

Aus der chirurgischen Klinik zu Heidelberg (früherer Direktor:  
Geh. Hofrat Prof. Dr. N a r a t h).

## **Über die Behandlung der Pseudarthrosen durch Injektion von Periostemulsion.**

Von Dr. J. Sasaki (Japan).

(Mit 4 Abbildungen und Tafel I, II.)

Im Jahre 1909 hatten N a k a h a r a und D i l g e r<sup>1)</sup> in der Heidelberger chirurgischen Klinik, einem Gedanken V o e l c k e r s folgend, bemerkenswerte Versuche mit Periostemulsion angestellt, um auf einfache Weise Knochenneubildung zu erzeugen. Es schwebte ihnen dabei die Idee vor, die neue Methode bei der Behandlung der Pseudarthrosen an Stelle der Bierschen Blutinjektion zu verwenden, um sicherere Resultate zu bekommen. Sie begnügten sich zunächst nur mit Injektionsversuchen in die Weichteile, um die Brauchbarkeit der Methode zu prüfen. Sie konnten nach Injektion der Emulsion in die Subcutis und in die Muskulatur über deutliche Knochenneubildung berichten. Ich setzte die Versuche weiter fort, erzeugte schließlich künstliche Pseudarthrosen und studierte daran die Heilungsvorgänge nach Injektion von Periostemulsion.

### **A. Versuche von Injektion der Periostemulsion in das subkutane Gewebe.**

N a k a h a r a und D i l g e r hatten bereits gezeigt, daß eine Emulsion, bereitet aus zerkleinerten K n o c h e n und P e r i o s t, sich für die Injektionen wenig eignet, denn unter fünf Versuchen konnten sie nur einmal Proliferationserscheinungen

---

1) T. N a k a h a r a und A. D i l g e r, Subkutane und intramuskuläre Knochenneubildungen durch Injektion bzw. Implantation von Periostemulsion. Beiträge zur klin. Chirurgie 1909, Bd. 63, Heft 1, S. 235.

von Knorpel nachweisen, doch gehörte das Stückchen zweifellos der Epiphysengegend an. In der Regel wurden die kleinen Knochensplitterchen als Fremdkörper von einer derben Bindegewebsschicht eingekapselt. Ich kann diese Ergebnisse im allgemeinen bestätigen. Als Ergänzung zu diesen Versuchen machte ich Experimente in der Art, daß ich das Periost entfernte und nur eine Emulsion von zerkleinerten Knochen entweder mit oder ohne Mark (jedoch ohne Periost) verwendete.

Das Ergebnis von 6 Fällen (es handelte sich stets um frische Kaninchenknochen, die wieder anderen Kaninchen subkutan injiziert wurden) war folgendes: Die Knochenstückchen wurden 5 mal vollständig resorbiert. Ein Teil wurde eingekapselt, ein anderer nicht, aber bei allen 5 waren die Stücke schließlich nach 3 Wochen der Resorption anheimgefallen. Im sechsten Falle entfernte ich nach 35 Tagen ein bohngroßes, ziemlich hartes Knötchen, das sich jedoch auch nur als eine feste Bindegewebskapsel um nekrotisches Gewebe herum erwies. Auch wenn man statt der feinen Knochenemulsion größere Knochenstückchen verwendete, waren die Resultate negativ. Alle Stückchen wurden resorbiert, etwas langsamer, wenn sie eingekapselt waren, schneller, wenn keine Kapselbildung stattgefunden hatte.

Auch die abgeschabte Prolifervationsschicht des Periosts eignet sich nicht für die Emulsion, wie Nakahara und Dilger durch zwei Versuche gefunden haben. Ich ergänzte diese Versuche durch vier neue. Die innere Seite des abgelösten Periosts, sowie die Oberfläche des nackten Knochens wurden mit dem Skalpell tüchtig abgeschabt, die so gewonnene Masse mit 0,7proz. Kochsalzlösung verdünnt und Kaninchen subkutan injiziert. Das Resultat dieser vier Versuche war, daß dreimal vollständige Resorption der Emulsion stattfand, während sich einmal ein bohngroßes Knötchen bildete. Das rundliche, knorpelharte Gebilde wurde am 23. Tage exstirpiert und mikroskopisch untersucht. Es ergab sich dabei, daß zwar an keiner Stelle neugebildeter Knorpel oder Knochen vorhanden war, daß das Gewebe aber lebhafte Proliferation zeigte. Aus diesen 6 Versuchen kann man wohl den Schluß ziehen, daß diese Art der Bereitung der Periostemulsion für unsere Zwecke ungeeignet ist.

So blieb denn auch mir sowie Nakahara und Dilger ebenfalls als der einzige gangbare Weg der übrig, die abgelöste Periostmembran selbst zu verwenden.

Es lag der Gedanke nahe, die Periostmasse durch Verreiben im Mörser möglichst fein und gleichmäßig zu machen, doch erwähnen schon die beiden obengenannten Autoren, daß sie mit dem so behandelten Materiale keine Erfolge hatten, weil durch das intensive Verreiben Gewebsläsion im Sinne einer Quetschung höchsten Grades vorzuliegen scheint. Nun wissen wir aber, daß nach Gussenbauer bei diesen bedeutenden Quetschungen nicht die Zellen betroffen werden, sondern die Interzellulärsubstanzen. Daraus könnte man folgern, daß für ein gutes Weiterleben und Wachsen des injizierten Zellmaterials es nötig ist, daß Zellgruppen in ihrem ungestörten natürlichen Zusammenhange implantiert werden.

Ich hatte zweimal die Perioststücke im Mörser gut verrieben und die so gewonnene Emulsion subkutan bei Kaninchen injiziert. Nur einmal schien ein positiver Erfolg da zu sein und ich konnte bei dem Tiere am zehnten Tage ein linsengroßes, knorpelhartes, grauweißes Knötchen exstirpieren. Bei der mikroskopischen Untersuchung stellte es sich jedoch heraus, daß zufällig ein Stückchen Knorpel der Epiphysengegend mit injiziert worden war (siehe Tafel I, II, Fig. 1). Das Stückchen zeigte nicht nur eine gelungene Einheilung, sondern auch ausgeprägte Proliferationsvorgänge, ja sogar enchondrale Verknöcherungen. Dieser Fall ist zwar für unsere Frage belanglos, demonstriert aber, daß auch der Epiphysenknorpel im Gegensatze zum Knochen ein geeignetes Material darstellen würde, um in Emulsionsform gebracht und injiziert, Knochenneubildung hervorzurufen. Von der im Mörser zerriebenen Periostmasse schien keine Knochenneubildung auszugehen.

