

Aus dem
Institut für Veterinär-Anatomie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
und dem
Forschungslabor des Centrums für muskuloskeletale Chirurgie, Charité
Universitätsmedizin - Berlin

**Einfluss des Osteosyntheseimplantates auf die Frakturheilung im
Tibia-Defektmodell**

**- Vergleich eines medial montierten Fixateur externe mit einem
kranio-medial montierten Fixateur externe und einer unaufge-
bohrten Marknagelung -**

**Eine biomechanische, radiologische und histologische Studie im
Schafsmodell**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Hanna Schell
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2003

Journal-Nr.: 2798

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg

Erster Gutachter: PD Dr. med. vet. H. Bragulla

Zweiter Gutachter: Prof. Dr.-Ing. G. N. Duda

Dritter Prüfer: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg

Deskriptoren: external fixator; intramedullary nail; bone healing; histology; sheep model

Tag der Promotion: 06.02.2004

Das Mondscharf

Lunovis

Lunovis in planitie stat
Cultrumque magn' expectitat
Lunovis.

Lunovis herba rapta it
In montes, unde cucurrit.
Lunovis.

Lunovis habet somnium:
Se culmen rer' ess' omnium.
Lunovis.

Lunovis mane mortuumst.
Sol ruber atque ips' albumst.
Lunovis.

Inhaltsverzeichnis	Seite
VERZEICHNIS DER VERWENDETEN ABKÜRZUNGEN	6
1. EINLEITUNG	8
2. STAND DES WISSENS	10
2.1. Knochen	10
2.1.1. Struktureller Aufbau von Knochen	10
2.1.2. Mikroskopischer Aufbau	11
2.1.3. Blutversorgung	17
2.2. Frakturheilung	18
2.2.1. Physiologie	18
2.2.2. Biomechanik	25
2.3. Implantate	33
2.3.1. Fixateur externe	33
2.3.2. Unaufgebohrte Marknagelung	36
2.4. Hypothesen und Ziele der Studie	41
2.5. Tiermodell	44
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN - MATERIAL UND METHODEN	46
3.1. Osteosynthesen	46
3.1.1. Fixateur externe	46
3.1.2. Marknagelung der Tibia mittels UTN 9	47
3.1.3. Ermittlung der biomechanischen Eigenschaften	48
3.2. Tierhaltung/Auswahl der Tiere	50
3.3. Operation	51
3.3.1. Vorbereitung	51
3.3.2. Operation medialer Fixateur	52
3.3.3. Operation kraniomedialer Fixateur	56
3.3.4. Operation unaufgebohrte Marknagelung	58
3.4. Nachsorge	61
3.5. Gewinnung der Präparate	63
3.6. Biomechanik	63
3.7. Histologische Aufarbeitung der Präparate	65
3.8. Auswertung	70
3.8.1. Deskriptiv	70
3.8.2. computergestützte Bildanalyse	70
3.8.3. Statistik	79
4. ERGEBNISSE	81
4.1. Biomechanik	81
4.1.1. Ergebnisse der <i>in vitro</i> Steifigkeitstestung der Implantate	81
4.1.2. Ergebnisse der postmortalen Torsionstests	82

4.2. Röntgen-Daten.....	85
4.3. Mikrobiologische Untersuchung der Schraubengewinde	88
4.4. Histologie	88
4.4.1. deskriptiv.....	88
4.4.2. Histomorphometrie	97
4.5. Zusammenfassung der Ergebnisse	111
5. DISKUSSION	114
5.1. Tiermodell.....	116
5.2. Diskussion von Material und Methoden	120
5.2.1. Osteosynthesen.....	120
5.2.2. Postoperative Nachsorge	120
5.2.3. Histologische Aufarbeitung.....	121
5.2.4. Auswertung mit Hilfe der Bildanalyse.....	122
5.3. Diskussion der Ergebnisse	125
5.3.1. <i>In vitro</i> -Steifigkeit der Osteosynthesen	125
5.3.2. <i>In vivo</i> - Steifigkeit der Tibiae.....	129
5.3.3. <i>Röntgen</i>	130
5.3.4. <i>Deskriptive Histologie</i>	131
5.3.5. <i>Histomorphometrie</i>	135
5.3.6. <i>Vergleich mit weiteren Studien</i>	139
5.4. Schlussfolgerung.....	153
6. ZUSAMMENFASSUNG	157
7. SUMMARY	159
8. LITERATUR	161
ANHANG	174
• Färbungen.....	174
• Werte der histomorphometrischen Parameter.....	176
DANKSAGUNG	177
LEBENS LAUF	178
UNABHÄNGIGKEITSERKLÄRUNG	179

