

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Material

3.1.1 Tierart und Anzahl

Als Versuchstiere dienten 48 weibliche ausgewachsene, reinrassige Heidschnucken, im Alter von 2 Jahren und mit einem mittleren Gewicht von 34,1 kg (\pm 3,5 kg).

3.1.2 Tierhaltung

Die Tiere wurden von einem Züchter⁴ gekauft und standen bis zur Aufnahme in die Studie auf der Weide.

Um die Tiere an die Laborbedingungen und -umgebung zu gewöhnen wurde jedes Tier drei Tage vor der Operation in den laboreigenen Schafstall gebracht. Nach einem Zeitraum von ca. drei Wochen post op. wurden die Tiere in eine externe Schafhaltung gebracht, wo sie bis zum Zeitpunkt der Einschläferung gehalten wurden. Sie bekamen täglich Heu und Wasser ad libitum. Um Imbalancen des Mineralstoffhaushaltes vorzubeugen wurde wöchentlich Mineralfutter zugefüttert. Die Raumtemperatur betrug konstant 20° C und wurde durch eine Klimaanlage geregelt.

3.1.3 Gruppeneinteilung

Die Tiere wurden in acht Gruppen zu je sechs Tieren nach folgendem Schema eingeteilt: Vier Gruppen (1; 3; 5; 7) dienten als Kontrollgruppen. In die Transplantate dieser Tiere wurden keine Wachstumsfaktoren appliziert. Die anderen vier Gruppen (2; 4; 6; 8) dienten als Versuchsgruppen, in deren Transplantate der Wachstumsfaktor appliziert wurde. Die Tiere der Gruppen 1 und 2 wurden nach drei Wochen, die der Gruppen 3 und 4 nach sechs Wochen, die der Gruppen 5 und 6 nach 12 Wochen und die der Gruppen 7 und 8 nach 24 Wochen getötet (Tab. 1).

Um Proben des intakten VKB, bzw. der nativen Flexorsehne zu erhalten, wurden keine Gruppen gebildet, sondern es wurden von jeweils vier Tieren intraoperativ, bzw. nach der Tötung die entsprechenden Proben entnommen (vgl. Kap. 3.3.1).

⁴ Agrargenossenschaft Beentz, Brandenburg

Tab. 1: Einteilung der Gruppen, postoperative Standzeit und Anzahl der Tiere je Gruppe

Gruppe	Standzeit post op. in Wochen	Kontrolle	PDGF	Anzahl der Tiere
-	-	natives VKB		4 (intra op.)
-	-	native Flexorsehne		4 (post exitum)
1	3	x	-	6
2	3	-	x	6
3	6	x	-	6
4	6	-	x	6
5	12	x	-	6
6	12	-	x	6
7	24	x	-	6
8	24	-	x	6

3.1.4 Transplantatgewebe

Als Transplantat diente autologes Sehngewebe. Dieses wurde aus der Endsehne des linken M. flexor digitalis superficialis eines jeden Versuchstieres entnommen. Das Transplantat hatte eine durchschnittliche Länge von 67,1 mm (\pm 4,5 mm) und einen mittleren Durchmesser von 6 mm (\pm 0,3 mm).

3.1.5 Wachstumsfaktor

Bei dem eingesetzten Wachstumsfaktor handelte es sich um „recombinant human platelet-derived growth factor-BB“ (PDGF-BB)⁵. Dieser wurde auf resorbierbare Polyglactin-Fäden⁶ aufgebracht, von denen je vier in Längsrichtung in das Zentrum des Transplantates eingebracht wurden. Die Beschichtung erfolgte nach einer etablierten Technik (Schmidmaier *et al.*, 2001). Als Trägersubstanz⁷ diente poly-(D-L-Laktid), mit einem Molekulargewicht von 30 kD. Auf jedem der Fäden befanden sich 300 μ g dieser Trägersubstanz, in der wiederum 15 μ g humanes PDGF-BB gelöst war (Abb. 9). Die Gesamtdosis des applizierten Wachstumsfaktors pro verwendetem Transplantat waren somit 60 μ g PDGF-BB.

