

2 LITERATURTEIL

2.1 DAS VORDERE KREUZBAND

2.1.1 ANATOMIE

Das VKB verbindet intraartikulär Femur und Tibia miteinander (Abb. 2-1). Sein Ursprung ist dorsal an der medialen Wange der lateralen Femurkondyle weit posterior. Von dort aus zieht es nach anteromedial und inseriert an der Eminentia intercondylaris der Tibia.



Abb. 2-1: schematische Darstellung eines Kniegelenkes vom Menschen

Das VKB des Menschen ist im Durchmesser an der Insertion 16- 24 mm breit und beschreibt dabei einen Halbkreis. Die Länge des VKB beträgt 31- 38 mm [122]. In seinem Verlauf durch das Kniegelenk kreuzt es das hintere Kreuzband (HKB), welches seinen Ursprung an der Innenseite der medialen Femurkondyle nimmt und in der Area intercondylaris posterior der Tibia inseriert [12, 50, 142, 152]. Das VKB ist in sich torquiert. In 90°-Beugung des Kniegelenkes beträgt diese Drehung 90°. In seinem proximalen Drittel beginnt das VKB sich nach tibial hin aufzufächern, so dass sich das Volumen des Bandes von femoral nach tibial in etwa verdoppelt [12]. Tibial ziehen anteriore Anteile des VKB unter den Fasern des Ligamentum transversum genus hindurch und einige Fasern strahlen in den vorderen Ansatz

des lateralen Meniskus ein. Fasern des dorsalen Anteils des VKB strahlen in den posterioren Ansatz des lateralen Meniskus ein. Von einem funktionellen Standpunkt aus betrachtet, wurde das VKB von einigen Autoren in ein anteromediales und ein posterolaterales Leitbündel aufgeteilt. Die zwei Bündel sind beim Schaf makroskopisch zu unterscheiden, im Gegensatz dazu können sie beim Menschen nur selten makroskopisch voneinander getrennt werden. Auch eine histologische Unterscheidung ist nicht möglich [151]. Das VKB wird in seinem gesamten Verlauf, ebenso wie das hintere Kreuzband, von einer Synovialis umschlossen. Somit hat es keinen direkten Kontakt zur Gelenkflüssigkeit.

Die Innervation des VKB erfolgt hauptsächlich über feine Äste des Nervus articularis posterior. Im Band selbst sind sensible Nerven zu finden, die als Schmerzrezeptoren und Mechanorezeptoren fungieren [12, 76]. Die Innervation des VKB spielt eine große Rolle beim Schutz vor unphysiologischen Bewegungen. Durch neuronale Rückkopplungsmechanismen und anschließender zentraler Steuerung von Kniegelenkstreckern und -beugern wird einer unphysiologischen Bewegung entgegengewirkt [95, 147]. Die Blutversorgung des VKB erfolgt zum einen durch Mikroplexus aus der Arteria genicularis medialis, einem Ast der Poplitealarterie und zum anderen durch ein Mikroplexus aus der Arteria genicularis descendens, die aus der Arteria femoralis entspringt und medial der Patellarsehne in das Kniegelenk eintritt und mit der Arteria genicularis medialis anastomosiert. Die Kapillaren, die das VKB versorgen, ziehen in longitudinaler Richtung parallel zu den Kollagenfaserbündeln durch das ganze Band [12, 177].

Das vordere Kreuzband besteht hauptsächlich aus straffem Bindegewebe und besitzt eine multifasciculäre Struktur. Die Kollagenfibrillen werden von lockerem Bindegewebe, dem Endotenium, in kleinere Faserbündel unterteilt [45]. Kollagene Fasern bilden einzelne Kollagenfaserbündel mit einem Durchmesser von ca. 20 μm , die von Epitendineum umgeben sind. Mehrere Kollagenfaserbündel formen Faszikel mit einem Durchmesser von 20-400 μm . Alle kollagenen Faserbündel zusammen bilden das Kreuzband [45, 47]. Die extrazelluläre Matrix (EZM) des vorderen Kreuzbandes setzt sich hauptsächlich aus Kollagen Typ I und III zusammen [152]. Die Kollagenfibrillen bestehen aus Kollagenmolekülen, die sich über so genannte α -Helices zu Tripelhelices oder auch Tropokollagenfibrillen zusammenlagern. Die α -Helices werden von ca. 1000 Aminosäuren gebildet, von denen jede dritte Glycin ist. Die übrigen Aminosäuren sind hauptsächlich Prolin und Hydroxyprolin. Diese drei Aminosäuren machen ca. 10 % des Moleküls aus. Jeweils drei linksgewundene Helices (α -Helices) winden sich umeinander und bilden eine rechtsgewundene Tripelhelix, das Tropokollagen. Dieses hat eine stäbchenartige Struktur mit einer Länge von ca. 300 nm, einem Gewicht von ca. 100.000 Dalton und einem Durchmesser von ca. 1,5 nm. Die Tripelhelices werden durch das

raue endoplasmatische Retikulum zum Golgi-Apparat und von dort in sekretorischen Bläschen zur Zellwand transportiert. Dort werden sie ausgeschleust und lagern sich im extrazellulären Raum zu Makromolekülen, den so genannten Mikrofibrillen, zusammen. Diese haben eine fünfsträngige, überlappende Struktur, die den Kollagenfibrillen ihre typische, quer zur Faserrichtung verlaufende Querstreifung verleiht [9]. Sie sind so angeordnet, dass sie je nach mechanischer Belastung und anderen biologischen Einflussfaktoren verschiedene Längen und Orientierungen haben.

2.1.2 BIOMECHANIK

Das VKB verhindert als Stabilisator die vordere Translation der Tibia gegenüber dem Femur. Die Mechanik des Kniegelenkes folgt dem Prinzip einer überschlagenen Viergelenkkette [130]. Die Kreuzbänder stellen die Gelenkstangen dar, welche den gleichmäßigen Ablauf der physiologischen Roll-Gleit-Bewegung des Kniegelenks gewährleisten [130]. Einer Ruptur des VKB resultiert in einer erhöhten Kniegelenkslaxizität [62]. In diesem Fall kommt es beim Strecken des Kniegelenkes zu einer vorderen Verschiebung der Tibia gegenüber dem Femur. Diese pathologische Bewegungsfreiheit der Tibia gegenüber dem Femur, kann beim Patienten das subjektive Gefühl der Instabilität im Kniegelenk erzeugen [123].