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Anm.	Anmerkung
bes.	besonders
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
EKG	Elektrokardiogramm
Fa.	Firma
FE	Fixateur externe
g	Gramm
h	Stunde
i. e.	id est
i. m.	intramuskulär
i. v.	Intravenös
Kap.	Kapitel
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
Km	Körpermasse
KM	kraniomedial (bezogen auf die Montageebene des externen Fixateurs)
l	Liter
M.	Musculus (Singular)
Max	Maximum
Mm.	Musculi (Plural)
Min	Minimum
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
µm	Mikrometer

N	Newton
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
Nm	Newton Meter
o. g.	obengenannte
ROI	Region Of Interest
s	Standardabweichung
s. c.	subkutan
sog.	so genannte/r/s
s. u.	siehe unten
Tab.	Tabelle
u. a.	unter Anderem
UTN	unaufgebohrte Tibianagelung
UTN 9	unaufgebohrter Tibianagel von 9 mm Durchmesser
V.	Vena
v. a.	vor allem
Vergr.	Vergrößerung
vs.	versus
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil
°	Grad
%	Prozent
∅	Durchmesser

Anhang

• Färbungen

Färbeprotokoll Safranin–Orange/von Kossa für histologische Schnitte nach Kossa (1901)

- | | |
|--|----------------------|
| 1. Entplasten von MMA (Methylmethacrylat)- Schnitten:
3 x 20 min in MEA (2-methoxyethylacetat) [Merck 806061] | |
| 2. Schnitte zum Rehydrieren in absteigende Alkoholreihe geben:
2 x 100 % Alkohol
1 x 96 % Alkohol
1 x 80 % Alkohol
1 x 70 % Alkohol, | <i>jeweils 2 min</i> |
| 3. In Aqua dest. kurz spülen | |
| 4. Färben in 3 %iger wässrigen Silbernitratlösung im Dunkeln | <i>5 min</i> |
| 5. 3 x Spülen in Aqua dest. | |
| 6. Reduzieren in Natrium- Formaldehydlösung | <i>2 min</i> |
| 7. Wässern in Leitungswasser | <i>10 min</i> |
| 8. Fixieren in 5% Natriumthiosulfatlösung | <i>5 min</i> |
| 9. Wässern in Leitungswasser | <i>10 min</i> |
| 10. Spülen in Aqua dest. | <i>kurz</i> |
| 11. Färben mit Safranin Orange | <i>8 min</i> |
| 12. Spülen in Aqua dest. | <i>kurz</i> |
| 13. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe:
1 x 80 % Alkohol
1 x 96 % Alkohol
2 x 100 % Alkohol, | <i>jeweils kurz</i> |
| 14. Entfetten in Xylol, Vorbereitung zur Eindeckung | <i>2 x 5 min</i> |
| 15. Eindecken mit Vitroclud | |