So folgte ich also bei meinen weiteren Versuchen den Vorschriften von Nakahara und Dilger und zerschnitt das abgelöste Periost mit scharfen Instrumenten in möglichst kleine Stückchen. Der Brei wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und sofort subkutan Kaninchen injiziert. Nakahara und Dilger exstirpierten die entstandenen Knoten schon

nach 15, 16 und 20 Tagen. Mir kam es vor allem darauf an, auch ältere Stadien zu untersuchen, um das weitere Schicksal des neugebildeten Knochens zu studieren. In zwei Fällen entfernte ich 40 Tage nach der Injektion aus dem subkutanen Zellgewebe überbohngroße, rundliche, zum Teil knochenharte Knötchen. Die mikroskopische Untersuchung (siehe Tafel I, II, Fig. 2) ergab deutlich entwickelten Knorpel und neuen Knochen, der die Tendenz hatte, sich noch weiter auszubreiten. Mit dem Periost waren auch zufällig noch kleine Teile des ursprünglichen Knochens, die beim Ablösen des Periosts offenbar mitgegangen waren, mitinjiziert worden. Sie waren nekrotisch und in Aufzehrung durch das neugebildete Gewebe, das sie umgab, begriffen. Mit der Zeit wären diese Reste wohl ganz durch neugebildetes Knochengewebe substituiert worden.

Es interessierte mich noch, zu untersuchen, ob nicht noch kräftigeres Knochenwachstum zu erzielen sei, wenn man die Emulsion mit fein zerteilter toter Knochensubstanz versetzte. Zu dem Zwecke wurden Kaninchenknochen ausgeglüht, pulverisiert und der Periostemulsion beigemischt (2 Fälle). Am 38. Tage konnte ein überbohngroßes, im allgemeinen weiches, stellenweise knorpelhartes Knötchen exstirpiert werden. Die Kohlenpartikelchen waren noch überall zu sehen, sie lagen teils in größeren Nestern, teils fein zerstreut im Gewebe. Einzelne Körnchen waren von den Zellen aufgenommen worden. Was nun die Knochenneubildung betrifft, so war sie auffallend gering. Jedenfalls ermunterten die Ergebnisse nicht zu weiteren Versuchen. Ließ man die Perioststückchen weg und injizierte man nur aufgeschwemmte Knochenkohle, so bekam man keinerlei Knochenneubildung (3 Versuche).

Die abgelösten Perioststücke sind bekanntlich sehr widerstandsfähig. So können sie z. B. längere Zeit in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt werden, ohne ihre Lebensfähigkeit eingebüßt zu haben (siehe Nakahara und Dilger, S. 241), eine Eigenschaft, die für die Injektionsmethode unter Umständen zu verwerthen ist. Auch gegen chemische Agentien scheint das Periost recht widerstandsfähig zu sein. So legte ich den Periostbrei 30 Minuten lang in 5proz. Karbolsäure, spülte ihn kurz in 0,7proz. Kochsalzlösung ab und injizierte dann die Emulsion.

Unter vier Versuchen konnte ich zweimal konstatieren, daß ein Knötchen in der Subcutis gewachsen war. Das eine Knötchen wurde nach 7 Tagen, das andere nach 40 Tagen entfernt und histologisch untersucht.

Das sieben Tage alte Knötchen ist bohngroß und knorpelhart. Im Schnitte sieht man überall zahlreiche, verschiedenartig gestaltete Zellen, die in lebhafter Proliferation begriffen sind. Knorpel und Knochengewebe sind noch nicht gebildet. Keine Nekrosen.

Das 40 Tage alte Knötchen ist überbohngroß und knorpelhart. (Siehe Tafel I und II, Fig. 3.) Mikroskopisch findet man darin schön entwickeltes Knorpelgewebe, das stellenweise radiär angeordnet ist. An der Peripherie geht der Knorpel in neu gebildeten Knochen über, den man in verschiedenen Stadien seiner Entwicklung verfolgen kann. Mitinjizierte kleine Stückchen vom alten Knochen sind nicht am Leben geblieben, sondern lassen Resorptionserscheinungen erkennen.

Die beiden Versuche lassen wohl den Schluß zu, daß sich das Periost gegenüber der zerstörenden Einwirkung der Karbolsäure recht resistent verhält. Andere Desinfektionsmittel habe ich nicht ausprobiert.

### **B. Versuche, Knochendefekte durch Injektion von Periostemulsion zur Heilung zu bringen.**

Nachdem ich mich nun durch eigene Experimente überzeugt hatte, daß die Methode bei subkutaner Injektion brauchbare Dauerresultate lieferte, versuchte ich dieselben in therapeutischer Hinsicht zur Heilung von Knochendefekten. Es wurden an Kaninchenextremitäten sorgfältig mehrere Zentimeter aus der Kontinuität der Knochen mit dem entsprechenden Periost entfernt und dieser Defekt entweder sofort oder erst später, nachdem sich sicher keine spontane knöcherne Vereinigung gebildet hatte, mit der Periostemulsion behandelt.

Das Periost wurde meistens dem Femur und der Tibia von durchschnittlich 3 Wochen alten Kaninchen entnommen. Nachdem die bedeckenden Muskeln und das Bindegewebe vorsichtig bis auf das Periost entfernt worden waren, löste ich entweder das Periost in großen Stücken ab und zerschnitt diese mit scharfen Instrumenten zu kleinen Stückchen oder ich zerteilte das Periost, noch während es auf dem Knochen saß. Zu dem Zwecke führte ich mit dem Skalpelle senkrecht zur Oberfläche des Knochens

dicht auf einander folgende Schnitte durch das Periost quer, der Länge nach und schräg, so daß dasselbe in viele kleine Felder zerteilt war. Hernach schabte ich dieselben mit dem Messer vom Knochen ab. Der Periostbrei wurde dann mit 0,7 proz. Kochsalzlösung versetzt, aufgeschüttelt, die Emulsion in eine Spritze gefüllt und durch eine dicke Hohnadel injiziert. Gewöhnlich kamen 10 ccm zur Verwendung. Die Bereitung der Periostemulsion wurde unter möglichster Asepsis vorgenommen. Mehrmals ließ ich aber den Periostbrei 30 Minuten lang in 5 proz. Karbolsäure.

### I. Versuche an der hinteren Extremität von Kaninchen.

Von der hinteren Extremität würde sich am besten die Tibia zu den Versuchen eignen, weil sie durch die Haut hindurch sehr gut palpabel ist. Eine gute Zugänglichkeit des Knochens ist insofern wichtig, als man bei den Injektionen immer sicher sein muß, das Material auch an der richtigen Stelle zu deponieren. Da man nun nach der Resektion der Tibia die Extremität schienen oder eingipsen muß und diese Verbände unter Umständen monatelang getragen werden müßten, so schien mir dieser Knochen für die Versuche nicht geeignet zu sein. Daher gebrauchte ich die Fibula. Sie hat nun auch ihre Nachteile, denn sie ist klein, dünn und nicht gut palpabel. Immerhin verwendete ich sie zu meinen ersten Versuchen, weil die Kaninchen durch die Resektion der Fibula keine nennenswerte Störung in ihrer Lokomotion erlitten. Es wurde in 6 Fällen die Fibula in einer Ausdehnung von 3 bis 3½ cm samt dem Perioste reseziert. Nachdem man ungefähr 2 Monate gewartet und durch ein Röntgenphotogramm nachgewiesen hatte, daß eine spontane knöcherne Vereinigung der Knochenenden nicht erfolgt war, wurde die erste Injektion und in Intervallen von weiteren 3 Wochen eine zweite und dritte vorgenommen. Röntgenaufnahmen kontrollierten den Erfolg nach der Injektion ungefähr am 30. und 60. Tage. Später wurden die Tiere getötet, die Knochen mitsamt den Weichteilen vorsichtig herausgenommen und in Müllerscher Flüssigkeit oder in Formalin konserviert. Zur Entkalkung diente Salpetersäureformalin. Einbettung in Celloidin. Einzelne Präparate wurden ohne Celloidin-

einbettung mit dem Gefriermikrotom geschnitten. Färbung mit Hämatoxylin und Eosin.