Die Insertionsstellen, sowohl des vorderen als auch des hinteren Kreuzbandes, sind so gelegen, dass zu jedem Zeitpunkt einer Bewegung des Kniegelenkes die Distanz zwischen femoraler und tibialer Insertionsstelle gleich groß, d.h. isometrisch, bleibt [130, 142]. Die Isometrie ist die Determinante für die Kniestabilität, und obgleich das VKB stets isometrisch bleibt, verändert sich sein Spannungszustand im Laufe einer Bewegung des Gelenkes [12]. Die Spannungszustände der einzelnen Faserbündel des VKB verändern sich dabei allerdings nicht gleichsam, sondern für jedes Bündel ganz individuell [142]. Um die Spannungszustände des VKB während einer Kniegelenksbewegung zu studieren, lassen sich aus funktioneller Sicht grob ein anteromediales und ein posterolaterales Bündel voneinander trennen [12, 142]. In Streckung und Überstreckung sind alle Fasern des VKB gespannt. Wird das Kniegelenk gebeugt, so entspannen sich vor allem die Fasern des posterolateralen Bündels zunehmend, bis das Spannungsminimum des Gesamtbandes bei einer Beugung zwischen 30° und 40° erreicht wird [12, 78]. Bei Beugungen über 90° spannen sich die Fasern des anteromedialen Bündels wieder stärker an, die Fasern des posterolateralen Bündels hingegen sind völlig entspannt [12]. Im Vergleich zu dem posterolateralen Bündel sind die Spannungsänderungen im anteromedialen geringer. Daher wird das anteromediale Bündel auch als Leitbündel des VKB bezeichnet [123].

2.1.3 INSERTION DES VKB AM KNOCHEN

An den femoralen und tibialen Ansatzstellen des Kreuzbandes am Knochen weicht der mikroskopische Aufbau des vorderen Kreuzbandes von dem intraartikulären Aufbau ab. Dort ähnelt die Struktur des VKB dem Aufbau von Fasernorpel [152].

Schon Clopton Havers beschreibt lange vor William Sharpey zwei unterschiedliche Insertionsformen von Bändern oder Sehnen am Knochen [77]. Er bemerkte, dass einige Bänder direkt aus dem Periost entspringen, während andere das Periost wie eine Membran durchdringen. Prinzipiell lassen sich demzufolge zwei Arten einer Bandinsertion unterscheiden: eine direkte Bandinsertion und eine indirekte Bandinsertion (Abb. 2-2).

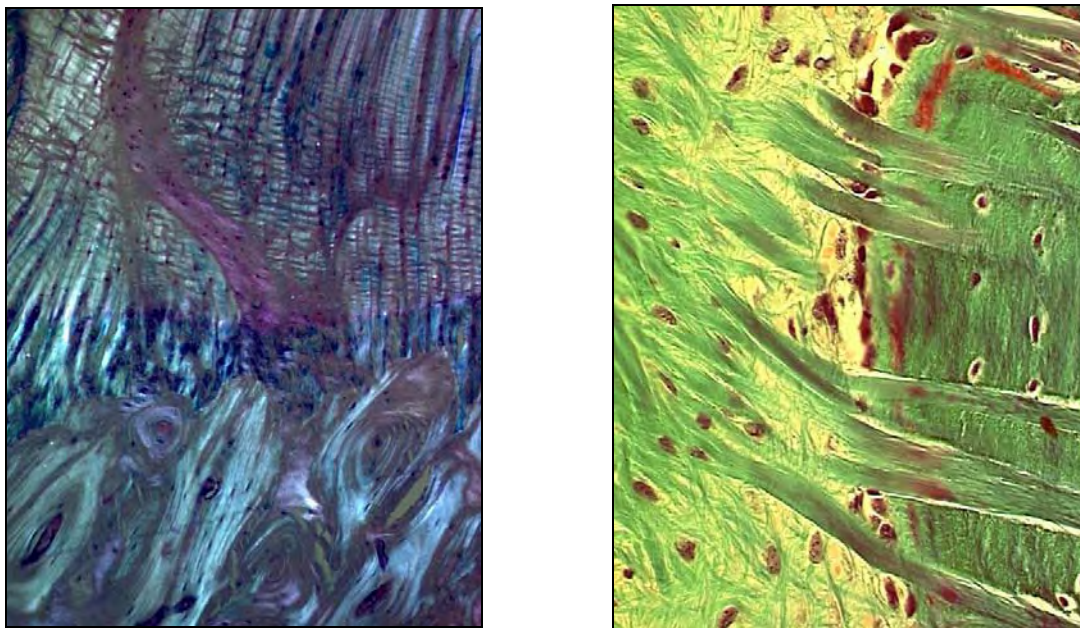


Abb. 2-2: Links: direkte Bandinsertion eines nativen VKB vom Schaf (Alcian blau Färbung, 10 er Objektiv). Rechts: indirekte Bandinsertion nach VKB-Rekonstruktion (Masson-Goldner-Trichrom, 40 er Objektiv)[206]

Die indirekte, oder auch periostale Insertion von Sehnen und Bändern ist physiologischer Weise am Ansatz kurzer Bänder oder Sehnen zu finden, die über eine relativ große Insertionsfläche am Knochen inserieren und weniger hohe Kräfte auf den Knochen übertragen [19]. Unter anderem inseriert das mediale Kollateralband in Form einer indirekten Bandinsertion am Knochen [211]. Die indirekte Bandinsertion ist durch die Verbindung von Band oder Sehne zum Knochen über eine bindegewebige Schicht mit kollagenen Fasern gekennzeichnet, die das Periost durchdringen und in den Knochen einstrahlen. Diese kollagenen Fasern wurden nach William Sharpey benannt [180].

Das vordere Kreuzband inseriert in Form einer direkten oder auch chondral apophysären Bandinsertion am Knochen [12, 18, 46, 152]. Eine direkte Bandinsertion ist überall dort zu finden, wo relativ große Kräfte auf eine kleine Fläche wirken. Außer dem vorderen

Kreuzband inserieren unter anderem das hintere Kreuzband, die Patellarsehne an der Tuberositas tibiae und die Supraspinatussehne am Humerus mit Ausbildung einer direkten Bandinsertion. Die direkte Bandinsertion ist durch das unmittelbare Ansetzen des Bandes an den Knochen ohne periostale Abgrenzung gekennzeichnet. Sie zeigt einen charakteristischen „Vier-Zonen-Aufbau“, bestehend aus dem Band (Zone 1), Faserknorpel (Zone 2), Kalkknorpel (Zone 3) und dem Knochen (Zone 4).

Die extrazelluläre Matrix (EMZ) des VKB´s besteht hauptsächlich aus kollagenen Fasern mit Kollagen Typ I und III. Dabei ist das Kollagen Typ I für die hohe Zugfestigkeit entscheidend und das Kollagen Typ III für die viskoelastischen Eigenschaften [152]. An den Insertionszonen ist vermehrt Kollagen Typ II vorhanden. Dort enthält die extrazelluläre Matrix des Faserknorpels eine hohe Konzentration an sulfatierten Glykosaminoglykanen [152]. Glykosaminoglykane sind langkettige Polysaccharide aus Disaccharideinheiten bestimmter Zucker, wie Hyaluronsäure, Heparansulfate, Dermatansulfate, Chondroitinsulfate und Keratansulfate. Besonders im Knorpel wird die Rolle von Proteoglykanen und Glykosaminoglykanen für die Fähigkeiten der extrazellulären Matrix deutlich. Sie können viel Wasser binden und sind so für die Eigenschaften der jeweiligen EZM wichtig. Proteoglykane haben einen maßgeblichen Einfluss auf die Selbstassemblierung der kollagenen Fasern. Darüber hinaus können Proteoglykane Wechselwirkungen zwischen Matrixproteinen vermitteln [41].

