

Aus dem
**Institut für Veterinär-Pathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

und der
**Charité - Universitätsmedizin Berlin
Zentrum für Muskuloskeletale Chirurgie
Campus Virchow Klinikum**

**Elektronenmikroskopische Analyse des Remodeling eines freien
Sehnentransplantates nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes unter lokalem
Einfluss von platelet- derived growth factor (PDGF-BB)**

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

vorgelegt von

Patrick Hunt
Tierarzt aus Stuttgart-Degerloch

Berlin 2003

Journal-Nr.: 2795

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Volker Bergmann
Zweiter Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med Andreas Weiler
Dritter Prüfer: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg

Deskriptoren

(nach CAB Thesaurus): experimental surgery, platelet-derived growth factor,
ligaments, healing, electron microscopy

Tag der Promotion: 06.02.2004

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielstellung	3
1.1	Einleitung	3
1.2	Zielstellung.....	4
2	Literaturteil	5
2.1	Klinische Relevanz der Kreuzbandrekonstruktion beim Menschen.....	5
2.2	Anatomie des vorderen Kreuzbandes (VKB)	7
2.2.1	Mikro- und Ultramikroanatomie des VKB	9
2.2.2	Blutversorgung.....	13
2.2.3	Innervation	14
2.3	Funktion	14
2.4	Frühere Methoden der Kreuzbandrekonstruktion.....	15
2.5	Heutiger Stand der Technik	17
2.6	Heilungsvorgänge nach der Kreuzbandrekonstruktion.....	19
2.7	Wachstumsfaktoren in der Kreuzbandchirurgie.....	21
2.8	Das Schaf als Modell für die Kreuzbandrekonstruktion.....	22
3	Material und Methoden	27
3.1	Material	27
3.1.1	Tierart und Anzahl.....	27
3.1.2	Tierhaltung.....	27
3.1.3	Gruppeneinteilung.....	27
3.1.4	Transplantatgewebe	28
3.1.5	Wachstumsfaktor	28
3.2	Methoden	29
3.2.1	Präoperative Massnahmen	29
3.2.2	Operatives Vorgehen.....	30
3.2.3	Postoperative Massnahmen	34

3.3	Transmissionselektronenmikroskopie	35
3.3.1	Probenentnahme und –aufarbeitung.....	35
3.3.2	Elektronenmikroskopische Untersuchung.....	36
3.3.3	Digitale Auswertung.....	37
3.4	Statistik	38
3.5	Weitere Untersuchungen der Arbeitsgruppe	39
4	Ergebnisse	40
4.1	Messwerte der Kollagenfibrillen des nativen VKB	40
4.2	Messwerte der nativen Flexorsehne	41
4.3	Vergleich der Ergebnisse von nativem VKB und nativer Flexorsehne	42
4.4	Messwerte der Kollagenfibrillen der 3-Wo-Kontrollgruppe	44
4.5	Messwerte der Kollagenfibrillen der 3-Wo.-Versuchsgruppe	45
4.6	Vergleich der Ergebnisse der 3-Wo.-Proben.....	45
4.7	Messwerte der Kollagenfibrillen der 6-Wo.-Kontrollgruppe	47
4.8	Messwerte der Kollagenfibrillen der 6-Wo.-Versuchsgruppe	48
4.9	Vergleich der Ergebnisse der 6-Wo.-Proben.....	49
4.10	Messwerte der Kollagenfibrillen der 12-Wo.-Kontrollgruppe	50
4.11	Messwerte der Kollagenfibrillen der 12-Wo.-Versuchsgruppe	51
4.12	Vergleich der Ergebnisse der 12-Wo.-Proben	52
4.13	Messwerte der Kollagenfibrillen der 24-Wo.-Kontrollgruppe	55
4.14	Messwerte der Kollagenfibrillen der 24-Wo.-Versuchsgruppe	56
4.15	Vergleich der Ergebnisse der 24-Wo.-Proben	56
4.16	Zusammenfassung der elektronenmikroskopischen Befunde.....	58
4.16.1	Deskriptive Auswertung	58
4.16.2	Messparameter.....	61

5	Diskussion	66
5.1	Vergleich der Ultrastruktur von VKB und Flexorsehne	67
5.2	Transplantatveränderungen ohne Einfluss von PDGF	68
5.3	Transplantatveränderungen unter dem Einfluss von PDGF	74
5.4	Eigene Ergebnisse im Kontext mit weiteren Ergebnissen der Arbeitsgruppe.....	78
5.5	Schlussfolgerungen.....	81
6	Zusammenfassung	84
7	Summary	86
8	Bibliographie	88
9	Anhang	102
9.1	Statistische Daten	102
9.2	Verzeichnis der Abkürzungen	103
9.3	Danksagungen	104
9.4	Lebenslauf	105
9.5	Eigenständigkeitserklärung	106