1. Versuch. Kaninchen, Resektion der linken Fibula. Periostemulsion mit 0,7 proz. Kochsalzlösung. Resektion: 14. XII. 1909. 1. Röntgenphotographie 8. II. 1910; 1. Injektion 10. II.; 2. Injektion 7. III.; 2. Photographie 14. III.; 3. Injektion 28. III.; 3. Photographie 15. IV. Tötung 21. IV. — ungefähr zehn Wochen nach der 1. Injektion.

Makroskopischer Befund: Zwischen den beiden Fibulastümpfen hat sich eine biegsame, doch nicht knochenharte Masse gebildet. Das Periost der Stümpfe geht in das der Zwischenmasse direkt über. Dieses neugebildete Periost liegt tibiawärts frei da, sonst ist es aber mit der Muskulatur verwachsen. In der Muskulatur fühlt man ein isoliertes hartes Knochenstückchen.

Mikroskopischer Befund: Vom unteren Knochenstumpfe ist ein ziemlich langer, konischer Zapfen in die Defektstelle hineingewachsen, vom oberen hingegen eine unregelmäßige Knochenmasse. Man sieht überall deutlich den Übergang vom alten Knochen zum neuen. Im neuen Knochen sind überall junge, schön gefärbte Knochenzellen. Auch zur Markhöhlenbildung ist es bereits gekommen. Der Defekt ist ausgefüllt durch reichliche Bindegewebsmassen, in welchen sich ein isoliertes neues Knochenstückchen vorfindet. Dieses zeigt im Aufbau dieselben Eigenschaften wie die neugebildeten Knochenmassen an den Stumpfenden (Lamellen, Markhöhle). Das Periost der Fibulastümpfe geht auf die Zwischenmasse kontinuierlich über.

Das oben erwähnte isolierte Knochenstückchen in den Muskeln läßt dieselbe Struktur erkennen wie die übrigen neugebildeten Knochenteile.

Resultat: Die Defektstelle ist nicht ganz durch Knochen ausgefüllt. Es hat sich Knochen an beiden Stümpfen angesetzt und isoliert im Bindegewebe zwischen denselben. Durch längeres Lebenlassen des Tieres oder durch neue Injektionen wäre wohl ein voller Erfolg zu erwarten gewesen. Bemerkenswert ist die isolierte Knochenneubildung in der Muskulatur, was auf eine schlecht lokalisierte Injektion der Emulsion zurückzuführen ist.

2. Versuch: Kaninchen. Resektion der linken Fibula. Periostemulsion mit 0,7 proz. Kochsalzlösung.

Operation: 23. XII. 1909; 1. Photographie: 23. II. 1910; 1. Injektion: 24. II.; 2. Injektion: 18. III.; 2. Photographie: 28. III.; 3. Injektion: 8. IV.; 3. Photographie: 26. IV. Tötung: 2. Mai 1910, ungefähr zehn Wochen nach der 1. Injektion.

Makroskopischer Befund: An den beiden Stümpfen fühlt man stachelförmige Fortsätze und Verdickungen. Zwischen diesen breitet sich eine biegsame, derbe, grauweiße Bindegewebsmasse

aus, die rings von den Muskeln bedeckt ist, in welcher sich stellenweise harte Substanzen fühlen lassen. Das ursprüngliche Periost geht auf diese Zwischenmasse über.

**Mikroskopischer Befund:** Die beiden Knochenstümpfe sind teils gerundet, teils mit Fortsätzen versehen und von dicken Massen Bindegewebes mit zahlreichen spindelförmigen Zellen umgeben. Die Defektstelle besteht aus gestreckten oder geschlängelten Bindegewebsfasern, zwischen denen sich reichliche spindelförmige oder rundliche Bindegewebszellen sowie Osteoblasten und Fettzellen befinden. Hier und da trifft man auf reichliches tiefgefärbtes Osteoidgewebe, welches von sehr vielen jungen Zellen verschiedener Form umgeben ist. Dieses Osteoidgewebe konfluert an einigen Stellen.

Einige zufällig in der Emulsion enthaltene und mitinjizierte Knochensplitterchen waren entweder eingekapselt oder in Resorption begriffen.

**Resultat:** Zwischen den gewucherten Knochenenden der Fibula befindet sich Bindegewebe und in diesem Inseln von osteoidem Gewebe. Zu einer festen Knochenbildung kam es noch nicht. Der mitinjizierte Knochen beteiligte sich nicht direkt am Aufbau des neuen Knochens.

**3. Versuch:** Kaninchen, Resektion der linken Fibula. Periostemulsion mit 0,7proz. Kochsalzlösung.

Operation: 13. XII. 1909; 1. Photographie: 8. II. 1910; 1. Injektion: 10. II.; 2. Injektion: 7. III.; 2. Photographie: 14. III.; 3. Injektion: 28. III.; 3. Photographie: 15. IV. Tötung: 10. V. 1910, ungefähr 13 Wochen nach der 1. Injektion.

**Makroskopischer Befund:** Zwischen den Knochenstümpfen befindet sich eine noch biegsame Bindegewebsmasse, die mit den Muskeln die Lücke füllt.

**Mikroskopischer Befund:** Das obere Knochenende ist dreimal schräg gebrochen, aber ziemlich schmal. Daran schließt sich eine viel dickere, neugebildete Knochenmasse an. Die Lamellen sind unregelmäßig und enthalten reichlich kleine Markhöhlen mit Osteoblasten, rundlichen jungen Zellen, aber wenig Fettzellen. Das Periost überzieht die neuen Knochen und geht dann mit Osteoblasten und verschiedenen jungen Zellen in den Defekt über. Der untere Knochenstumpf endet konisch und ist von Periost und reichlichen spindelförmigen Zellen enthaltenden dicken Bindegewebsmassen umhüllt. Die Defektstelle besteht aus zerrissenen Muskelfasern und Bindegewebsmassen, die an einigen Stellen Anhäufungen von verschieden gestalteten Zellen führen.

**Resultat:** Bloß im oberen Teile des Defektes Knochenneubildung, sonst Bindegewebe mit reichlicher Zwischenlagerung von Muskulatur aus der Umgebung.



4. Versuch: Kaninchen, Resektion der linken Fibula. Injektionsmasse: Periostbrei 30 Minuten in 5proz. Karbolsäure gelegen.

Operation: 22. XII. 1909; 1. Photographie: 23. II. 1910; 1. Injektion: 24. II.; 2. Injektion: 18. III.; 2. Photographie: 28. III.; 3. Injektion: 8. IV.; 3. Photographie: 26. IV. Tötung: 10. V. 1910, ungefähr 11 Wochen nach der 1. Injektion.