Die erste Beschreibung einer direkten Bandinsertion ist von dem russischen Anatom Dolgo Saburoff im Jahr 1929 überliefert worden [51]. Er untersuchte den „fleischigen“ Ansatz gegenüber der „sehnigen“ Insertion von Muskeln und Sehnen am Knochen. Bei der „sehnigen Befestigung“ beschreibt er die Veränderung der Sehnenstruktur in Richtung Knochen mit auftretenden Knorpelzellen und einem allmählichen Übergang zu einer Faserknorpelstruktur, der verkalkt und mit dem Knochen verbunden ist. Der verkalkte Knorpel und der Faserknorpel sind durch eine Grenzlinie voneinander getrennt, die auch als „blue line“ bezeichnet wird [51].

Durch den „Vier-Zonen-Aufbau“ der direkten Bandinsertion wird ein kontinuierlicher Übergang von hartem Gewebe, wie Knochen, zu weichem Gewebe, wie dem Band oder einer Sehne, ermöglicht. Somit kann auch die Kraftübertragung vom Band auf den Knochen kontinuierlich erfolgen. Der Knochen geht unregelmäßig in den Kalkknorpel über, so dass eine Art Verzahnung der beiden Gewebe entsteht [175]. Zwischen den Knorpelzellen verlaufen kollagene Fasern vom Knochen aus bis in das Bandgewebe. Diese kollagenen Fasern verzweigen sich zwischen den Knorpelzellen. Den zwischen sich verzweigenden kollagenen Fasern gelegenen Knorpelzellen kommt dabei die Funktion von Umlenkrollen zu.

Es entsteht ein Federungssystem, wodurch Zug und Scherkräfte effektiv abgefangen werden können [19, 109, 175].

Entsprechend der kausalen Histiogenese ist die Entstehung von Faserknorpel in Binde- und Stützgeweben eine physiologische Reaktion auf einwirkende Druckkräfte [149]. An dem Übergang der kollagenen Fasern in den Knochen verzweigen sich diese. Eine Kompression des vorderen Kreuzbandes im Bereich der Bandinsertion kann somit als Folge der Zugkräfte gesehen werden. Bei Zugbeanspruchung werden die zwischen den sich verzweigenden kollagenen Fasern gelegenen Zellen komprimiert [18, 109].

2.2 HISTORIE

Schon Hippokrates (geb. 460 in Kos, bis 370 v. Chr.) beschrieb eine Subluxation des Kniegelenkes nach einer Verletzung der Kniegelenksbänder [52]. Die erste biomechanische Beschreibung des Kniegelenkes und der Funktion der Kreuzbänder in neuerer Zeit wurde von den Brüdern Weber in Jahre 1836 überliefert. Sie beschrieben die stabilisierende Funktion der Bänder für die anteroposteriore Richtung. Die Auswirkung rupturierter Kreuzbänder auf die Kniegelenksmechanik wurde 1845 von Amédée Bonnet in Kadaverstudien untersucht [26]. Im folgenden Jahrzehnt erkannte man die Funktion der Kreuzbänder besser und es wurden klinische Untersuchungsinstrumente, wie die extensionsnahe Schubladeprüfung und der Pivot-shift-Test entwickelt. Mit der Fähigkeit eine Kreuzbandruptur zu diagnostizieren, wurden aufgrund der geringen Selbstheilungstendenz bald erste Versuche unternommen, rupturierte Kreuzbänder operativ zu versorgen.

Die erste chirurgische Versorgung eines gerissenen Kreuzbandes wurde 1895 von Mayo Robson durchgeführt. Er befestigte das rupturierte Kreuzband eines Bergarbeiters mit einem Catgut Faden an seinem femoralen Ansatz [163] und veröffentlichte 8 Jahre später die Ergebnisse der Nachuntersuchung. Im Jahre 1900 berichtete W. Battle von dem erfolgreichen Ergebnis einer Kreuzbandnaht, die er 1898 durchgeführt hatte [17]. 1913 veröffentlichte Goetjes die Ergebnisse von 30 Fällen einer Bandnaht nach VKB- Ruptur [68]. Aber schon 1916 erhoben sich erste kritische Meinungen über den Erfolg der primären Bandnaht. So erkannte unter anderem E. Hey Groves die Insuffizienz der primären Bandnaht. Daraufhin führte er 1917 einen Bandersatz mit einem Streifen der Fascia lata durch [81].

Anfang des 20. Jahrhunderts konnte die operativen Technik entscheidend verbessert werden, indem allmählich arthroskopische Verfahren entwickelt wurden [22, 23, 38, 106].

Nach ersten Versuchen des Japaners Kenji Takagi 1918 mit einem Zystoskop in das Kniegelenk zu schauen, konnte 1921 der Schweizer Eugen Bircher erstmalig ein Leichenknie mit einem Jacobeus Laparoskop arthroskopieren [22]. In den folgenden Jahren fanden verschiedene Versuche einer Kreuzbandrekonstruktion statt, die verschiedene Transplantate verwendeten. Auch Versuche den Meniskus als Transplantat zu verwenden, wurden zwischenzeitlich durchgeführt, konnten sich allerdings nicht durchsetzen. Synthetische Materialien, wie zum Beispiel die Verwendung von Seide, wurden von Lange vorgeschlagen [114]. 1950 verwendete Lindemann die Sehnen des M. gracilis und des M. semitendinosus und ging damit auf ein Verfahren zurück, das Edwards bereits 1926 beschrieben hatte [53]. Erst in jüngster Zeit wird die Patellarsehne (BPTB; bone-patellar tendon-bone) als Transplantat in Erwägung gezogen. 1963 operierte Jones das vordere Kreuzband, indem er das mittlere Drittel der BPTB mit einem Knochenblock an seinem proximalen Ende verwendete [98]. Die tibiale Insertion blieb erhalten, so dass er einen Patellarsehnenflap zur Stabilisation der Kreuzbandruptur verwendete. Brückner wandte 1966 ein ähnliches Verfahren an, wobei er das gestielte BPTB- Transplantat auch tibial durch einen Bohrkanal führte und auch freie BPTB- Transplantate verwendete [37]. Damit legte er vermutlich den Grundstein für die Verwendung des mittleren Drittels der Patellarsehne als Transplantat, die auch als „Brückner-Plastik“ bezeichnet wird.

