an die Heilung einer Schaftfraktur leisten kann. Die Träger dieser aktiven Leistung der Corticalis sind die in den Haversschen Kanälen enthaltenen perivaskulären Zellen, deren osteoklastische und osteoblastische Potenzen durch die Osteotomie bzw. die Fraktur aktiviert werden. Vollkommen adaptierte Fragmente werden ausschliesslich auf dem Wege eines Haversschen Umbaues miteinander vereinigt, wobei die ursprüngliche Corticalisstruktur primär wiederhergestellt wird. In Anlehnung an die einleitend angeführten Begriffe ist dieser Modus als eine *Frakturheilung durch intracanaläre Osteogenese* zu bezeichnen. Sie stellt das histologische Äquivalent der röntgenologisch beschriebenen sogenannten primären Heilung einer Schaftfraktur dar. Ob der axiale Druck über die Verbesserung der Adaptation und Stabilität hinaus noch eine

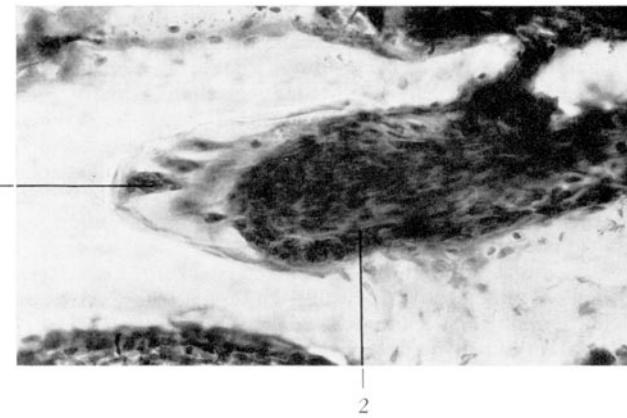


Fig. 4. Die Regeneration der Osteone beginnt mit der Ausbildung eines Resorptionskanals, der durch Osteoklasten (1) in den devitalisierten Knochen vorgetrieben wird. Unmittelbar darauf beginnen Osteoblasten (2) mit dem Aufbau neuer Knochenlamellen. Längsschliff, basisches Fuchsin, 300:1.



Fig. 5. Durchbau einer Osteotomie nach idealer Adaptation der Fragmente. Hunderadius, 6 Wochen *post operationem*, Druckosteosynthese mit 10 kg. Die Osteotomie ist als feine Linie erkennbar und wird von einer grösseren Zahl neugebildeter Osteone unterbrochen. Periostale Auflagerung am oberen Bildrand. Längsschliff, basisches Fuchsin, 25:1.

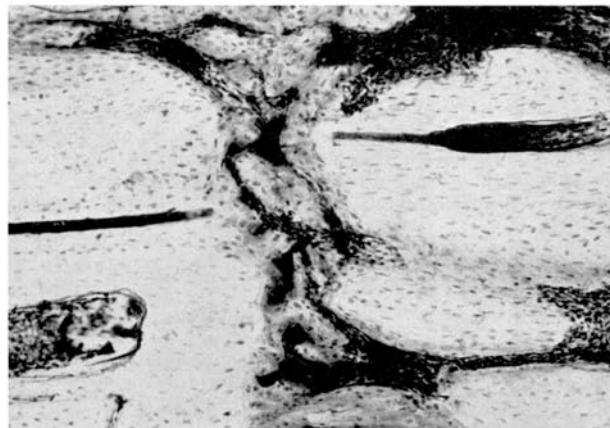


Fig. 3. Radius eines Hundes, 4 Wochen *post operationem*, Längsschliff, 100:1. Die leicht klaffende Osteotomiestelle wurde durch einsprossende Gefäße und Osteoblasten knöchern ausgefüllt. Der neu gebildete Knochen ist in der Fuchsinfärbung dunkler getönt. Links unten ein in Entwicklung begriffenes sekundäres Osteon.

biologische Wirkung entfaltet, bleibt eine offene Frage und ist Gegenstand weiterer experimenteller Untersuchungen.

Summary. Transverse osteotomies of the radius of dogs could be set and perfectly stabilized by means of pressure osteosyntheses. The primary healing process, observed radiologically, corresponds to the histological development of new osteons which, in completely opposed frag-

ments, pass through the fracture and develop from the intact blood vessels and cells of the Haversian canals.

R. SCHENK und H. WILLENEGGER

Anatomisches Institut der Universität Basel und Chirurgische Abteilung des Kantonsspitals Liestal (Schweiz), 5. August 1963.

Role of Ascorbic Acid on Testicular Degeneration in Alloxan Diabetic Rats

Disturbances in the testicular^{1,2} and ovarian³ physiology in diabetes have previously been observed. It has been shown by SILIPRANDI⁴ that the injection of a diabetogenic agent like alloxan caused a marked fall of plasma ascorbic acid level. The role of ascorbic acid in the regulation of sex activity in females⁵ and testicular activity in males^{6,7} has been discussed. DEB and CHATTERJEE⁸ have recently noticed that the inhibition of estrus cycle in alloxan diabetes was corrected by ascorbic acid. The following experiment was designed to determine whether ascorbic acid has similar curative effect on the testicular degeneration observed in alloxan diabetes.