Makroskopischer Befund: Der Defekt ist von einer biegsamen Bindegewebsmasse erfüllt, in der man einige Knochenstücke fühlen kann. Die Muskulatur ist mit der Masse verwachsen und das Periost der verdickten Stümpfe geht in dieselbe über.

Mikroskopischer Befund: Der obere Fibulastumpf endet in eine ziemlich dicke Kallusmasse, welche sich mit mehrfach zerteilten Fortsätzen in das Bindegewebe hinein erstreckt. Der untere Fibulastumpf ist weniger dick und geht seitlich schräg in eine Knochenmasse aus, die sich in die Muskulatur fortsetzt. In die Defektstelle hat sich unregelmäßig geordnete Muskulatur hineingeschoben, zwischen deren Bündeln sich ebenso wie um die Stumpfenden herum reichlich junges Bindegewebe vorfindet. Sowohl in diesem Bindegewebe wie auch in der Muskulatur trifft man auf größere und kleinere Inseln von neugebildetem Knochen oder von seinen Vorstadien.

Resultat: Trotz der Karbolsäureeinwirkung ist die Knochenneubildung eine sehr rege, doch kam es nicht zu einer völligen knöchernen Vereinigung der Stümpfe. Hätte das Tier noch länger gelebt, so wäre wahrscheinlich noch mehr Knochen entstanden.

5. Versuch: Kaninchen, Resektion der linken Fibula. Injektionsmasse: Periostemulsion, versetzt mit gepulverter Knochenkohle vom Kaninchen.

Operation: 22. XII. 1909; 1. Photographie: 23. II. 1910; 1. Injektion: 24. II.; 2. Injektion: 18. III.; 2. Photographie: 28. III.; 3. Injektion: 8. IV.; 3. Photographie: 26. IV. Tötung: 10. V., ungefähr 11 Wochen nach der 1. Injektion.

Makroskopischer Befund: Die beiden Knochenenden zeigen kallöse Verdickung, im Defekt ist eine steife, nicht biegsame Masse, die in der Mitte stark verdickt erscheint. Das Periost überzieht die ganze Masse in dickerer oder dünnerer Schichte. Es ist hyperämisch und mit den Muskeln verwachsen, nur gegen die Tibia zu liegt es frei da. Röntgenphotographie Fig. 1.

Mikroskopischer Befund: Das obere Knochenende wächst mit einem langen Fortsatz in die Defektstelle hinein und steht da mit einer unregelmäßigen, ziemlich massigen Knochenneubildung in Verbindung. Diese zeigt unregelmäßigen Aufbau und enthält kleinere und größere Markhöhlen. Auch der untere Knochenstumpf steht mit der Knochenmasse in direkter Verbindung. Die schwarzen Kohlentelchen sind zwischen den Muskelbündeln hier und da noch sichtbar.

**R e s u l t a t:** Es ist zu einer vollständigen Knochenbrücke zwischen den Stumpfen gekommen.

6. **V e r s u c h:** Kaninchen, Resektion der linken Fibula. Injektionsmasse: Periostemulsion versetzt mit gepulverter Knochenkohle vom Kaninchen.

Operation: 13. XII. 1909; 1. Photographie: 8. II. 1910; 1. Injektion: 10. II.; 2. Injektion: 7. III.; 2. Photographie: 14. III.; 3. Injektion: 28. III.; 3. Photographie: 15. IV. Ungefähr 6 Wochen nach der 1. Injektion geht das Tier, allmählich schwächer werdend, zugrunde (26. III. 1910). An der Operationsstelle eine Eiterung.

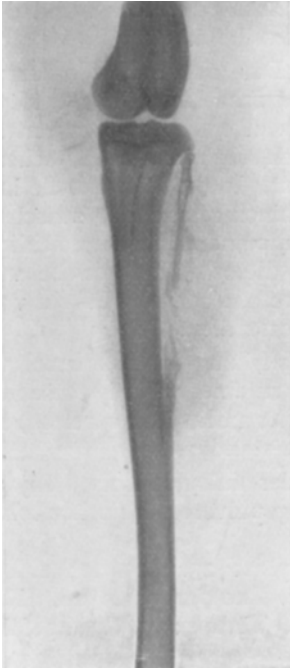


Fig. 1. Resektion der Fibula, Fall 5, Knochenneubildung nach Injektion von Periostemulsion.

**M a k r o s k o p i s c h e r B e f u n d:** Zwischen den Knochenenden befindet sich eine hyperämische, ziemlich feste Masse. Dieselbe zeigt anschließend an den oberen Stumpf eine 2 cm lange, knochenharte Stelle. Eine zweite derartige Stelle befindet sich in der Muskulatur.

**M i k r o s k o p i s c h e r B e f u n d:** Das erwähnte, 2 cm lange Knochenstückchen schließt sich mit querer Basis der Resektionsfläche des oberen Stumpfes an und endet konisch im Bindegewebe des Defektes. Es ist von Periost umzogen und zeigt normalen Aufbau. Ob es aus der Injektionsmasse herausgewachsen ist, ist zweifelhaft. Das andere knochenharte Körperchen in der Muskulatur besteht aus einer Anhäufung von Knochenkohle in kleinen mitinjizierten Knochensplitterchen, die in Bindegewebe eingetragen sind und zu keiner neuen Knochenbildung geführt haben. Kohle und Knochensplitter sind teils eingekapselt, teils in

Resorption begriffen. Am unteren Ende des Defektes und seitlich trifft man auf verschiedene längliche Abszesse und kleinzellige Infiltrate um die injizierten Massen herum.

**R e s u l t a t:** Es kam zu keiner sicheren Knochenneubildung, dagegen erfolgte eine Infektion der Operationsstelle, entweder durch die Injektionen oder nachträglich, so daß sich Abszesse bildeten. An der Infektion ist auch das Tier zugrunde gegangen.

Überblickt man die Resultate der sechs Versuche, so scheidet

der letzte aus, weil das Tier an Infektion zugrunde gegangen ist. Die übrigen fünf, die aseptisch verliefen, ergaben insofern ein positives Resultat, als in allen Fällen nach den Injektionen Knochenneubildung zu konstatieren war. Freilich war ein vollständig fester knöcherner Ersatz an der Defektstelle nur einmal erfolgt. Ich schiebe das nicht immer tadellose Resultat auf die Schwierigkeit das Periostmaterial an die richtige Stelle zu deponieren. Häufig entstanden Knocheninseln, dort, wo man sie nicht haben wollte, nämlich in der Muskulatur. Histologisch verhielten sich die neugebildeten Knochenmassen genau so wie bei der subkutanen Injektion. Hervorzuheben wäre, daß die Periostemulsion gegen Karbolsäure recht widerstandsfähig ist und daß in dem Falle vollständiger knöcherner Ausfüllung des Defektes gepulverte Knochenkohle mitinjiziert war. Ob diese das schöne Resultat mitbilden half, möge dahingestellt bleiben, da bei den Versuchen mit der gleichen Masse im subkutanen Zellengewebe keine Beförderung des Knochenwachstums zu konstatieren war.