⁵ R&D Systems GmbH, Borsigstrasse 7, D-65205 Wiesbaden

⁶ 2/0 Vicryl rapid®, Ethicon GmbH & Co. KG, D-22851 Norderstedt

⁷ Resomer® R203, Boehringer Ingelheim, Ingelheim/ Rhein

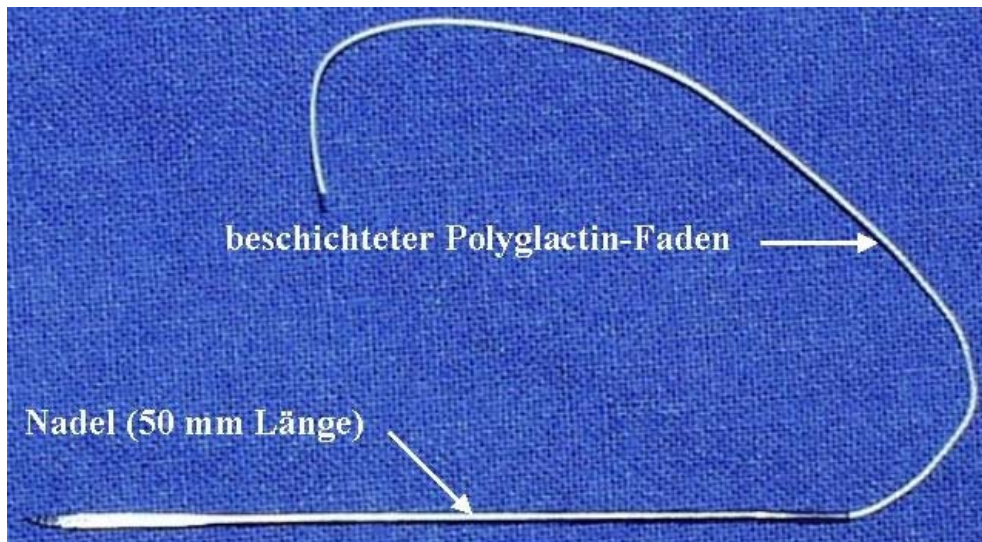


Abb. 9: Beschichteter Polyglactin-Faden

3.2 Methoden

3.2.1 Präoperative Massnahmen

Vor Aufnahme in den Versuch wurde bei jedem Schaf eine tierärztliche Einstellungsuntersuchung vorgenommen, um die Gesundheit der Tiere zu gewährleisten.

Die Anaesthetie erfolgte durch eine intravenöse Gabe von 20mg/kg Thiopental-Natrium⁸. Nach Intubation mit einem Endotrachealtubus⁹ mit einem Durchmesser von 7-8 mm wurde die Narkose mit Hilfe eines Inhalators¹⁰ und einem Isofluran (1,5 %)-Sauerstoff (1/3)-Lachgas (2/3)-Gemisch aufrecht erhalten. Die Überwachung der Narkose erfolgte anhand eines Pulsoximeters, CO₂-Messung in der Ausatemluft und EKG. Bei rechter Seitenlage des Schafes wurde das komplette linke Bein und der Beckenbereich rasiert und mehrmals gründlich gereinigt. Anschliessend wurden alle Klauen verbunden, um jegliche hiervon ausgehende Kontamination des OP-Feldes zu unterbinden. Die zuvor gereinigten Bereiche wurden mit Desinfektionslösung¹¹ desinfiziert. Im Operationssaal wurde das OP-Feld ein weiteres Mal desinfiziert und anschliessend steril abgedeckt.

⁸ Trapanal®, Byk Gulden Lomberg, chem. Fabrik GmbH, Konstanz, Germany.

⁹ Hi-Lo Lanz™, Mallinkrod Medical, Athlone, Ireland

¹⁰ Servo Ventilator 900, Siemens-Elcoma AB, Solna, Schweden

¹¹ Braunoderm®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany

Während der OP wurde zur prophylaktischen Antibiose eine intravenöse Dosis von 2,2 g Amoxicillin und Clavulansäure¹² verabreicht.

3.2.2 Operatives Vorgehen

Die Blutstillung erfolgte durch monopolare Elektrokoagulation, die Spülung der Wunden wurde mit steriler Kochsalzlösung¹³ (0.9%) vorgenommen.

3.2.2.1 Transplantatentnahme

Durch einen 80 mm (\pm 5 mm) kaudolateralen Hautschnitt wurde die Endsehne des M. gastrocnemius dargestellt, die die Endsehne des M. flexor digitalis superficialis spiralförmig umhüllt. Die Sehne des M. gastrocnemius wurde stumpf mit einer Präparierschere entlang des Faserverlaufes gespalten. Die Endsehne des M. flexor digitalis superficialis wurde nun proximal am Beginn des Muskelbauches und distal kurz vor ihrer Insertion am Calcaneus durchtrennt (Abb. 10). Um eine Austrocknung zu verhindern, wurde das entnommene Transplantat in Gaze gewickelt, die mit steriler Kochsalzlösung¹³ (0.9 %) getränkt war.