2.3 DERZEITIGER STAND DER KREUZBANDREKONSTRUKTION

2.3.1 TRANSPLANTATFIXATION: EXTRAARTIKULÄRE VS. GELENKNAHE FIXATION

Prinzipiell lassen sich zwei Arten der Transplantatverankerung nach einer VKB-Rekonstruktion unterscheiden: eine extraartikuläre Fixation, hier auch als insertionsferne Fixation bezeichnet und eine gelenknahe oder auch kortikale Fixation auf Gelenkniveau. Die extraartikuläre Fixation befindet sich außerhalb des Gelenkes und das Transplantat wird dabei indirekt über ein Verbindungsmaterial, z. B. Nahtmaterial, an dem Fixationsmittel befestigt. Eine indirekte Befestigung kann an den Transplantatenden über Schrauben, Knöpfe, Endobutton und Postfixation über einer Knochenbrücke erfolgen. Als nachteilig bei der insertionsfernen Fixation hat sich die relativ große Bewegungsfreiheit des Transplantates im Bohrkanal herausgestellt [85, 86, 137]. Durch die Befestigung des Transplantates weit entfernt von der ursprünglichen Insertion des VKB vergrößert sich die biomechanisch wirksame Länge des Transplantates (Abb. 2-3 A). Das native vordere Kreuzband hat eine Länge von 31- 38 mm [122]. Im Gegensatz hierzu beträgt die biomechanisch wirksame Länge der Verankerungskonstruktion nach einer Kreuzbandrekonstruktion mit insertionsferner Befestigung 10- 15 cm. Durch die elastischen Eigenschaften des

Transplantates kann sich dieses über die gesamte Länge des Knochentunnels strecken („bungee cord effect“) [207] (Abb. 2-3B). Dadurch treten zwischen Transplantat und Knochentunnel Scherkräfte auf, die die Einheilung des Transplantates verzögern. Zusätzlich kommt es während der Kniegelenksbewegung zu Transplantatbewegungen in anterioposteriorer Richtung. Diese Transplantatbewegung kann zu einer trichterförmigen Aufweitung am Tunneleingang führen und wird als Ursache für das Phänomen der Tunnelaufweitung betrachtet („windshield wiper effect“) [85, 86, 137] (Abb. 2-3). Eine solche Tunnelaufweitung verhindert die osseäre Integration des Transplantates.

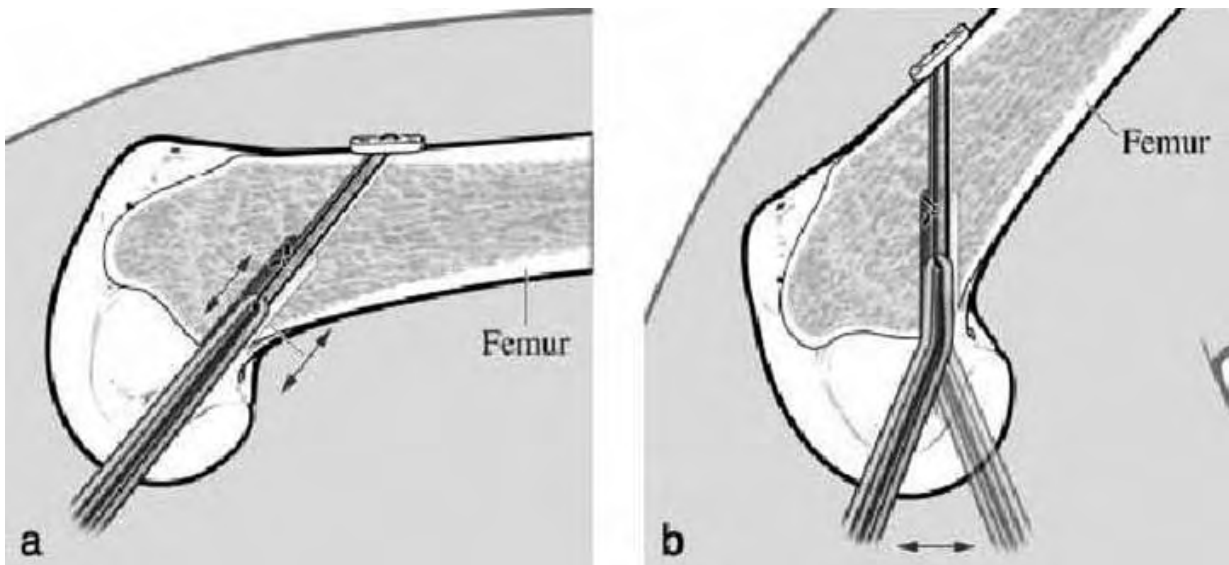


Abb. 2-3: A: „Bungee cord effekt“, Bewegung des Transplantates longitudinal zum Bohrkanal. B: „windshield wiper effect“, trichterförmige Aufweitung des Tunneleingangs durch transversale Transplantatbewegungen. [207]

Durch eine Fixation des Transplantates nahe der ursprünglichen Insertion des VKB an der Kortikalis wird die biomechanische Belastung der anatomischen Situation angepasst. Diese Befestigungsart wird daher auch als kortikale oder gelenknahe Fixation bezeichnet. Eine gelenknahe Fixation des Transplantates auf Gelenknahe kann durch so genannte Interferenzschrauben, Staples, Cross-Pins oder auch Washers erfolgen. Die Interferenzschrauben werden parallel zum Transplantat bis auf Gelenknahe in den Bohrkanal eingebracht. Ein wesentlicher Vorteil der Interferenzschrauben liegt darin, dass sie durch den gleichen Zugang wie das Transplantat eingebracht werden und die Notwendigkeit eines weiteren Zugangs entfällt [80]. Als Interferenzschrauben werden sowohl metallene als auch biodegradierbare Implantate verwendet. Die Vorteile biodegradierbarer Schrauben gegenüber Metallschrauben liegen in einfacher durchzuführenden Revisionsoperationen, einer ungestörten bildgebenden Diagnostik und einem geringeren Risiko der Transplantatschädigung bei gleicher oder sogar höherer initialer Ausreißstabilität wie mit Metallschrauben [15, 58, 111, 127, 129, 181, 202, 203, 208].

Durch eine isometrische, rigide Fixation kann das Transplantat schneller einheilen, als bei einer „losen“ Fixation [13]. Scanton et al. veröffentlichten 1998 die Ergebnisse ihrer Untersuchungen über die Revaskularisation und den Ligamentisierungsprozess von freien Sehnentransplantaten unter Interferenzschraubenfixation am Schaf. Nach 6 Monaten stellten sie in ihrer histologischen Untersuchung ein Angleichen der Struktur des operierten gegenüber dem nativen VKB fest. Des Weiteren bemerkten Sie die Transformierung von chondroiden Zellen an den Insertionszonen nach drei Monaten [176]. Weiler et al. zeigten 2002 erstmals das Entstehen einer direkten Bandinsertion mit einem Flexorsehnentransplantat in der frühen Heilungsphase unter gelenknahen Verankerung durch Interferenzschrauben [201, 207]. Durch den direkten Kontakt zwischen Knochenwand und Transplantat fehlte die Ausbildung einer fibrösen Zwischenschicht und am Tunneleingang konnte sich eine direkte Bandinsertion entwickeln.

Andere Erklärungsansätze für die Entstehung einer Tunnelaufweitung werden in biologischen Faktoren gesehen. So wird von anderen Autoren angenommen, dass das Eindringen von Synovialflüssigkeit neben der Transplantatbewegung innerhalb des Knochentunnels, ebenfalls die Entstehung einer Tunnelaufweitung begünstigt [42, 144, 220]. Berg et al. zeigten in einer Arbeit von 1999, dass ein Knochentunnel, als Leerdefekt ohne Transplantat, bei Kontakt mit der Synovia langsamer verheilt [20]. Zytokine, wie zum Beispiel Tumor Nekrose Faktor (TNF- α) oder Interleukine (IL-1 β , IL-6) sind in der Synovialflüssigkeit nach einer VKB-Verletzung mehrere Wochen lang erhöht [40]. Diese Zytokine stimulieren unter anderem die Osteoklastenaktivität und können dadurch zur Knochenresorption führen [16]. Es ist anzunehmen, dass durch eine rigide Fixation mit Interferenzschrauben auf Gelenkniveau das Eindringen von Synovialflüssigkeit in den Bohrkanaal vermindert wird und sich dies ebenfalls positiv auf die Integration des Transplantates in den Knochen auswirkt.