## II. Versuche an der vorderen Extremität der Kaninchen.

Die vordere Extremität eignet sich besser für die Versuche mit Periostemulsion, weil an einem stärkeren Knochen, nämlich dem Radius operiert werden konnte und weil sich dieser Knochen, respektive der in ihm durch die Resektion erzeugte Defekt leicht abtasten ließ, was für die genaue Deponierung der Emulsion von Bedeutung ist. Es wurden den Kaninchen stets in einer Sitzung gleichgroße Stücke (3—3,5 cm) aus beiden Radien quer reseziert, wobei besonders darauf geachtet wurde, daß kein Stückchen Periost zurückblieb. Injiziert wurde dann immer die linke Seite, während die rechte zur Kontrolle diente. Die Injektion wurde entweder gleich nach der Resektion vorgenommen, oder man wartete 3, 4 oder 5 Wochen ab, um sich zu überzeugen, ob nicht spontan durch Kallusbildung von den Stümpfen oder von zurückgelassenen Perioststückchen eine knöcherne Vereinigung der Stümpfe erfolgt war. Hierzu wurden wiederum Röntgenphotogramme benützt. In allen Fällen wurden die Injektionen erst vorgenommen, als mit Sicherheit der Knochendefekt konstatiert worden war. Die Tiere blieben

ohne Verband. Zur Injektion wurde die oben angegebene Emulsion benutzt.

1. Versuch: Kaninchen, beiderseitige Resektion des Radius. Sofortige Injektion mit Periostemulsion (in 0,7 proz. Kochsalzlösung) am linken Defekt: 5. VII. 1910; 1. Photographie: 26. VII. 1910; 2. Photographie: 16. VIII. 1910; 2. Injektion: 17. VIII. 1910. Tötung: 3. IX. 1910, ungefähr 9 Monate nach der 1. Injektion.

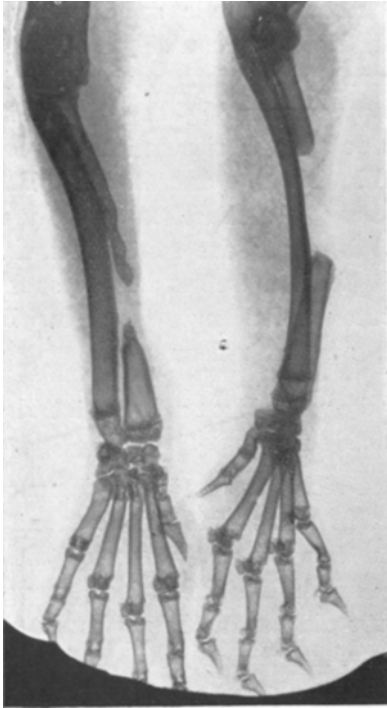


Fig. 2. Resektion beider Radien. Fall 1. Links partielle Knochenneubildung nach Injektion von Periostemulsion, rechts Pseudarthrose.

Makroskopischer Befund links: Haut mit der Defektstelle verwachsen, knöcherner Vereinigung noch nicht vollständig, starke Bindegewebsmassen. Röntgenphotographie siehe Fig. 2. Am linken Radius ist nur der obere Teil des Defektes knöchern ersetzt. Der Kallus des unteren Stumpfes ist konisch zugespitzt.

Mikroskopischer Befund links: Der Radius ist nur im Bereiche des unteren Stumpfes mit der Ulna verwachsen, und zwar durch Knorpelgewebe. Im Defekt befindet sich ein langer neugebildeter Knochen, der jedoch nur mit dem oberen Stumpf knöchern verwachsen ist. Zwischen ihm und dem unteren Stumpfe befindet sich eine kleine Lücke, die mit lebhaft wucherndem Bindegewebe ausgefüllt ist. Der untere Stumpf scheint in der Photographie konisch zu sein, hat aber zwei Fortsätze, die aus

einzelnen kleinen Knochen bestehen und zwischen sich noch ein länglich ovales, junges Knochenstückchen einschließen. In dem oben erwähnten Bindegewebe gewahrt man zahlreiche junge Zellen, von denen ein Teil ganz Osteoblasten gleicht. Der neue Knochen hat eine deutliche Periosthülle, die mit dem alten Periost des oberen Stumpfes in Verbindung steht und in den Defekt hineinwuchert.

**Befund rechts:** Die Haut ist an der Defektstelle nicht angewachsen, zeigt daselbst eine kahnförmige Vertiefung. Keine knöcherne Vereinigung der Stümpfe.

Mikroskopisch läßt sich konstatieren, daß der Defekt mit Muskulatur ausgefüllt ist. Die Knochenstümpfe sind abgerundet und einer von ihnen steht mit der Ulna durch Knorpelgewebe in Verbindung.

**Resultat:** Während auf der rechten, nicht behandelten Seite sich eine Pseudarthrose entwickelt hat, ist auf der linken Seite der Defekt zum größten Teil durch Knochen ausgefüllt. Der noch vorhandene Bindegewebsrest läßt die Vorstadien der Knochenbildung erkennen, so daß bei genügend langer Lebensdauer des Kaninchens ein volles Resultat zu erwarten gewesen wäre.

**2. Versuch:** Kaninchen, Resektion aus beiden Radien, sofortige Injektion von Periostemulsion (in 0,7 proz. Kochsalzlösung) an der linken Defektstelle: 4. VII. 1910; 1. Photographie: 26. VII. 1910; 2. Photographie: 16. VIII. 1910. Tötung: 18. VIII. 1910 (ungefähr 7 Wochen nach der Injektion).

**Makroskopischer Befund links:** Die Knochenenden des Radius treten durch Kalluswucherung ziemlich stark hervor. Dazwischen fühlt man eine kahnförmige Einziehung. Am Röntgenphotogramm sieht man den ganzen Defekt mit Knochen ausgefüllt (siehe Fig. 3).

Mikroskopischer Befund: Zwischen den beiden Knochenenden breitet sich eine ziemlich starke Masse neugebildeten Knochens aus, der auch mit der Ulna verwachsen ist und sich noch zwischen die Vorderarmknochen erstreckt. Der Knochen befindet sich in verschie-

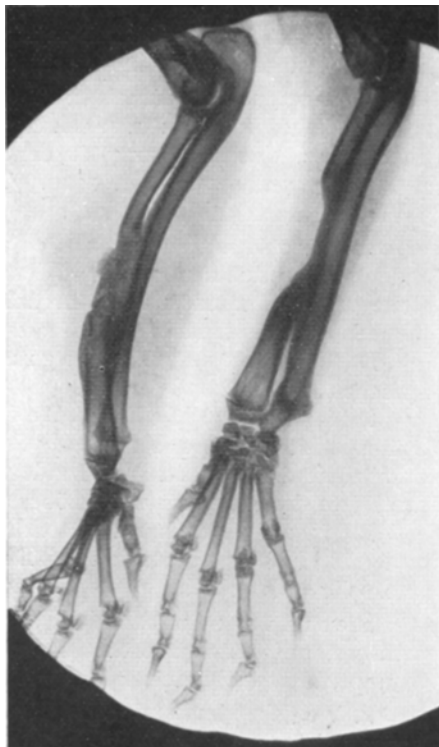


Fig. 3. Resektion beider Radien. Fall 2. Links vollständiger knöcherner Ersatz nach Injektion v. Periostemulsion, rechts Pseudarthrose.

denen Entwicklungsstadien. Mitinjizierte alte Knochensplitterchen zeigen deutliche Einschmelzung.