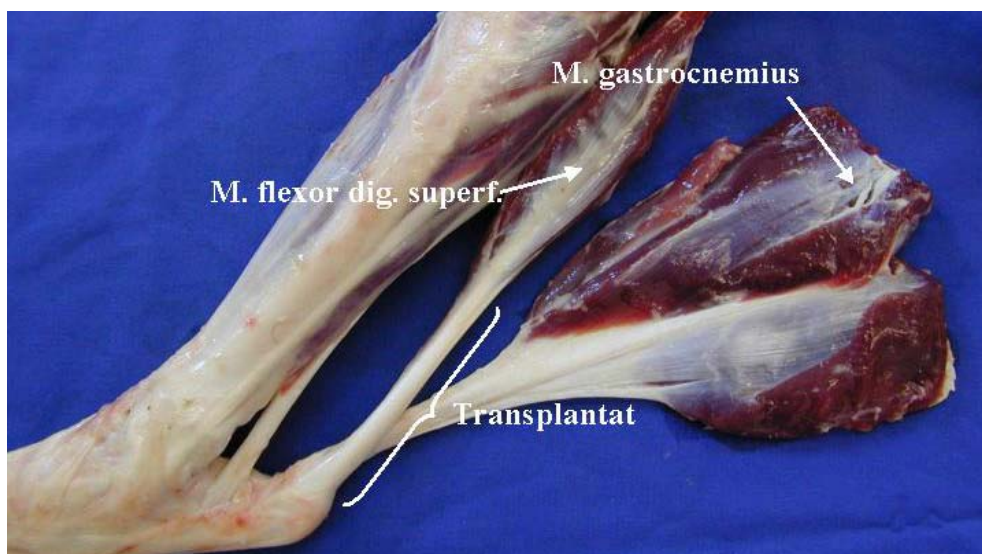


Abb. 10: Transplantat (Endsehne des M. flexor digitalis superficialis)

¹² Augmentan®, SmithKline Beecham Pharma GmbH, München, Germany

¹³ Ecotainer®, NaCl 0,9% B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Germany

3.2.2.2 Präparation

Alle nicht sehnigen Gewebeanteile wurden vom Transplantat entfernt. Anschliessend wurden vier biodegradierbare, der Länge des Transplantates entsprechende Polyglactin-Fäden im Faserverlauf mit Hilfe von geraden Nadeln ins Zentrum des Transplantates eingebracht. Bei den Versuchsgruppen 2, 4, 6 und 8 war jeder dieser Fäden nach der oben beschriebenen Technik mit Wachstumsfaktoren beschichtet (vgl. Kap. 3.1.5).

Um das Transplantat im Knochen zu verankern, wurden an den Enden jeweils vier nicht resorbierbare Haltefäden¹⁴ durch einen sogenannten „Baseball whip stitch“ angebracht (Abb. 11). Diese hatten eine Länge von ca. 25 cm.

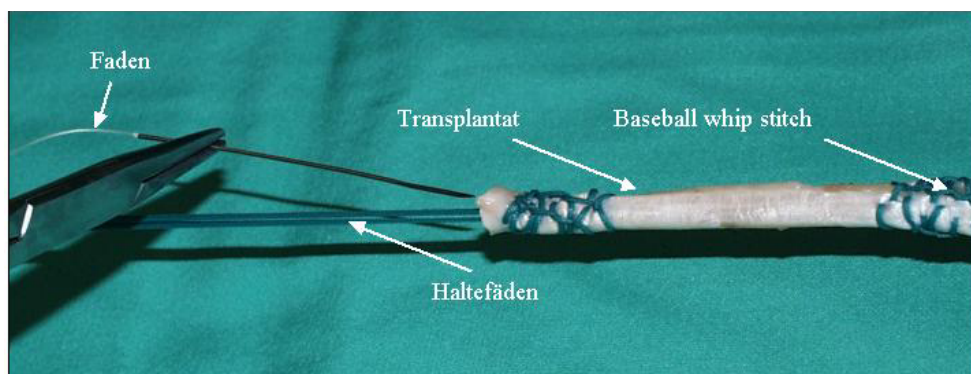


Abb. 11: Applikation des Wachstumsfaktors in das Transplantat

3.2.2.3 Transplantation

Eine offene Operationstechnik verwendend, das Knie in Streckstellung, wurde dieses durch einen 85 mm (\pm 5 mm) langen kraniomedialen Hautschnitt eröffnet.

Die Gelenkkapsel wurde ebenfalls durch einen kraniomedialen Schnitt eröffnet. Die Patella wurde nach lateral luxiert und das Kniegelenk anschliessend maximal gebeugt. Der Hoffa-Fettkörper, der kranial des VKB liegt und dieses bedeckt, wurde in proximo-distaler Richtung durchtrennt. Nun wurde das vordere Kreuzband an seiner tibialen und femoralen Insertionsstelle durchtrennt und entfernt.

Bei maximaler Beugung des Kniegelenks wurde in den Femur ein 4,5 mm grosser Knochentunnel gebohrt. Er führte von innen nach aussen, von der ursprünglichen Ansatzstelle des VKB, lateral auf der 1 Uhr-Position in der Fossa intercondylaris, durch den Kortex direkt proximal über den Epicondylus lateralis (Abb. 12).