Färbeprotokoll Safranin–Orange/Lichtgrün für histologische Schnitte

- | | |
|---|----------------------|
| 16. Entlasten von MMA (Methylmethacrylat)- Schnitten:
3 x 20 min in MEA (2-methoxyethylacetat) [Merck 806061] | |
| 17. Schnitte zum Rehydrieren in absteigende Alkoholreihe geben:
2 x 100 % Alkohol
1 x 96 % Alkohol
1 x 80 % Alkohol
1 x 70 % Alkohol, | <i>jeweils 2 min</i> |
| 18. In Aqua dest. kurz spülen | |
| 19. Färben in Safranin- Orange- Lösung | <i>8- 10 min</i> |
| 20. 3 x Spülen in Aqua dest. | |
| 21. Pikrinsäure | <i>10 min</i> |
| 22. In Aqua dest. kurz spülen | |
| 23. In einprozentiger Essigsäure kurz spülen | |
| 24. Färben in Lichtgrünlösung | <i>8- 10 min</i> |
| 25. In einprozentiger Essigsäure kurz spülen. | |
| 26. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe:
1 x 80 % Alkohol
1 x 96 % Alkohol
2 x 100 % Alkohol, | <i>jeweils kurz</i> |
| 27. Entfetten in Xylol, Vorbereitung zur Eindeckung | <i>2 x 5 min</i> |
| 28. Eindecken mit Vitroclud | |

- **Werte der histomorphometrischen Parameter**

Parameter	M-Fixateur			KM-Fixateur			UTN		
	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.	Median	Min.	Max.
kortikale Weite	18.0	15.5	18.5	15.7	14.6	17.9	19.9	16.4	24.2
Gesamtkallusweite	28.5	26.6	30.9	23.9	19.8	28.8	30.5	28.7	38.3
knöcherne Kallusweite	28.2	25.2	31.4	23.1	19.9	27.7	28.9	26.1	36.0
ROI-Fläche	347.1	319.0	383.7	286.0	239.5	343.1	368.1	341.3	462.0
Knochendichte	78.8	72.7	82.7	78.5	74.0	85.3	81.0	76.6	92.1
kortikaler min. Knochen	80.5	71.2	98.0	64.8	54.9	93.4	35.9	26.2	56.7
kortikale Knochendichte	89.1	82.6	94.6	83.3	77.0	91.2	91.8	89.6	96.8
kortikale Bindegewebsfläche	0.5	0.2	1.6	0.8	0.3	3.4	0.9	0.3	2.3
Kallusfläche	229.4	195.2	299.8	199.6	158.2	236.4	204.9	186.1	254.7
med. Kallusfläche	130.5	101.6	179.7	119.3	84.4	129.9	116.3	76.7	136.3
lat. Kallusfläche	103.0	85.8	120.1	87.2	67.4	111.0	113.9	73.5	121.1
end. Kallusfläche	82.7	54.3	110.3	82.1	69.4	96.3	69.7	36.1	89.8
per. Kallusfläche	150.0	126.6	189.2	117.6	83.2	150.2	149.3	115.7	180.3
Gesamtfläche min. Knochen	197.6	179.3	263.3	180.2	137.4	202.8	114.0	71.3	182.8
min. Knochen medial	113.8	95.1	159.2	106.8	72.9	110.4	57.8	19.9	86.5
min. Knochen lateral	88.4	73.2	104.1	75.1	61.3	93.9	62.2	24.5	97.1
min. Knochen endostal	74.0	50.1	94.8	71.5	64.1	82.0	20.2	14.7	46.2
min. Knochen periostal	131.8	107.4	168.5	108.0	72.6	130.3	90.7	49.2	136.6
Knorpelfläche	0.2	0.0	0.6	0.3	0.0	1.2	1.3	0.1	4.2
Gesamtbindegewebsfläche	31.5	15.4	39.6	20.6	16.7	33.3	94.9	56.1	135.5
med. Bindegewebsfläche	16.3	6.2	20.3	11.1	5.5	19.4	47.7	30.8	83.4
lat. Bindegewebsfläche	15.6	9.2	23.4	12.0	5.9	17.1	50.1	10.8	72.9
end. Bindegewebsfläche	9.7	3.7	15.5	10.3	5.3	14.3	28.3	17.7	72.8
per. Bindegewebsfläche	19.9	11.2	35.9	12.3	8.6	19.9	61.9	27.0	89.5
Anteil Knochen an Gesamtkallus	86.7	83.4	91.8	87.9	85.8	90.8	51.8	37.8	71.7
Anteil Knorpel an Gesamtkallus	0.1	0.0	0.3	0.1	0.0	0.8	0.6	0.0	2.1
Anteil Bindegewebe an Gesamtkallus	13.3	7.9	16.6	11.6	8.9	14.1	47.1	28.0	61.3
Anteil med. Kallus an Gesamtkallus	55.7	50.7	61.6	54.8	52.5	64.1	52.8	41.2	61.8
Anteil lat. Kallus an Gesamtkallus	44.3	38.4	49.3	45.2	35.9	47.5	47.2	38.2	58.8
Anteil per. Kallus an Gesamtkallus	65.0	56.6	72.1	59.2	52.6	63.5	69.0	62.1	79.3
Anteil end Kallus an Gesamtkallus	34.9	27.6	43.3	40.8	36.3	46.7	30.5	18.6	37.8