2.3.2 WAHL DES TRANSPLANTATES: PATELLARSEHNE VS. HAMSTRINGSEHNEN

Gegenwärtig werden hauptsächlich zwei autologe Transplantate verwendet: das mittlere Drittel der Patellarsehne (BPTB), das mit tibialen und patellaren Knochenblock entnommen wird und freie Sehnentransplantate, wie die Hamstringsehnen oder auch die Quadricepssehne. Als Hamstringsehnen werden Sehne des M. gracilis, des M. semitendinosus und des M. semimembranosus bezeichnet.

Das Patellarsehnentransplantat wird, wie schon von Brückner beschrieben, im mittleren Drittel entnommen [37]. An seiner proximalen Insertion wird es mit einem Knochenblock aus der Patella entnommen und an seiner distalen Insertion mit einem Knochenblock aus der Tibia. Im Mittel weist das BPTB-Transplantat beim Menschen einen Durchmesser von 8-11

mm auf. Das Patellarsehnentransplantat wird heutzutage üblicherweise in endoskopischer Technik in einen femoralen und einen tibialen Bohrtunnel eingebracht. Durch die Knochenblöcke kann im Bohrkanal eine Knochen-Knochenheilung, ähnlich einer Frakturheilung, erfolgen. Somit ist eine schnellere, komplikationsarme Einheilung des Transplantates möglich [173, 195]. Ein weiterer wesentlicher Vorteile der Entnahme mit Knochenblöcken ist außerdem eine hohe initiale Stabilität der VKB-Rekonstruktion. Biomechanische Untersuchungen unmittelbar postoperativ weisen Steifigkeiten und Ausrissfestigkeiten des Patellarsehnentransplantates auf, die den Werten eines intakten VKB ähnlich sind [35, 167, 193]. Noyes et al. wiesen sogar eine vielfach höhere Steifigkeit und Belastbarkeit des BPTB-Transplantates im Vergleich zum nativen VKB auf [140]. Die anhängenden Knochenblöcke werden mit metallenen und zunehmend auch biodegradierbaren Interferenzschrauben auf Höhe des Gelenkspaltes im Bohrtunnel gelenknah fixiert [110, 113, 129, 199]. Eine sichere Transplantatfixierung und daraus folgend ein hohe initiale Stabilität sind von wesentlicher Bedeutung für den Erfolg einer Kreuzbandrekonstruktion [188]. Die Ergebnisse hinsichtlich der initialen Stabilität bei Verwendung der Patellarsehne sind hervorragend. Diese Stabilität der Gesamtkonstruktion nach VKB- Ersatz mit BPTB-Transplantaten ist außerdem durch die anhängenden Knochenblöcke bedingt, da hierdurch ein Herausgleiten des Transplantates aus dem Bohrkanal in der frühen postoperativen Phase verhindert wird. Auch Langzeituntersuchungen brachten gute Ergebnisse in Bezug auf Rückkehr zu sportlichen Aktivitäten und Kniestabilität hervor [210, 219].

Allerdings hat die Verwendung des autologen BPTB-Transplantates auch erhebliche Nachteile. Viele Patienten klagen nach der Operation über vorderen Knieschmerz [101, 168], patellofemorale Schmerz oder auch über Krepitationen im Kniegelenk [55, 169]. Durch die Patellarsehnenentnahme kann es zu einer Verletzung des Hoffaschen Fettkörpers kommen, die zu einer Hoffa-Fibrose führt. Des Weiteren werden Rupturen, Verkürzungen und Entzündungen der Patellarsehne und Patellafrakturen als Komplikationen genannt [14, 34, 108, 169]. Beschwerden des patellofemorale Gleitlagers traten häufig auf [2, 3, 169]. Oft kommt es in Folge der Transplantatentnahme zu einer narbigen Kontraktur. Diese kann in einer Verkürzung der Patellarsehne resultieren [94, 134, 135, 179]. Eine Verkürzung der Patellarsehne ist, ab einem bestimmten Grad, ein prädisponierender Faktor für die Entstehung einer frühzeitigen patellofemorale Arthrose. Seltener kommt es zu einer Patellafraktur oder einer Ruptur der Patellarsehne [25, 31, 48, 143]. Durch die mit der Transplantatentnahme verbundene Morbidität wird oft die Langzeitprognose bei Verwendung des Patellarsehnentransplantates gefährdet.

Die Entnahmemorbidity ist ein Hauptgrund dafür, dass inzwischen ca. 40 % aller VKB-Rekonstruktionen mit so genannten Hamstrings vorgenommen werden. Dabei werden die Sehnen des M. semitendinosus und des M. gracilis zu einer zwei-, drei-, vier- oder vielfachen Bündelstruktur gefaltet und mit einer "baseball-style whip stitch" Technik vernäht, so dass das Transplantat einen Durchmesser von bis zu 9 mm erreichen kann. Somit konnte die initiale Rissfestigkeit des Transplantatgewebes wesentlich erhöht werden und ist unmittelbar postoperativ vergleichbar mit den biomechanischen Eigenschaften des VKB [125, 191]. Auf Grund einer recht geringen Entnahmemorbidity und speziell dann, wenn die Kniesituation eine Patellarsehnenentnahme unmöglich macht, bieten freie Sehnentransplantate eine gute Alternative zum Patellarsehnentransplantat [3, 36, 166]. Unmittelbar nach der Transplantatentnahme werden zwar auch Funktionseinschränkungen der Hamstringmuskulatur beschrieben [126, 187], diese sind jedoch nach neun Monaten nicht mehr nachweisbar [217]. Auch sind die anfänglichen Probleme der Fixation in Bezug auf die initiale Festigkeit und vorzeitiges Versagen der Transplantatverankerung mittlerweile weitgehend überwunden worden. Durch neue Fixationsmethoden mit biodegradierbaren Interferenzschrauben und den so genannten Endopearls als proximalen Knochenblockersatz konnte die Stabilität der Transplantatverankerung auch bei reinen Sehnentransplantaten erheblich verbessert werden [202, 204]. Neben der Wahl des Transplantates und der Transplantatfixation ist die feste Verankerung des Transplantates, die der natürlichen Position und Insertionsstelle des VKB am nächsten kommt, für die postoperative Rehabilitation und die Isometrie des Kniegelenkes von immenser Bedeutung [10, 33, 86, 207].