9 ANHANG

9.1 Statistische Daten

Gruppe	Fibrillen	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
VKB	Anzahl/ μm^2	4	30,646	97,479	55,52021	29,26076
	Durchmesser (nm)	4	94,032	128,871	110,66695	14,35952
	Fläche/ μm^2 (%)	4	23,645	37,468	32,83475	6,26929
Flexorsehne	Anzahl/ μm^2	4	47,066	95,106	71,59479	20,03926
	Durchmesser (nm)	4	80,474	122,565	96,63421	18,10669
	Fläche/ μm^2 (%)	4	60,220	70,615	63,76125	4,68825
3 Wo. Kontr.	Anzahl/ μm^2	6	17,495	33,463	24,03264	7,26824
	Durchmesser (nm)	6	122,451	166,770	144,55246	16,84041
	Fläche/ μm^2 (%)	6	35,300	56,056	48,24933	7,74590
3 Wo. PDGF	Anzahl/ μm^2	6	16,770	40,776	29,43389	8,97932
	Durchmesser (nm)	6	116,266	168,994	139,33258	20,16057
	Fläche/ μm^2 (%)	6	43,561	65,528	54,58933	7,64909
6 Wo. Kontr.	Anzahl/ μm^2	6	8,360	80,671	35,38878	24,70385
	Durchmesser (nm)	6	64,073	199,505	118,72412	50,64100
	Fläche/ μm^2 (%)	6	24,052	56,482	35,92750	11,37472
6 Wo. PDGF	Anzahl/ μm^2	5	18,374	135,913	47,76210	49,81471
	Durchmesser (nm)	5	28,177	147,460	102,03114	44,22967
	Fläche/ μm^2 (%)	5	33,601	51,273	41,34500	6,38310
12 Wo. Kontr.	Anzahl/ μm^2	6	43,090	128,794	77,72865	33,27938
	Durchmesser (nm)	6	50,505	89,380	67,60621	14,04726
	Fläche/ μm^2 (%)	6	31,597	45,029	36,97150	4,63524
12 Wo. PDGF	Anzahl/ μm^2	6	70,396	134,202	115,72461	24,95480
	Durchmesser (nm)	6	45,366	67,052	53,93400	7,24293
	Fläche/ μm^2 (%)	6	22,342	44,411	33,66283	8,32972
24 Wo. Kontr.	Anzahl/ μm^2	5	46,443	144,042	87,10944	41,56194
	Durchmesser (nm)	5	47,460	97,879	68,20436	20,47092
	Fläche/ μm^2 (%)	5	26,255	42,175	34,05540	6,54818
24 Wo. PDGF	Anzahl/ μm^2	5	47,147	125,296	100,61379	30,85245
	Durchmesser (nm)	5	44,595	66,201	53,18367	7,90388
	Fläche/ μm^2 (%)	5	22,825	29,750	27,02400	2,80308

9.2 Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.....	Abbildung
µg.....	Mikrogramm
µm.....	Mikrometer
bFGF.....	basic fibroblast growth factor
C.....	Celsius
ca.....	circa
cm.....	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
dest.....	destillatum
EGF.....	epidermal growth factor
EKG.....	Elektrokardiogramm
FS.....	Flexorsehne
g.....	Gramm
HKB.....	Hinteres Kreuzband
IGF.....	insuline-like growth factor
kD.....	kiloDalton
kg.....	Kilogramm
Lig.....	Ligamentum
M.....	Musculus
mg.....	Milligramm
min.....	Minute
MKB.....	Mediales Kollateralband
mm.....	Millimeter
MRT.....	Magnetresonanztomografie
N.....	Newton
nm.....	Nanometer
o.g.....	oben genannt
OP.....	Operation
OsO ₄	Osmiumtetroxid
PDGF.....	platelet-derived growth factor
post op.....	post operationem
resp.....	respektive
Tab.....	Tabelle
TEM.....	Transmissionselektronenmikroskopie
TGF-.....	transforming growth factor beta
Transpl.-querschn.....	Transplantatquerschnitt
VKB.....	vorderes Kreuzband
Wo.....	Wochen

9.3 Danksagungen

Meiner Frau **Gabriele** gebührt mein grösster Dank für die grosse physische und psychische Unterstützung, uneingeschränkte Rückendeckung und vielen Zugeständnisse in allen Belangen während der gesamten Promotionszeit. Ohne ihre aufbauenden Worte und Hilfe wäre die Erstellung meiner Dissertation ungleich schwerer, vielleicht unmöglich geworden.