Legende: lat./med./end./per. = lateral/medial/endostal/periostal

Weite in [mm]

Dichte/ Anteil in [%]

Fläche in [mm²]

Danksagung

Ich möchte meinem Doktorvater, Herrn PD D. Bragulla, danken für die kompetente Betreuung meiner Arbeit, seine fachlichen Einlassungen und seine Geduld - was lange währt, wird endlich gut!

Herrn Professor Dr.-Ing. Georg Duda verdanke ich diese Doktorarbeit und tiefe Einblicke in die Forschung.

Meine Arbeit wurde mir erleichtert durch die Unterstützung der Charité und der Kommission zur Förderung des wissenschaftlichen und künstlerischen Nachwuchses in Berlin (NaFöG), ohne deren großzügige finanzielle Unterstützung ich mich nicht so komplett auf die Forschung hätte einlassen können. Vielen Dank auch dafür!

Petra (Dr. Seebeck!) danke ich für die kritischen Denkanstöße, die konstruktive Betreuung meiner Doktorarbeit und die Zusammenarbeit im MSSM-Projekt.

Frau Schmitz danke ich für die Einführung in die Statistik und für ihre Bereitschaft, die statistischen Aspekte meiner Arbeit wieder und wieder zu überprüfen.

Weiterhin bin ich meinen Kolleginnen und Kollegen an der Charité sehr dankbar für die nette und konstruktive Arbeitsatmosphäre, dafür, dass ich beim Volleyball nie aktiv spielen musste und natürlich für sämtliche Besprechungen.

Meiner Familie möchte ich für die denkbar besten Voraussetzungen danken, auch meiner Oma Vera danke ich für die offen ausgesprochenen kritischen Gedanken zu Tierversuchen.

Dank an die Schafe und an Sie Heldenhafte!

Lebenslauf

Name	Hanna Schell
Geburtsdatum	25.04.1974
Geburtsort	Berlin
Eltern	Sylvia Schell, Softwareprogrammiererin Wolfgang Schmid, Dipl.-Ing.
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig
Schulbildung	
1980-1986	Besuch der Gotzkowsky-Grundschule in Berlin
1986- 1993	Besuch der Menzel-Oberschule (Gymnasium) in Berlin
Juni 1993	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife
Ausbildung und berufliche Tätigkeiten	
1993- 1999	Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
23.6.1999	Approbation als Tierärztin in Berlin
1999- 2003	Doktorandin in der Forschungsabteilung der Unfall- und Wiederherstellungschirurgie, Charité, Berlin
seit 12/2001	Wissenschaftliche Mitarbeiterin ebenda

Unabhängigkeitserklärung

Die vorgelegte Arbeit ist ohne unzulässige Hilfe Dritter von mir selbst verfasst und stellt - auch in Anteilen - keine Kopie anderer Arbeiten dar. Verwendete Hilfsmittel und Literatur sind vollständig angegeben.

Berlin, den 17. Dezember 2003

Hanna Schell