2.3.3 COMPOSITE MATERIALIEN

Die ersten biodegradierbaren Implantate bestanden aus Polyglykolid. Bei tierexperimenteller intraossärer Applikation riefen sie intensive Fremdkörperreaktionen hervor [200]. Basierend auf diesen Erfahrungen wurden biodegradierbare Schrauben aus Polylactid entwickelt. Zunächst benutzte man Poly-L-Lactid (PLLA). PLLA besitzt eine wesentlich höhere Biokompatibilität, allerdings auch eine sehr lange Degradationszeit, so dass es 5 bis 6 Jahre nach Einbringen in den Knochen noch erhalten bleibt [21]. Durch kristalline Abbauprodukte werden in geringerem Maße Fremdkörperreaktionen hervorgerufen [192]. Interferenzschrauben aus Poly-L-co-D,L-Lactid (PL/DLLA) oder Poly-D,L-Lactid (PDLLA) zeigten deutlich bessere Biokompatibilität und eine schnellere Degradation als die PLLA-Implantate [203].

Trotz der wesentlich besseren Ergebnisse hinsichtlich der Degradation und der Biokompatibilität, besteht auch bei der Verwendung von PDLLA immer noch das Risiko von

Fremdkörperreaktionen und Osteolysen. Daraus ergab sich die Notwendigkeit neue Materialien zu entwickeln, durch deren Abbau deutlich weniger Fremdkörperreaktionen hervorgerufen werden und die eine schnelle Integration des Transplantates ermöglichen.

Viele biodegradierbare Composite Materialien finden in der Mund-, Kiefer-, Gesichtschirurgie, sowie der Frakturheilung und den Knochenersatzmaterialien Verwendung [183, 184]. So genannte Composite Implantate bestehen aus einem biodegradierbarem Polymer und einer Keramikkomponente, wie dem Hydroxylapatit (HA) oder dem Tricalciumphosphat (TCP). HA und TCP sind anorganischer Bestandteil des Knochens. Knochen besteht zu 30 % aus organischer Matrix mit Zellen und extrazellulärer Matrix (überwiegend Kollagen Typ I). Die anorganische Knochenmatrix setzt sich hauptsächlich aus Calcium und Phosphat zusammen, die in Form von Hydroxylapatit gebundenen Kristallen und Carbonaten vorliegen [162]. Durch den Zusatz von Keramikmaterialien zu einem Polylactid soll die Biokompatibilität des Implantates verbessert werden. Als Endprodukt der Degradation von Polylactiden entsteht durch hydrolytische Spaltung Milchsäure, die im Krebszyklus zu CO₂ und H₂O verstoffwechselt wird. Bei einem überstürzten Abbau oder einem unzureichenden Abtransport der Milchsäure kommt es zu einem pH-Abfall. Dies ist einer der Hauptgründe für die Entstehung einer Entzündungsreaktion während des Implantatabbaus [5]. HA und TCP puffern den pH-Abfall im umgebenden Gewebe ab und sollen dadurch die Entzündungsreaktion vermindern [183, 197].

Ein weiterer Vorteil der Composite Materialien ist ihre osteokonduktive Wirkung [63, 65, 90, 104, 115, 116]. Durch die osteokonduktive Wirkung fördern die Composite Implantate das Heranwachsen des Knochens und bewirken eine schnellere Integration des Implantates in den umgebenden Knochen. Da die Knochen zu Sehnen Heilung maßgeblich von einem Heranwachsen des umgebenden Knochens abhängt, ist es denkbar, dass sich ein positiver Einfluss bei der Verwendung von Composite Implantaten auf eine direkte Bandinsertion ergeben könnte.

Durch den Zusatz der Keramikkomponenten werden außer dem knöchernen Anbau auch die mechanischen Eigenschaften, die Degradation und die Biokompatibilität des Implantates verändert. Eine sorgfältige Untersuchung der Composite Implantate ist daher unerlässlich.

2.4 TRANSPLANTATEINHEILUNG

2.4.1 EINHEILUNG VON HAMSTRINGTRANSPLANTATEN

Einer der ersten Chirurgen, der sich mit der Einheilung von einem Sehnenransplantat in den Knochen befasste war Graham A. Kernwein [103]. Er untersuchte die Rissfestigkeit der Sehne des M. extensor carpi radialis nach Implantation in den Unterarm und stellte eine Abnahme der Zugfestigkeit gegenüber der initialen Kraft fest. Erst 1963 zeigt Alan Forward die Einheilung einer Sehne in einen Knochentunnel und berichtete, dass diese Einheilung histologisch vergleichbar mit der Heilung eines Knochenbruchs ist [60]. Anfangs entwickelte sich zwischen den Knochen und dem Transplantat fibroblastenreiches Granulationsgewebe, das die im Knochenkanal befindliche Sehne umhüllte und verankerte. Im Laufe der Heilung wuchs Knochen in das Sehngewebe und verband über kollagene Fasern Transplantat und Knochen. Jones et al. implantierten 1986 die Sehne des M. digitalis profundus in den Knochen der distalen Phalanx und führten somit einen Sehnenransfer mit intakter Muskulatur des M. digitalis profundus an seiner proximalen Insertion durch. Auf die gleiche Methode untersuchten sie die Einheilung eines freien Sehnenransplantates [97]. Nach 4 Wochen zeigte sich in beiden Gruppen eine fibröse Zwischenschicht (FIZ) die bis zur 20.ten postoperativen Woche einer Reifung unterlag und eine indirekte Knochen-Sehnenverbindung über fibroblastenreiches Bindegewebe schaffte. In keiner der beiden Gruppen konnte bis zur 20. postoperativen Woche die Wiederherstellung eines „Vier-Zonen-Aufbaus“ oder Anzeichen einer direkten Bandinsertion beobachtet werden. In der Gruppe mit dem Sehnenransfer zeigte sich eine Steigerung der Ausrissfestigkeit von 35% des nativen Sehnenansatzes nach 12 Wochen auf 60% des Ausgangswertes nach 20 Wochen. Im unbelasteten Modell mit dem Sehnenransplantat steigerte sich die Belastungsfähigkeit der Rekonstruktion beständig bis zur 12 Versuchswoche auf etwa 25% des Ausgangswertes, erfuhr dann aber keine weitere Steigerung mehr. Rodeo et al. beschrieben die Einheilung eines Sehnenransplantates analog zu Forward [164]. Auch in ihrer Studie zeigte sich die Integration des Transplantates über Ausbildung von fibroblastenreichen Bindegewebe zwischen Transplantat und Knochen, das einer Reifung unterlag und schließlich über eine indirekte Bandinsertion das Transplantat mit dem Knochen verband (vergleiche Kap. 2.1.3).

Nach einer Kreuzbandrekonstruktion mit einem freien Sehnenransplantat wird hauptsächlich eine indirekte Knochen-Sehnen-Verbindung beschrieben [24, 73, 121, 164, 195, 213]. Die indirekte Bandinsertion tritt vor allem in der frühen Heilungsphase und unter insertionsferner bzw. nicht-gelenknaher Fixation des Transplantates im Knochentunnel auf. Erst in der späteren postoperativen Phase fielen einigen Autoren chondroide Zellen auf, die eine

weitere Reifung und Remodeling mit Entstehung einer direkten Bandinsertion vermuten lassen [60, 185, 213]. Unter Verwendung einer gelenknahen Transplantatfixation, mittels Interferenzschrauben, konnte die Einheilung der Hamstringsehnen mit chondroiden Zellen zwischen Transplantat und Knochen schon nach 9 bis 12 Wochen beobachtet werden. Nach 24 Wochen war eine deutliche Ausbildung eines „Vier-Zonen-Aufbaus“ der direkten Bandinsertion am Tunneleingang zu beobachten [201].