Meinen beiden Töchtern **Savannah Dian Lisa Marie Lilly Marlene Theresa** und **Frances Magdalena Jackie Dakota Sarah Joyce Kimberley** danke ich für unzählige Stunden der Geduld und des Wartens auf ihren Dad, in denen ich sie teilweise nur schlafend antraf.

Meinen Eltern, **George A.** und **Waltraud I.** danke ich, dass sie mir die Grundlagen für Durchhaltevermögen und Zielstrebigkeit beibrachten, die eine der Grundvoraussetzungen für das Anfertigen einer Promotionsschrift sind.

Meinem Doktorvater, Herrn Univ.-Prof. Dr. **Volker Bergmann** danke ich für die viele Hilfestellung sowie die grosse Mühe und Geduld bei der Durchsicht und Korrektur meiner Dissertation. Durch Ihn wurde aus einem groben Manuskript eine runde Dissertationsschrift.

Meinem Betreuer, Herrn Priv.-Doz. Dr. **Andreas Weiler** danke ich für die grosse Unterstützung und vielen Ratschläge während der Durchführung meiner Arbeit und Erstellung der Dissertationsschrift.

Den Medizinisch-technischen Assistentinnen, Frau **Verena Funke** und Frau **Heide Irmer** danke ich für die viele, mühevollen Arbeit und Hilfestellung bei der Aufarbeitung der elektronenmikroskopischen Proben und Anfertigung der elektronenmikroskopischen Fotografien.

Herrn Dr. **Gert Krummrey** danke ich für die aufwändige Erstellung des Makros für die digitale Auswertung der elektronenmikroskopischen Aufnahmen und für die gewissenhafte und überaus geduldige Einweisung in die Bedienung des Programmes.

Frau Dr. **Gisela Arndt** danke ich für die freundliche Beratung in allen biometrischen Fragen der Dissertation.

Herrn Dr. **Cornelius Förster** danke ich für das Angebot der Dissertation und die Unterstützung während der experimentellen Phase der Studie.

Meinem Team, **Benjamin Faensen**, **Roman Falk** und **Tobias Jung** danke ich für die viele Unterstützung und auch lustigen Stunden während der experimentellen Phase der Studie.

Allen meinen Freunden, die mich in dieser Zeit unterstützt haben danke ich ebenfalls. Sie haben mich immer wieder bestärkt, wenn ich mal wieder frustriert war und die Lust an der Arbeit verlor. Sie freuten sich wenn es wieder weiter ging.

9.4 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Patrick Hunt
Geb. Dat.: 17.08.1972, Stuttgart-Degerloch

Bildungsweg

1999- 2003: Promotion am Fachbereich Veterinärmedizin, Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin, in Zusammenarbeit mit der Klinik für Unfall- und Wiederherstellungschirurgie der Charité, Campus Virchow Klinikum der Humboldt Universität zu Berlin

2001-2003: Teilzeitstudiengang „Masters of Business Administration“ an der Fachhochschule für Wirtschaft, Berlin und der Ashcroft International Business School, Cambridge, England

2000- 2001: Teilzeitstudiengang „General Management Studies“ an der Fachhochschule für Wirtschaft, Berlin und der Ashcroft International Business School, Cambridge, England

1993- 1999: Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin

1983- 1992: Friedrich-Abel-Gymnasium, Vaihingen/Enz

1979- 1983: Grundschule Vaihingen/Enz- Aurich und -Riet

Berufstätigkeit

Seit 01.01.2001: Anstellung an der Charité, Universitätsmedizin Berlin, Zentrum für Muskuloskeletale Chirurgie, Abteilung Sporttraumatologie und Arthroskopie als Tierarzt und wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Kreuzbandforschung

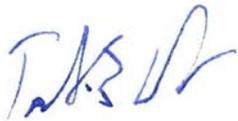
9.5 Eigenständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, Patrick Hunt, an Eides statt, dass ich die vorliegende
Dissertationsschrift mit dem Titel:

„Elektronenmikroskopische Analyse des Remodeling eines freien
Sehnentransplantates nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes unter dem lokalen
Einfluss des Wachstumsfaktors platelet- derived growth factor“
selbständig verfasst habe.

Als Hilfsmittel bei der Durchführung der Studie und Verfassung der Schrift dienten
mir sowohl die darin angegebenen Materialien und Geräte, wie auch die
medizinische Literaturdatenbank, Medline, der U.S. National Library of Medicine.

Berlin, den 01.12.2003



- Patrick Hunt -