¹⁴ 2 Ethibond-Excel® Ethicon GmbH & Co. KG, D-22851 Norderstedt, Germany

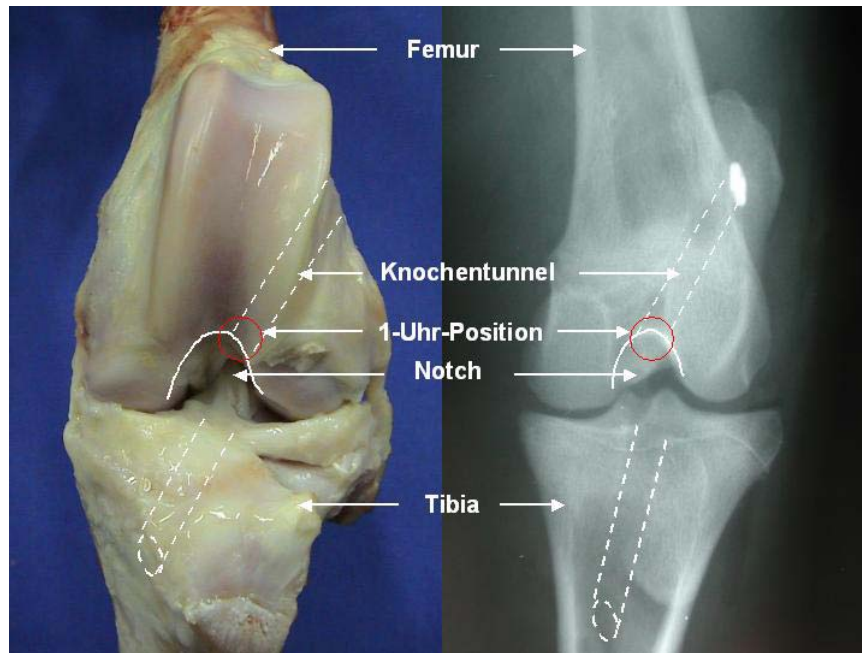


Abb. 12 Schema der Knochentunnel

Der tibiale Knochentunnel wurde entsprechend dem femoralen Tunnel von innen nach aussen ebenfalls an der ursprünglichen Ansatzstelle des VKB medial der Eminentia intercondylaris bis zur Tuberositas tibiae, ca. 5 cm unterhalb des Tibiaplateaus, gebohrt. Mit Dilatatoren verschiedenen Durchmessers wurden beide Tunnel in 1 mm Schritten vorsichtig bis zu einem dem Transplantat entsprechenden Durchmesser aufgeweitet und dabei der Knochen komprimiert. Für die tibiale Fixation wurde in die Tibia 5 mm medial des Tunnelausgangs ein 4,5 mm grosses Loch durch die Kortikalis gebohrt und somit eine Knochenbrücke gebildet, über der die Haltefäden verknotet wurden. Das Transplantat wurde mit Hilfe eines Führungsdrahtes, an dem die Haltefäden angebracht waren, von innen nach aussen in die Knochentunnel eingebracht, so dass sich mindestens 2 cm Transplantatgewebe in jedem Knochentunnel befanden (Abb. 13). Die femorale Fixierung erfolgte durch das Knüpfen der Haltefäden an einen extrakortikal liegenden Endobutton¹⁵.