2.4.2 EINHEILUNG VON PATELLARSEHNENTRANSPLANTATEN

Die Patellarsehne selbst inseriert in Form einer direkten Bandinsertion an der Patella und der proximalen Tibia [150]. Als BPTB- Transplantat wird sie mit Knochenblöcken an ihren Insertionen entnommen. Bei der Einheilung eines BPTB- Transplantates kann durch diese Knochenblöcke eine Knochen- Knochen- Heilung im Bohrkanal erfolgen. Diese Knochen-zu-Knochen-Heilung erfolgt dann ähnlich einer Frakturheilung und ist nach 6-8 Wochen abgeschlossen [102, 145, 146, 178, 195]. Dabei zeigt der Knochenblock in den ersten 2-4 Wochen eine partielle Nekrose mit anschließender Revitalisierung und Knochenneubildung, bis er nach 6 bis 8 Wochen in den umgebenden Knochen integriert wird. Da die Patellarsehne an ihren Insertionsstellen an der Tibia und am Femur eine direkte Bandinsertion besitzt, bietet dieses Transplantat den Vorteil einer schnellen und aggressiven Integration in den Knochen [120]. Die direkte Bandinsertion der Patellarsehne an dem Knochenblock unterliegt nach Transplantation einem Remodeling [172].

Chiroff beschreibt 1975 die mikroangiographischen und histologischen Ergebnisse nach Ersatz des VKB mit einem Patellarsehnenflap an Hunden [43]. Als Transplantat befestigte er das proximale mittlere Drittel der Patellarsehne mit einem Knochenblock aus der Patella unter extraartikulärer Fixation. Die tibiale Insertion der Patellarsehne blieb dabei erhalten. Nach 4 Wochen bemerkte er am Übergang des Knochentunnels zur Gelenkfläche erstmalig Knorpelzellen im Transplantat. Nach einem Jahr zeigte sich eine enchondrale Ossifikation des Faserknorpels am Knochen- Sehnenübergang. Clancy et al. rekonstruierten 1981 neunzehn vordere und zehn hintere Kreuzbänder von Rhesus Affen mit einem gestielten und nicht gestielten Patellarsehnentransplantat [44]. Nach 8 Wochen waren beide rekonstruierten Bänder revaskularisiert und zu diesen Zeitpunkten von 16 und 20 Wochen ordneten sich die kollagenen Faserbündel. Zu diesen Zeitpunkten normalisierten sich die Gefäßdichte und Zellularität. Der intraossäre Anteil des Transplantates zeigte nach 8 Wochen eine starke Fibroblasten- und Osteoklastenaktivität. Nach neun Monaten zeigte sich erstmals eine direkte Bandinsertion mit Faserknorpel und Kalkknorpel zwischen Transplantat und Knochen.

Panni Schiavone et al. stellten wesentlich früher die Entwicklung einer direkten Bandinsertion fest. Sie untersuchten 1993 die Einheilung eines BPTB-Transplantates nach VKB-Rekonstruktion am Kaninchen und verglichen diese mit der nativen Insertion des vorderen Kreuzbandes [171]. Nach 2 Wochen zeigte sich eine Gewebsdegeneration mit Infiltration von Lymphozyten und Monozyten. Eine Integration des Transplantates in den Knochen konnte nicht beobachtet werden. Nach 5 Wochen war das Transplantat partiell integriert. Nach 8 Wochen hatte sich eine Schicht aus Faserknorpel zwischen der Patellarsehne und dem Knochen entwickelt. Weitere 4 Wochen später zeigte sich eine Kalkknorpelzone. Nach 16 Wochen war eine direkte Bandinsertion, wie sie auch das native vordere Kreuzband besitzt, entwickelt. In einer weiteren Studie operierten sie in zwei unterschiedlichen Methoden, einer so genannten „inside-out“ Technik und einer „outside-in“ Technik [173]. Dabei unterschieden sich der Winkel der Bohrung, sowie der Abstand zur Kortikalis. Außerdem wurden die Transplantate mit Schrauben befestigt. Bei der „inside-out“ Technik wurde die Schraube vom Gelenk aus in den Knochentunnel eingedreht, während bei der „outside-in“ Technik die Schraube von außen eingebracht wurde. Sie konnten nachweisen, dass auch die ehemalige Insertion des Sehnentransplantates an dem implantierten Knochenblock nach einem Ersatz des vorderen Kreuzbandes einem Remodeling unterliegt [173]. In beiden Gruppen konnten sie die Ausbildung einer direkten Bandinsertion beobachten. In der „inside-out“ Gruppe zeigte sich ein schnelleres Remodeling der Patellarsehne an ihrer nativen Insertion im Vergleich zu der „outside-in“ Gruppe.

Yoshiya et al. rekonstruierten 1999 das vordere Kreuzband bei 18 Hunden mit einem Patellarsehnentransplantat und befestigten dieses insertionsfern im Knochentunnel mit einer Schraube [218]. Sie beschreiben die Einheilung des Patellarsehnenknochenblocks in den umgebenden Knochen innerhalb von 12 Wochen. Nach einer Woche konnte anhand der reduzierten Osteozytenanzahl eine Nekrose des Knochenblocks nachgewiesen werden. Nach drei Wochen jedoch wurde der Knochenblock in den umgebenden Knochen integriert und eine starke Osteoblasten- und Osteoklastenaktivität war zu beobachten. Die ursprüngliche Sehneninsertion am Knochenblock der Patellarsehne stellte sich nach einer Woche noch mit einem klaren „Vier-Zonen-Aufbau“ dar. Auch nach drei und zwölf Wochen blieb dieser „Vier-Zonen-Aufbau“ ohne Anzeichen einer Nekrose intakt erhalten. Lediglich die lineare Ausrichtung der Chondrozyten veränderte sich. Das Interface zwischen Sehne und Knochen war nach einer Woche mit unorganisiertem fibroblastenreichem Bindegewebe ausgefüllt. Dieses reifte innerhalb der 12 Wochen und wies dann eine Schicht aus orientiertem Bindegewebe mit Sharpey-ähnlichen Fasern als Verbindung zwischen Transplantat und Knochen auf. Also auch der sehnige Anteil des BPTB-Transplantates wurde unter Ausbildung einer indirekten Bandinsertion in den Knochen integriert.