**Befund rechts:** Die Defektstelle zeigt kahnförmige Vertiefung, die beiden Stumpfen sind mit der Ulna verwachsen. Im Defekte findet man nur Muskulatur und Bindegewebe, nichts von Knochenneubildung. (Siehe auch das Röntgenphotogramm.)

**Resultat:** Auf der nicht behandelten rechten Seite ein bleibender Defekt, auf der linken injizierten ein vollständiger knöcherner Ersatz. Knochen noch in verschiedenen Stadien der Entwicklung.

3. Versuch: Kaninchen, Resektion aus beiden Radien: 12. VII. 1910; 1. Photographie: 1. VIII. 1910; Injektion mit Periostemulsion (in 0,7proz. Kochsalzlösung) an der linken Defektstelle: 2. VIII. 1910; 2. Photographie: 23. VIII. 1910. Tötung: 25. VIII. 1910 (ungefähr 3 Wochen nach der Injektion).

**Makroskopischer Befund links:** Die beiden Stumpfen stark prominent und mit der Ulna verwachsen. In der Defektstelle massiges Bindegewebe, in welchem einzelne knochenharte Körperchen fühlbar sind.

Das Röntgenphotogramm weist eine knöcherne Brücke zwischen den Stümpfen nach.

**Mikroskopischer Befund links:** Der Kallus der Stümpfe ist mit der Ulna fest verwachsen. Junges Knochengewebe durchzieht den Defekt. Im Bindegewebe reichliche Osteoblasten. In der Mitte des Defektes eine größere Knocheninsel.

**Befund rechts:** Defektstelle deutlich kahnförmig vertieft und mit Muskulatur ausgefüllt. Die Stumpfen sind mit der Ulna knorpelig verwachsen.

**Resultat:** Auf der nicht behandelten rechten Seite eine Pseudarthrose, auf der injizierten linken Seite junger Knochen, der beide Stumpfen verbindet.

4. Versuch: Kaninchen, Resektion aus beiden Radien: 11. VII. 1910; 1. Photogramm: 1. VIII. 1910; 1. Injektion mit Periostemulsion (in 0,7proz. Kochsalzlösung): 2. VIII. 1910; 2. Photogramm: 23. VIII. 1910; 2. Injektion: 24. VIII. 1910; 3. Photographie: 15. IX. 1910; 3. Injektion: 16. IX. 1910. Tötung: 6. X. 1910 (ungefähr 9 Wochen nach der 1. Injektion).

**Makroskopischer Befund links:** Defektstelle mit der Haut nicht verwachsen. Unterer Stumpf stark verdickt, oberer nicht. An der Defektstelle keine besonders dicke Knochenbildung zu fühlen. Das Defektgewebe mit Muskeln bedeckt.

**Mikroskopischer Befund:** Unteres Stumpfende mit der Ulna knorpelig verwachsen, oberes Stumpfende geht mit neugebildetem Knochen direkt in den Defekt über. Zwischen den Stümpfen grobfaseriges Bindegewebe, in welchem massenhaft Osteoblasten ein-

getragen sind, in verschiedenen Entwicklungsstadien. Auch zur Bildung von jungen Knochenbrückchen ist es bereits gekommen.

**Befund rechts:** Oberes Stumpfende frei, unteres mit der Ulna verwachsen. Defektstelle durch Muskulatur und Bindegewebe ausgefüllt. Keine Knochenbildung darin.

**Resultat:** Rechts eine Pseudarthrose, links bloß eine bindegewebige Verbindung, in der sich allerdings osteoides Gewebe entwickelt hat.

**5. Versuch:** Kaninchen, Resektion aus beiden Radien: 28. VI. 1910; 1. Photographie: 26. VII. 1910; 1. Injektion: an der linken Defektstelle mit Periostemulsion (in 0,7 proz. Kochsalzlösung): 27. VII. 1910; 2. Photographie: 23. VIII. 1910; 2. Injektion: 24. VIII. 1910; 3. Photographie: 21. IX. 1910. Tötung: 27. IX. 1910 (ungefähr 9 Wochen nach der 1. Injektion).

**Makroskopischer Befund links:** Defektstelle mit knochenharten Massen ausgefüllt, doch kann man noch Beweglichkeit nachweisen. Die Röntgenphotographie läßt eine kontinuierliche Knochenbrücke zwischen den beiden Stümpfen erkennen.

**Mikroskopischer Befund links:** Der neugebildete Knochen hat unregelmäßigen Bau, steht mit dem oberen Knochenstumpf in direkter, fester Verbindung, ist jedoch vom unteren durch einen schmalen Spalt geschieden. In diesem befinden sich einige Muskelfasern und festes Bindegewebe mit reichlichen Zellanhäufungen. Der untere Stumpf ist mit der Ulna verwachsen.

**Befund rechts:** Die Stumpfenden sind abgerundet und mit der Ulna verwachsen. Zwischen den Stümpfen findet man nur Muskulatur und Bindegewebe. Diese Stelle ist schon äußerlich durch eine Einziehung kenntlich.

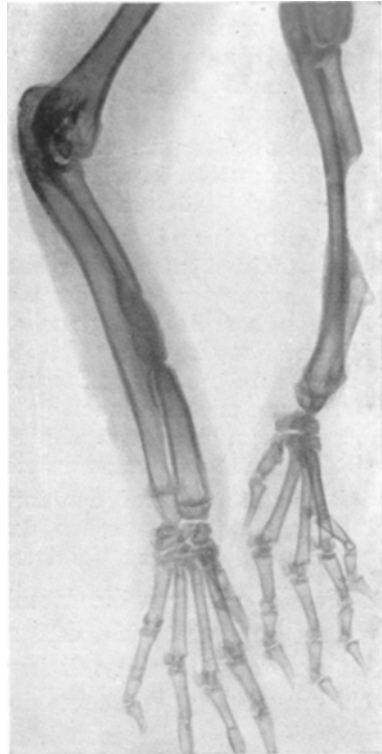


Fig. 4. Resektion beider Radien. Fall 6. Links vollständiger knöcherner Ersatz, nach Injektion von Periostemulsion, rechts Pseudarthrose.

**Resultat:** Auf der nicht behandelten Seite eine ausgesprochene Pseudarthrose, auf der injizierten hingegen knöcherne Vereinigung der beiden Stümpfe bis auf einen feinen Spalt. Nach dem mikroskopischen Befunde wäre wohl eine vollständige Verknöcherung zu erwarten gewesen.

**6. Versuch:** Kaninchen, Resektion beider Radien: 11. VII. 1910; 1. Photographie: 16. VIII. 1910; Injektion in die linke Defektstelle mit Periostemulsion (in 0,7 proz. Kochsalzlösung): 17. VIII. 1910; 2. Photographie: 22. IX. 1910. Tötung: 27. IX. 1910 (ungefähr 6 Wochen nach der Injektion).

**Makroskopischer Befund links:** An der Defektstelle dicke, tumorartige, knochenharte Massen, die mit der Haut fest verwachsen sind. Röntgenphotogramm siehe Fig. 4.