¹⁵ Acufex®, Smith & Nephew Endoscopy Inc., MA, USA

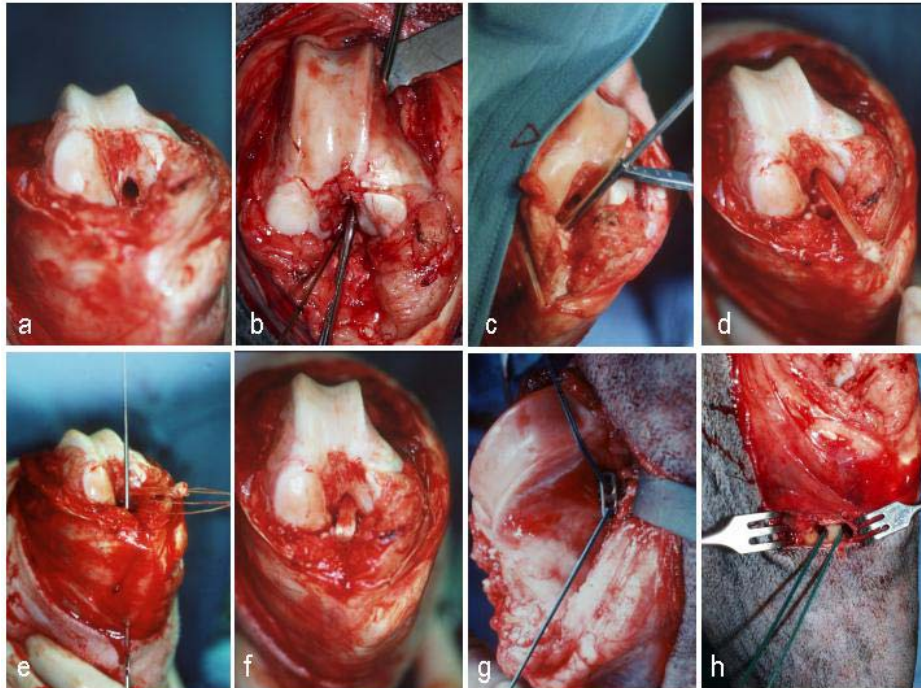


Abb. 13: Transplantation der Flexorsehne; a) femoraler Knochentunnel; b) Verlauf des femoralen Knochentunnels; c) Bohrung des tibialen Knochentunnels; d) Einbringen des Transplantates in den femoralen Knochentunnel; e) Einbringen des Transplantates in den tibialen Knochentunnel; f) Ansicht des eröffneten Gelenkes nach Einbringen des Transplantates; g) femorale Fixation mit Endobutton; h) tibiale Fixation über Knochenbrücke

Das Knie wurde mehrere Male unter manueller Vorspannung des Transplantates mit 90 N mit Hilfe eines Tensiometers¹⁶ vollständig durchbewegt. In 60° Gelenkbeugung wurde das Transplantat unter derselben Vorspannung durch die zuvor gebildete Knochenbrücke tibial verankert. Das Transplantat hatte nun die anatomische Position des nativen VKB angenommen (Abb. 14). Nach der Transplantation wurde das Knie wiederum mehrmals vollständig durchbewegt, um die korrekte Verankerung des Transplantates und die Beweglichkeit des Kniegelenkes zu überprüfen. Anschliessend wurden der Hoffa-Fettkörper, die Gelenkkapsel und die zuvor durchtrennten Muskel- und Sehnenanteile schichtweise wieder mit resorbierbarem Nahtmaterial¹⁷ und die Haut mit nicht-resorbierbarem Nahtmaterial¹⁸ zusammengenäht.