Eighteen healthy mature male rats weighing 140 to 150 g were selected for the experiment. The animals were caged separately and were given a well balanced diet and water *ad libitum* throughout the period of experimentation. The rats were made diabetic by two successive injections of alloxan through intramuscular route. The total calculated dose was 200 mg/kg body weight per animal. Diabetic condition of the animals was verified by the blood sugar estimation from the tail. Diabetic animals were divided into two groups, twelve in the experimental (group I) and the remaining six in the control (group II) group. The experimental group (group I) of animals received a treatment of ascorbic acid (Redoxon, Roche) from the 15th day of the alloxan injection. The calculated dose of the vitamin was 1.5 g/kg body weight per animal per day by the intramuscular route. On the other hand the animals of the control group (group II) similarly received a measured amount of saline injection as control.

After three weeks of treatment both the experimental and the control group of animals were killed by cerebral concussion. The testes of these animals were dissected, fixed, sectioned at 7 μ , and stained with hematoxylin and eosin for histological examination.

Histological studies showed a marked degeneration and atrophy of the testis of diabetic animals belonging to the control group (group II). The process of spermatogenesis was blocked and the majority of the tubules were completely free of sperm. The experimental group of animals which received a course of ascorbic acid treatment (group I) had shown a purely normal picture of the testis with all the spermatogenic elements and mature sperm in the majority of the tubules. An atrophy of the seminal vesicle had been observed in the diabetic animals which again appeared normal on ascorbic acid treatment.

From our experimental observation it is clearly seen that the degenerative atrophy of the testis caused by alloxan diabetes can be corrected by ascorbic acid treatment in high doses (complete recovery was not obtained

- ¹ M. S. BISKIND, in R. S. HARRIS and K. V. THIMANN, *Vitamins and Hormones* (Academic Press Inc., New York 1946), vol. 4, p. 163.
- ² A. B. KAR, S. BANERJEE, and A. GHOSH, *Anat. Anaz.* 98, 336 (1952).
- ³ A. M. LAWRENCE and A. N. CONTOPoulos, *Acta endocrinol.* 33, 175 (1960).
- ⁴ N. SILIPRANDI, *Boll. Soc. Ital. Biol. sperim.* 26, 793 (1950).
- ⁵ T. ISHIBASHI, *Acta med.* 26, 281 (1956).
- ⁶ A. K. MUKHERJEE and S. BANERJEE, *Anat. Rec.* 120, 907 (1954).
- ⁷ L. F. CAVAZZOS, J. E. JEFFREY, J. P. MANNING, and W. M. FEAGAAS, *Anat. Rec.* 139, 296 (1961).
- ⁸ C. DEB and A. CHATTERJEE, *Endocrinology* 72, 150 (1963).

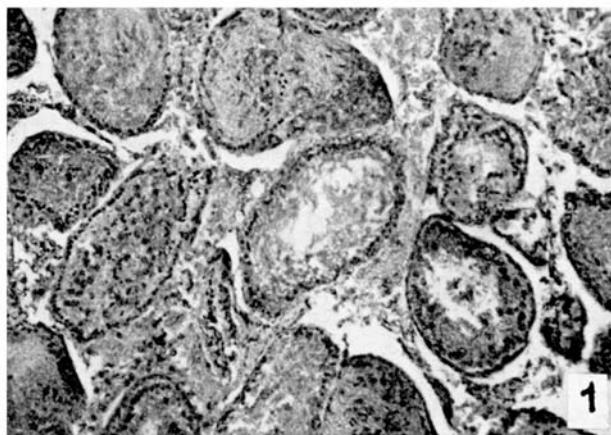


Fig. 1. Testis from the alloxan diabetic rat. Showing the marked degenerative changes (Hematoxylin and eosin). $\times 96$.

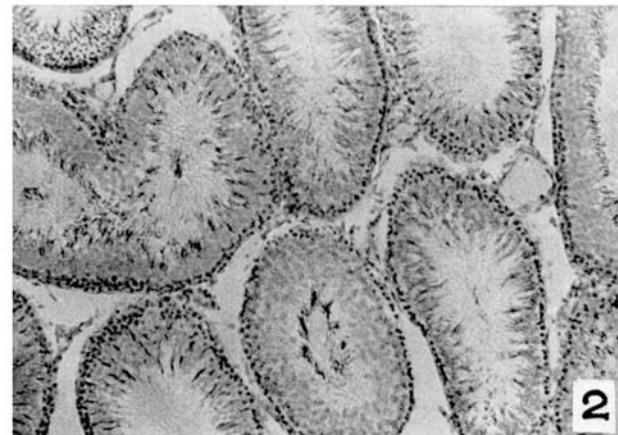


Fig. 2. Testis from the ascorbic acid treated alloxan diabetic rat. Showing a picture of normal testis. Compare with Figure 1 (Hematoxylin and eosin). $\times 96$.