**Mikroskopischer Befund links:** Unregelmäßig gebauter, mächtig entwickelter Knochen, der den einen Stumpf ganz umhüllt, gegenüber dem anderen noch teilweise durch Spalten abgesetzt ist. Doch besteht auch hier außer der bindegewebigen eine feste knöcherne Verwachsung.

**Befund rechts:** Starke Kalluswucherungen an den Stümpfen, Verwachsung mit der Ulna in ganzer Ausdehnung. Die Knochenstümpfe entsenden konisch zugespitzt schließlich je einen schmalen Fortsatz in die Defektstelle und verschmelzen auf diese Weise in der Mitte.

**Resultat:** Auf der injizierten linken Seite eine mächtige Knochenneubildung zwischen den Stümpfen, auf der rechten Seite eine schmale knöcherne Verbindung.

Fassen wir nun die Resultate der sechs Versuche kurz zusammen, so ergibt sich, daß zweimal die Periostemulsion sofort nach der Resektion des linken Radius injiziert wurde, zweimal nach ungefähr 3 Wochen, einmal nach 4 Wochen und einmal nach 5 Wochen. Bei den letzten vier Versuchen war röntgenographisch sicher nachgewiesen, daß sich kein Knochen spontan gebildet hatte. Injiziert wurde in 3 Fällen nur ein einziges Mal, in 2 Fällen zweimal, in einem Falle dreimal. Die Tiere wurden 3, 6, 7, 9, 9, 9 Wochen nach der ersten Injektion getötet. Über die Resultate gibt die folgende Tabelle übersichtlich Aufschluß (siehe S. 611).

Aus den Experimenten ergibt sich nun, daß auf der nicht behandelten Seite fünfmal eine Pseudarthrose sich entwickelte, wobei gewöhnlich die Knochenstümpfe des Radius sich an die Ulna anlegten und damit verwuchsen. Nur einmal bestand eine feine knöcherne Brücke zwischen den Stumpfenden, wobei jedoch



hervorgehoben werden muß, daß sich mächtige Kallusmassen an den Enden entwickelt hatten und auch eine ausgiebige Verwachsung mit der Ulna bestand. Was zu dieser starken Knochenbildung Veranlassung gegeben hat, ist mir nicht ganz klar.

Ver- such	Zeit zwischen Resektion und Injektion	An- zahl der In- jek- tion.	Lebens- dauer des Tieres nach der 1. Injek- tion	Resultat am linken Radius (mit Injektion)	Resultat am rechten Radius (ohne Injektion)
I	sofortige Injektion	2	9 Wochen	Der größte Teil des Defektes knöchern er- ersetzt	Pseudarthrose
II	sofortige Injektion	1	7 Wochen	Vollständiger knöcherner Ersatz	Pseudarthrose
III	21 Tage	1	3 Wochen	Junges Knochengewebe	Pseudarthrose
IV	22 Tage	3	9 Wochen	Osteoides Gewebe in der bindegewebigen Brücke	
V	29 Tage	2	9 Wochen	Knöcherne Verbindung	Pseudarthrose
VI	37 Tage	1	6 Wochen	Machtige Knochen- brücke	Feine knöcherne Verbindung zwischen den mächtigen Kalluswucherungen

Wesentlich anders sind die Befunde auf der linken injizierten Seite. In allen Fällen ließ sich neugebildeter Knochen nachweisen. Dreimal kam es zu einer soliden knöchernen Verbindung der Stümpfe, einmal war die die Stümpfe verbindende Brücke zum größten Teile knöchern und zweimal konnte man osteoides oder junges Knochengewebe nachweisen. Durch längere Lebensdauer der Tiere hätte sich sicher noch mehr feste Knochenmasse gebildet. An der knochenbildenden Wirkung der Injektionen kann nach diesen vergleichsweise an beiden Radien ausgeführten Experimenten nicht mehr gezweifelt werden. Was den feineren Aufbau des Knochens anbelangt, so war dieser derselbe wie bei den Experimenten an der resezierten Fibula und bei den subkutanen Injektionen. Hervorzuheben wäre auch wiederum die Tatsache, daß zufällig mitinjizierte Knochenteilchen ebenfalls wie bei den früheren Versuchen ausnahmslos der Resorption anheimfielen.

Es scheint mir die Methode durch das Experiment genügend studiert und vorbereitet zu sein, um beim Menschen mit Aussicht

auf Erfolg angewendet werden zu können. Die Hauptfrage bleibt dabei, woher das Periost zu nehmen sei. Wenn irgendwie möglich, wird man das Periost vom selben Individuum nehmen (z. B. Tibia) und erst, wenn das nicht angängig ist, von anderen Personen. Zu verwerten wäre das Periost von amputierten Gliedern gesunder Personen (Verletzungen) oder vielleicht sogar von frischen Leichen, wenn keine übertragbaren Krankheiten bestanden hätten. In erster Linie käme dabei das Periost infantiler Knochen in Betracht.

Anzuwenden wäre die Methode bei verzögerter Kallusbildung, bei Pseudarthrose, bei der Rhinoplastik, Unterkieferplastik und anderen plastischen Operationen, überhaupt bei allen Defektbildungen im Bereiche des Knochensystems.

Zur Emulsion eignet sich am besten das mit scharfen Instrumenten möglichst zerkleinerte Periost. Zu versuchen wäre auch der Epiphysenknorpel dagegen ist der Knochen selbst ungeeignet. Während man vom Periost und Epiphysenknorpel ziemlich sicher Knochenneubildung erwarten kann, werden Knochenstückchen entweder abgekapselt oder resorbiert. Jedenfalls beteiligten sie sich nicht direkt am Aufbau des neuen Knochens.

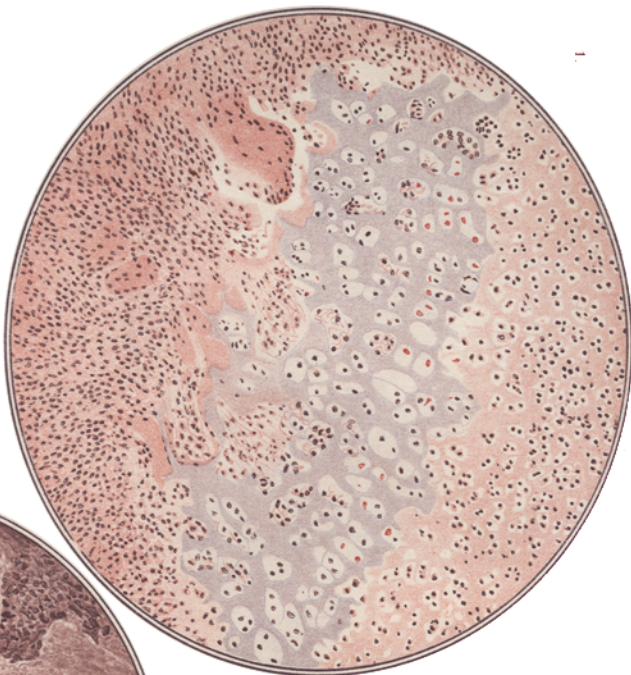
Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Geheimrat Prof. Dr. N a r a t h, an dessen Institute ich die Untersuchungen ausführen durfte, für seine wertvollen Ratschläge meinen verbindlichsten Dank auszusprechen, ferner auch Herrn Dr. S c h n e i d e r, der mich bei der Deutung der mikroskopischen Präparate freundlichst unterstützte.