¹⁶ Tensiometer, Sulzer Orthopedics Ltd., CH-6341 Baar, Switzerland

¹⁷ 3/0 Vicryl Rapid®, Ethicon GmbH & Co. KG, D-22851Norderstedt, Germany

¹⁸ Mersilene®, Ethicon GmbH & Co. KG, D-22851Norderstedt, Germany

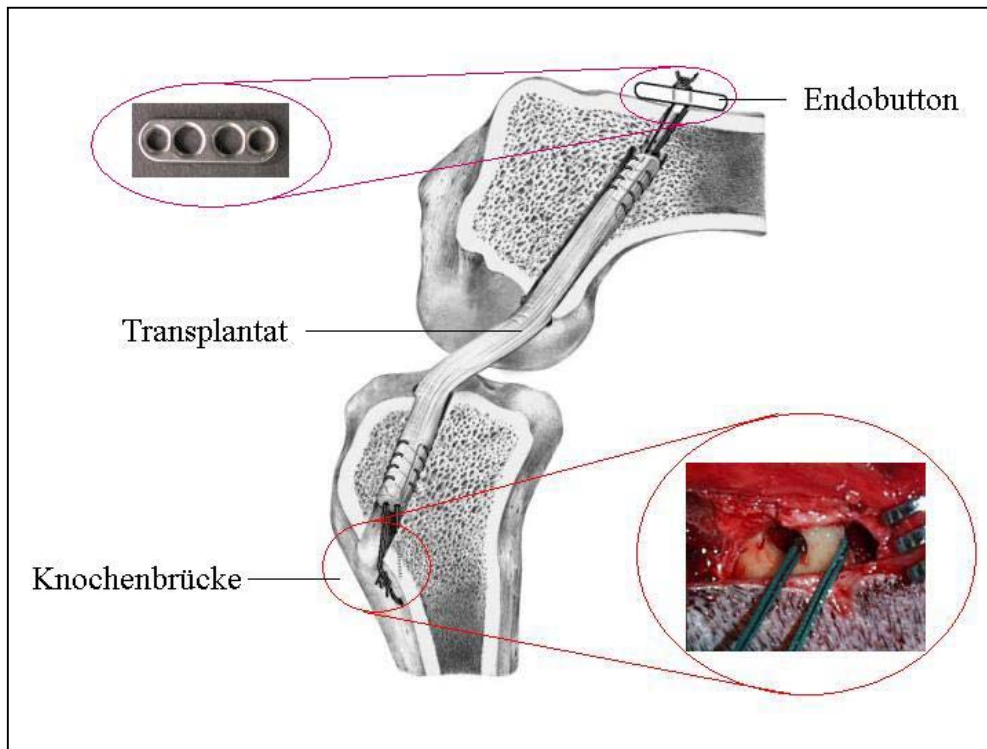


Abb. 14: Schema der OP-Methode

3.2.3 Postoperative Massnahmen

Nachdem das Kniegelenk verbunden worden war, wurden beide Kniegelenke jedes Schafes in kraniokaudalem und mediolateralem Strahlengang unter Verwendung eines mobilen Röntgengerätes¹⁹ und von speziellen Röntgenfilmen²⁰ geröntgt. Anschliessend wurden die Tiere für 12-24 Stunden in eine mobile Einzelaufwachbox verbracht, um übermässige Bewegungen zu verhindern und die Unversehrtheit des Verbandes zu gewährleisten. Eine Immobilisierung des operierten Beines wurde nicht vorgenommen, so dass vom ersten postoperativen Tag an das operierte Bein uneingeschränkt belastet werden konnte. Zur Schmerztherapie wurde über drei bis vier Tage lang zweimal täglich eine Dosis von jeweils 700 mg Metamizol-Natrium²¹ intramuskulär verabreicht. Nach vier Tagen wurde der Verband entfernt, nach 10-14 Tagen wurden die Fäden gezogen.

¹⁹ Siemens Mobilett Plus, Siemens-Elementa AB, Solna, Schweden

²⁰ AGFA Cronex 5, 24x30 cm, AGFA-Gevaert N.V., B-2640 Mortsel, Belgien

²¹ Novaminsulfon®, Ratiopharm GmbH, Ulm, Germany

3.3 Transmissionselektronenmikroskopie

3.3.1 Probenentnahme und –aufarbeitung

Jedes Schaf wurde durch eine intravenöse Gabe von 20 mg/kg Thiopental-Natrium⁸, narkotisiert. Die Euthanasie erfolgte durch eine anschliessende intravenöse Gabe von 60 ml (1 mmol/ml) Kaliumchlorid²².

Nach der Tötung wurden jedem Schaf beide Knie inklusive des sie umgebenden Weichteilmantels entnommen. Hierzu wurden die Tibiae ca. 10 cm distal und die Femora ca. 10 cm proximal des Kniegelenkes abgesetzt. Um ein Austrocknen zu verhindern, wurden sie in mit physiologischer Kochsalzlösung¹³ getränkte Gaze eingewickelt. Nach der biomechanischen Testung jedes operierten Knies wurde ein 1x1x5 mm grosses Stück zentral aus dem mittleren Teil des Transplantates entnommen. Als Kontrollgewebe dienten sowohl ein 1x1x5 mm grosses Stück aus dem Zentrum in der Mitte der nativen Endsehne des rechten M. flexor digitalis superficialis von jeweils vier Tieren, welches direkt nach der Euthanasie entnommen wurde, als auch ein 1x1x5 mm grosses Stück aus dem Zentrum in der Mittel des in der Operation entnommenen linken, nativen VKB von weiteren vier Tieren.

Alle Proben wurden 48 Stunden lang in 5 %-iger Glutaraldehydlösung fixiert.

Um zu gewährleisten, dass wirklich Kollagenfasern entlang des Faserverlaufes geschnitten wurden, wurden die fixierten Proben unter einem Stereomikroskop²³ quer zur sichtbaren Querstreifung der Proben in 4-6 gleich grosse Streifen geschnitten.

Die Proben wurden anschliessend dreimal, jeweils 10 min lang in 0,1 mol/l Natriumkakodylat-Pufferlösung gespült, gefolgt von einer Nachfixierung in 1 %-iger OsO₄-Natriumkakodylat-Pufferlösung über Nacht. Nach dreimaliger, jeweils 10 min dauernder Spülung in Natriumkakodylat-Pufferlösung wurden die Proben in aufsteigender Alkoholreihe entwässert und in Epoxidharz²⁴ eingebettet.

Nach dem Auspolymerisieren der Proben wurde das überschüssige Harz mit einem Trimmgerät²⁵ entfernt.

Nachdem Glasmesser mit einem Knifemaker²⁶ hergestellt worden waren, wurden mit einem Ultramikrotom²⁷ 1 µm dünne Quer- und Längsschnitte (Semidünnschnitte) zur

²² B. Braun Melsungen AG, D-34209 Melsungen, Germany

²³ Leica, Wild MPS 28, Heersburg, Switzerland

²⁴ Agar 100, DDSA, MNA mixture, Agar Scientific Ltd., Essex, UK

²⁵ TM 60, Reichert-Jung, Vienna, Austria

²⁶ Knifemaker 7800, Bromma, Sweden

lichtmikroskopischen Beurteilung hergestellt. Die Semidünnschnitte wurden entsprechend Empfehlungen aus der Literatur auf 76x26 mm Glasobjektträger²⁸ und anschliessend auf eine Wärmeplatte²⁹ mit einer Temperatur von 80° C verbracht und mit einer Färbelösung (1 % Methylenblau in 1 %-iger wässriger Boraxlösung und 1 % Azur II in Aqua dest. im Verhältnis 1:1 gemischt) betropft. Dort wurden sie für ca. 1 min. belassen, um die Schnitte auf den Objektträgern zu fixieren und sie zu färben. Im Anschluss an die Färbung wurde die überschüssige Farbe mit Aqua bidest abgespült und die Schnitte mit Entelan³⁰ und 24x36 mm Deckgläsern³¹ eingedeckt (Richardson, 1960).