Um die Integration einer Sehne in einem Knochentunnel mit der Integration eines Knochenblock-Sehnentransplantates in einem Knochentunnel zu vergleichen, untersuchten Park et al. histologisch die Einheilung der Patellarsehne mit Knochenblock und ohne Knochenblock am Kaninchen [148]. Dazu lösten sie die Patellarsehne an der tibialen Insertion, mit bzw. ohne Entnahme eines Knochenblocks, und refixierten diese wieder an der Tibia. Sie befestigten das distale Ende der Patellarsehne mit bzw. ohne Knochenblock in einem tibialen Bohrkanal mittels Fäden über einem Endobutton. Für die Wiederbefestigung der Patellarsehne mit tibialem Knochenblock platzierten Sie den Bohrkanal weiter anterior, um eine gleiche Spannung des Transplantates trotz der unterschiedlichen Länge zu gewährleisten. Die Standzeiten betragen 2, 4, 8 und 12 Wochen. Außerdem führten sie eine biomechanische Testung der Rekonstruktionen durch. Bezüglich der biomechanischen Ergebnisse beobachteten sie eine signifikant größere Ausrisskraft bei Verwendung der Patellarsehne mit Knochenblock nach 4 und 8 Wochen. Nach 2 und 12 Wochen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Nach 8 Wochen war der Knochenblock in den Knochen integriert, die direkte Bandinsertion der Patellarsehne an diesem Knochenblock blieb dabei erhalten. Die Patellarsehne ohne Knochenblock wurde nach 4 und 8 Wochen über Bindegewebe in den Knochentunnel integriert. Nach 12 Wochen entwickelte sich eine direkte Bandinsertion mit Faserknorpel und Kalkknorpel zwischen Sehne und Knochen.

Kawakami et al. beschrieben 2004 die Einheilung eines Patellarsehnentransplantates mit Knochenblock bzw. ohne Knochenblock in einem Knochentunnel [102]. Sie rekonstruierten den vorderen Anteil des medialen Kollateralbandes am Knie bei Kaninchen. Dabei verwendeten sie in einer Gruppe ein Patellarsehnentransplantat mit lediglich einem Knochenblock, in der anderen Gruppe ein BPTB- Transplantat. Zur Transplantatverankerung verwendeten sie am femoralen Ende eine Schraube um den Knochenblock der Patellarsehne zu fixieren, während sie das freie Sehnenende über Fäden an einem Endobutton femoral befestigten. In beiden Gruppen fixierten sie den Knochenblock tibial mit einer Schraube. Nach 4 Wochen beobachteten sie eine partielle knöcherne Integration des BPTB und nach 8 Wochen eine vollständige Integration, während das reine Sehnenentransplantat unter Ausbildung einer indirekten Insertion einheilte.

Tomita et al. verglichen an einem Hundemodell histologisch und biomechanisch den Verlauf der knöchernen Einheilung eines gedoppelten FT- Transplantates mit dem eines BPTB- Transplantates nach VKB- Ersatzplastik [195]. Die Transplantate wurden über Fäden extraartikulär an einer Schraube befestigt, so dass das Transplantat über eine Länge von 15 mm im tibialen Knochentunnel lag. Die BPTB-Transplantate wurden gleichermaßen befestigt,

dabei betrug die Länge des Knochenblocks 10 mm und der sehnige Anteil war 5 mm lang. Bei den FT-Transplantaten entwickelte sich zwischen Transplantat und Knochen eine indirekte Bandinsertion, die auf der anterioren Seite deutlicher ausgebildet war, als auf der posterioren Seite. Nach drei Wochen zeigte sich ein hyperzelluläres Granulationsgewebe zwischen Transplantat und Knochen und vereinzelt kollagene Fasern, die in den Knochen einstrahlten. Nach 6 und 12 Wochen reiften diese kollagenen Fasern und wiesen als Sharpey-ähnliche Fasern eine direkte Bandinsertion zwischen Transplantat und Knochen auf. Der Knochenblock des BPTB-Transplantates wurde durch neu gebildeten Knochen in den umgebenden Knochen integriert, wobei die Osteozyten im Knochenblock bis nach 12 Wochen nekrotisch erschienen. Die native Insertion der Patellarsehne erschien nach 3 Wochen physiologisch, allerdings waren nach 6 und 12 Wochen Anzeichen einer Degeneration zu beobachten. Auch die BPTB-Transplantate zeigten im sehnigen Anteil die Ausbildung einer indirekten Verbindung zwischen Sehne und Knochen im proximalen Knochentunnel, die vergleichbar der FT-Transplantate stärker im anterioren als im posterioren Bereich ausgebildet wird.

2.5 POLYCHROME SEQUENZMARKIERUNG

Fluoreszenz (Namensgebung von Fluorit; Flussspat kalziumfluoridhaltiges fluoreszierendes Mineralsalz) beschreibt die Fähigkeit von Stoffen zu leuchten, wenn sie durch kurzwelliges Licht angeregt werden. Bei der Bestrahlung von Fluorochromen mit UV- Licht werden die Elektronen auf ein höheres Energieniveau angehoben. Wenn die Elektronen auf das ursprüngliche Energieniveau zurückfallen, wird Energie frei. Diese wird in Form von langwelligerem Licht frei und somit sichtbar. Die Wellenlänge des Lichtes verhält sich dabei umgekehrt proportional zur Frequenz und somit auch zu der freiwerdenden Energie. Durch die Verwendung verschiedener Filter kann das freiwerdende Licht unterschiedlicher Wellenlänge dargestellt werden.

Die Anlagerung von so genannten Fluorochromen bezeichnet man als sekundäre Fluoreszenz. Einige Substanzen besitzen von sich aus die Eigenschaft zu fluoreszieren, wie zum Beispiel Knochen, der ebenfalls eine Eigenfluoreszenz aufweist. Fluorochrome werden in der Mineralisationsphase der Knochenbildung an die Knochengrundsubstanz angelagert. Es entstehen Calcium-Fluorochrom-Chelate und eine Bindung der Farbstoffe an Hydroxylapatit. Für die Fluoreszenzmikroskopie geeignete Fluorochrome besitzen die Eigenschaft eine besonders hohe Affinität zum mineralisierenden Knochen zu haben. Dadurch ist eine Momentaufnahme zum Zeitpunkt der Applikation über die Umbauvorgänge im Knochengewebe möglich.

Schon 1599 stellte man fest, dass Alizin, ein Extrakt aus der Krappwurzel, den Knochen anfärben kann [160]. Die ersten Fluorochrome, die zur Markierung verwendet wurden, waren Porphyrine. 1958 beschrieben Milch et al., dass Tetracyclin nach Applikation den neu angebauten Knochen unter ultraviolettem Licht gelb aufleuchten lässt [132]. Durch die Entdeckung weiterer Fluorochrome, die ebenfalls eine hohe Affinität zum Knochen aufweisen, wie dem Calcein, Alizarinkomplexon und dem Xylenol-Orange war es möglich, eine polychrome Fluoreszenzmarkierung zu erreichen [160, 161]. Eine Substanz muss verschiedene Anforderungen erfüllen, damit sie zur Fluoreszenzmarkierung geeignet ist. Vor allem sollten Substanzen gut verträglich sein und in der verabreichten Dosierung, die zur Markierung benötigt werden, nicht toxisch sein. Die Fluorochrome sollten eine hohe Affinität zum Knochen, aber dennoch keinen Einfluss auf den Knochenmetabolismus haben. Bei einer polychromen Sequenzmarkierung sollten die verschiedenen Fluorochrome das gleiche Stadium der Knochenneubildung markieren.

Toxikologische Untersuchungen von Tetracyclin, Xylenol-Orange und Calcein ergaben, dass die toxische Dosis 5-30-mal über der zur Markierung notwendigen Dosierung liegt [160]. Somit schlagen Rahn et al. Calcein, Xylenol-Orange und Tetracyclin für eine polychrome Sequenzmarkierung vor.