---

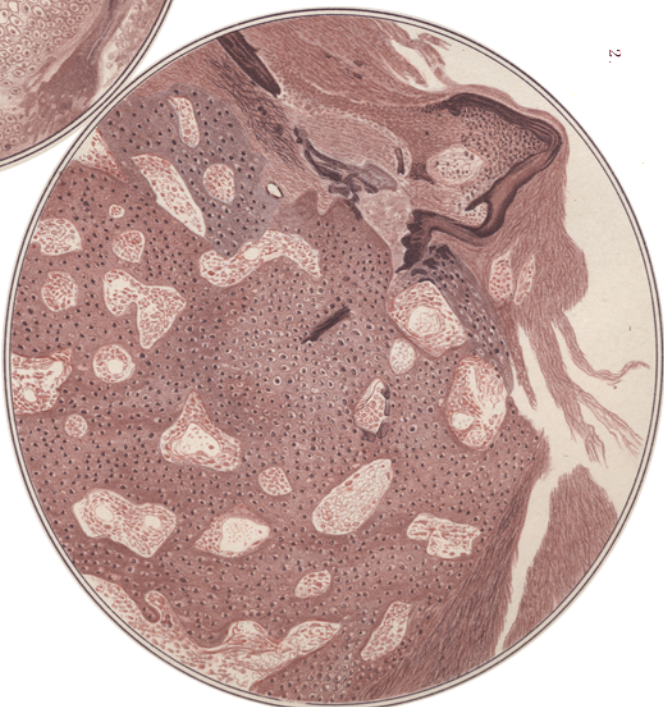
### Erklärung der Tafeln.

- Fig. 1. Periostemulsion im Mörtel verrieben, subkutan injiziert, Versuch S. 597, Proliferation von einem zufällig mitinjizierten Stückchen Epiphysenknorpel. Vergrößerung 150 : 1. Hämatoxylin-Eosin.
- Fig. 2. Periostemulsion, subkutan injiziert. Exstirpation des Knötchens nach 40 Tagen. Versuch S. 598. Enchondrale Knochenneubildung vom Periost ausgehend. Vergrößerung 130 : 1. Hämatoxylin-Eosin.
- Fig. 3. Periostemulsion, 30 Minuten 5 proz. Karbolsäure ausgesetzt. Subkutane Injektion. Exstirpation des Knötchens nach 40 Tagen. Versuch S. 599. Neubildung von Knorpel- und Knochengewebe. Vergrößerung 150 : 1. Hämatoxylin-Eosin.
-

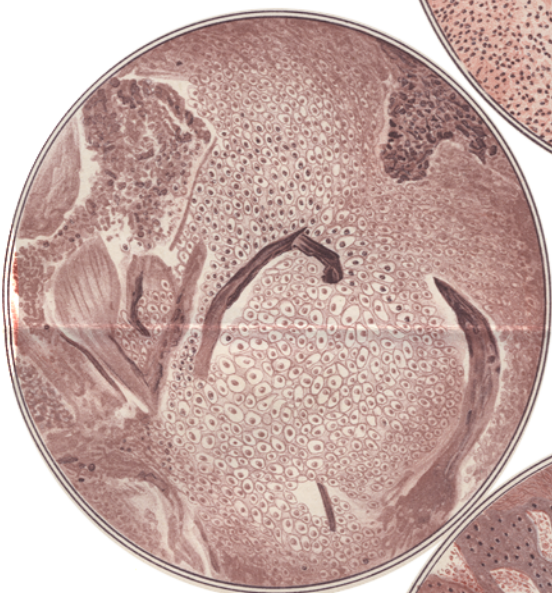
1.



2.



3.



### Literaturverzeichnis.

1. Barth, Histologische Untersuchungen über Knochenimplantation. Zieglers Beiträge Bd. 17.
  2. Derselbe, Zur Frage der Vitalität implantierter Knochenstücke. Langenbecks Archiv Bd. 46, S. 409.
  3. Derselbe, Über Osteoplastik in histologischer Beziehung. Langenbecks Archiv Bd. 48, S. 467.
  4. Derselbe, Über künstliche Erzeugung von Knochengewebe und über die Ziele der Osteoplastik. Berliner klin. Wochenschr. 1896, Nr. 1, S. 8.
  5. Bier, Die Bedeutung des Blutergusses für die Heilung des Knochenbruchs. Heilung von Pseudoarthrosen und von verspäteter Kallusbildung durch Bluteinspritzung. Deutsche med. Klinik 1905, Bd. 1, Heft 1 und 2.
  6. Bonome, Zur Histogenese der Knochenregeneration. Virchows Archiv 1885, Bd. 10.
  7. Bruns, Über Transplantation von Knochenmark. Langenbecks Arch. Bd. 26.
  8. Buchholz, Einige Versuche über künstliche Knochenneubildung. Virchows Archiv 1863, Bd. 26.
  9. Cohnheim u. Maaß, Zur Theorie der Geschwulstmetastasen. Virchows Archiv 1877, Bd. 70.
  10. Gelincky, Innerliche Darreichung von Phyreoidin und die Injektion reizender Flüssigkeiten zwischen die Bruchenden. Bruns Beiträge zur klin. Chirurgie Bd. 48, S. 43.
  11. Grohe, Die Vita propria der Zellen des Periostes. Virchows Archiv 1899, Bd. 155.
  12. Gussenbauer, Anatomischer Charakter der verschiedenen Grade der Quetschung. Deutsche Chirurgie 1880, Bd. 15, S. 90.
  13. Hildebrand, Die Heilung der Knochenbrüche und die Bedeutung des Blutergusses dabei. Deutsche med. Klinik 1906, Nr. 5.
  14. Mangold, Übertragung ungestielter Periostknochenlappen zur Heilung von Pseudoarthrosen nach Knochenbrüchen. Archiv f. klin. Chirurgie 1904, Bd. 74, S. 345.
  15. Marchand, Transplantation des Periostes. Deutsche Chirurgie 1901, 1901, Bd. 16, S. 457.
  16. Martin, Zur Ausfüllung von Knochenhöhlen mit totem Material. Zentralbl. f. Chirurgie 1894, Nr. 9.
  17. Möller, Über histologische Vorgänge bei Knochenimplantationen. Dissertation 1895 (Halle).
  18. Nakahara u. Dilger, Subkutane und intramuskuläre Knochenneubildungen durch Injektion bzw. Implantation von Periostemulsion. Bruns Beiträge zur klin. Chirurgie 1909, Bd. 63, Heft 1.
  19. Ochotin, Beiträge zur Lehre von der Transplantation toter Knochen- teile. Archiv f. pathol. Anatomie Bd. 124, Heft 1.
  20. Smorny, Über Homoplastik d. langen Röhrenknochen. Diss. 1904 (Breslau).
  21. Tomita, Experimentelle Untersuchungen über Knochentransplantation. Virchows Archiv Bd. 191, S. 80.
-