Nach Festlegung der Untersuchungsbereiche am gefärbten Semidünnschnitt wurden diese manuell mit einer Rasierklinge aus dem Probenblock herauspräpariert. Von diesen Bereichen wurden mit dem Ultramikrotom²⁷ mit Hilfe eines Diamantmessers³² Schnitte mit einer Stärke von 35 nm angefertigt. Die Schnitte wurden auf beschichtete 3-mm-100-mesh-Nickelgrids³³ gebracht. Die Kontrastierung der einzelnen Schnitte erfolgte schwimmend auf jeweils einem Tropfen Uranylacetat und Bleizitrat.

3.3.2 Elektronenmikroskopische Untersuchung

Die Beurteilung der Probenschnitte wurde unter einem Transmissionselektronenmikroskop³⁴ vorgenommen, welches zuvor kalibriert worden war. Von jeder Probe wurde mindestens eine Übersichtsaufnahme in 2.100-facher Vergrößerung gemacht. Anschliessend wurden von jeder Probe mindestens sechs analoge, randomisierte Aufnahmen in einer 8.000-fachen Vergrößerung angefertigt. Als Filmmaterial dienten spezielle Filme für die Elektronenmikroskopie³⁵ Beim Fotografieren wurde entsprechend der Empfehlungen aus der Literatur (Frank *et al.*, 1989) darauf geachtet, dass zelluläre Komponenten, Gefässanschnitte, Schnittartefakte, Artefakte, die wahrscheinlich durch den Entwässerungsprozess

²⁷ Ultracut, Reichert-Jung, Vienna, Austria

²⁸ Medizinische Diagnostik-Methoden GmbH, Giessen, Deutschland

²⁹ Franz Bergmann KG, Berlin, Deutschland

³⁰ Merck KgaA, Darmstadt, Deutschland

³¹ Gerhard Menzel, Glasbearbeitungswerk GmbH & Co. KG, Braunschweig, Deutschland

³² Diatome MX3474, U.S. Fort Washington, Pa. 19034 USA

³³ 3 mm, Graticules Ltd. Tonebridge, Kent, UK

³⁴ Zeiss EM 10, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany

³⁵ Agfa Scientia EM Film, Agfa Deutschland, Köln

entstanden waren, und schräg angeschnittene Fibrillen wenn möglich ausgeschlossen wurden.

3.3.3 Digitale Auswertung

Jedes Negativ (8,3 cm x 10,2 cm) wurde nach der Entwicklung auf eine Durchlichtbox³⁶ gebracht. Mit einer 3,5 Megapixel Digitalkamera³⁷ wurden von jedem Negativ vier getrennte Regionen in der höchsten Auflösung (1600x1200) abfotografiert. Für die Auswertung der Fibrillen wurden insgesamt von jeder Probe 24 digitale Aufnahmen angefertigt. Jede dieser Aufnahmen umfasste eine Fläche von 10 μm^2 .

Von jedem Negativ wurden zwei digitale Aufnahmen für die Auswertung verwendet. Hierbei wurde wiederum darauf geachtet, dass Artefakte, Unschärfen zelluläre Anteile schräg angeschnittene Fibrillen ausgeschlossen wurden. Von jeder auszuwertenden Aufnahme wurde eine standardisierte Fläche von 2 μm^2 bei einer Endvergrößerung von 80.000 mit dem interaktiven, digitalen Bildanalyseprogramm KS 400, Version 3.0³⁸ ausgewertet.

Um Fehler bei der Berechnung der Fibrillendurchmesser auf Grund schräg angeschnittener Fibrillen zu vermeiden, wurde immer der geringste Durchmesser jeder Fibrille gemessen. Strukturen mit einem Durchmesser von $\leq 20 \mu\text{m}$ wurden von der Berechnung ausgeschlossen, um falsche Ergebnisse auszuschließen, die auf die Messung von Mikrofilamenten und nicht-kollagenen Komponenten zurückzuführen waren. Bei jedem Transplantat der 3- und 6-Wo.-Gruppen wurden mindestens 800 Fibrillen vermessen. Bei den 12- und 24-Wo.-Gruppen wurde auf Grund der Menge an dünnen Fibrillen mindestens 1500 Fibrillen vermessen. Die genauen Zahlen der gemessenen Fibrillen sind unten angegeben (Tab. 2).

Um eine Vergleichbarkeit von einzelnen Parametern mit anderen Studien zu gewährleisten, wurde bei der Einteilung der Durchmesser der Fibrillen auf eine in der Literatur verwendete Klassifizierung zurückgegriffen (Bosch *et al.*, 1995).

³⁶ Kaiser Prolite basic , Kaiser, Germany

³⁷ Nikon CoolPix 990, Nikon Düsseldorf, Germany

³⁸ KS 400 Rel. 3.0, Carl Zeiss Vision GmbH, Hallbergmoos, Germany

Tab. 2: Anzahl der vermessenen Fibrillen pro Gruppe

Gruppe	Standzeit post op. in Wochen	Kontrolle	PDGF	Anzahl der vermessenen Fibrillen
VKB	-	-	-	5.607
Flexorsehne	-	-	-	8.143
1	3	x	-	5.109
2	3	-	x	6.735
3	6	x	-	5.447
4	6	-	x	6.864
5	12	x	-	10.743
6	12	-	x	14.658
7	24	x	-	16.956
8	24	-	x	14.783

Folgende Parameter wurden bestimmt:

- **Fibrillenanzahl** (Es wurde die mittlere Anzahl pro μm^2 berechnet)
- **Fibrillendurchmesser** (Es wurde der mittlere Durchmesser in nm berechnet)
- **Fibrillenfläche** (Es wurde die mittlere prozentuale Fläche pro μm^2 berechnet)
- **Verteilung der Fibrillendurchmesser** (Es wurde die prozentuale Verteilung der verschiedenen Durchmesserklassen berechnet) Für die statistische Auswertung der Verteilung der Fibrillendurchmesser wurden diese entsprechend Beschreibungen aus der Literatur (Bosch *et al.*, 1995) in sechs Klassen eingeteilt. Hierbei wurden Intervalle von 40 nm, ausgehend von einem Fibrillendurchmesser > 20 nm, zu Grunde gelegt. Die Klassen waren: 20- 60 nm, 60-100 nm, 100-140 nm, 140-180 nm, 180-220 nm und > 220 nm.

3.4 Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mit Hilfe eines Statistikprogrammes³⁹ durchgeführt.

Es wurden parallele Tests für die drei verschiedenen Merkmale, Fibrillenanzahl, mittlerer Fibrillendurchmesser, Fibrillenfläche und die Verteilung der Fibrillendurchmesser im Zeitverlauf durchgeführt.

³⁹ SPSS für Windows, Rel. 10.0, Chicago, IL, USA

Verglichen wurden das native VKB mit der nativen Flexorsehne, alle Gruppen mit dem nativen VKB und alle Kontroll- und Versuchsgruppen im Zeitverlauf miteinander. Auf Grund der geringen Tierzahlen wurde nicht von einer Normalverteilung der Werte ausgegangen. Deshalb wurde der Mann-Whitney-U-Test für zwei unabhängige Stichproben durchgeführt um festzustellen, ob signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen und innerhalb der Gruppen über die Zeit bestanden. Die Fehlerwahrscheinlichkeit wurde mit $p < 0,05$ festgelegt. Es handelte sich zwischen den Gruppen um Mehrfachvergleiche, die eine Korrektur nach Bonferroni verlangten, zum Schutz vor einer Überschreitung des festgelegten Signifikanzniveaus von 0,05. Es wurden die Ergebnisse zu vier unterschiedlichen Zeitpunkten post OP untersucht, d.h. vier Tests durchgeführt, weshalb der Quotient $k = 4$ war. Daraus erfolgte eine Fehlerwahrscheinlichkeit zu den einzelnen Zeitpunkten von $0,05/4 = 0,0125$. Alle Daten wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben und in Balkendiagrammen dargestellt. Signifikanzen zwischen den Gruppen wurden nur angegeben, wenn diese zeitlich direkt benachbart waren.

3.5 Weitere Untersuchungen der Arbeitsgruppe

Neben der eigenen Arbeit wurden von weiteren Mitarbeitern der Arbeitsgruppe am gleichen Material zusätzliche Aspekte der Heilung der Transplantate nach der Kreuzbandrekonstruktion untersucht:

- Die Änderung der biomechanischen Eigenschaften des VKB, wie der sogenannten „vorderen Schublade“, der Querschnittsfläche des Transplantates, der Versagenskraft (Kraft, bei der ein Band seine mikroskopische und makroskopische Kontinuität verliert), der Spannung (Kraft/Flächeneinheit, der das Transplantat beim Zerreißungstest widerstehen kann) und der Steifigkeit (Kraft, die nötig ist um das Band 1mm zu dehnen).
- Lichtmikroskopische Veränderungen bei der Heilung des VKB, besonders die Zelldichte, die Länge der Sinuswellen im Transplantat, des sogenannten „Crimp“, der Vaskularität und der ossären Integration des Bandes nach der Rekonstruktion, die sogenannte Sehnen-Knochen-Heilung.

Ergebnisse aus diesen Untersuchungen werden teilweise in der Diskussion herangezogen.