

## **2. Literaturteil**

### **2.1. Transplantattypen**

Zum Ersatz des vorderen Kreuzbandes stehen verschiedene Transplantattypen zu Verfügung. Eine Einteilung der Transplantate kann zum einen aufgrund ihrer Herkunft erfolgen, wobei autologe (Autograft), allogene (Allograft) und bisher selten verwendete xenogene (Xenograft), also artfremde, Transplantate unterschieden werden. Autologe Transplantate stellen heute den „Golden Standard,, dar. Sie stammen vom Patienten selbst und werden ihm direkt vor der Transplantation entnommen. Als Spendermaterialien stehen hierbei verschiedene Sehnen zur Verfügung, wobei man freie Sehnentransplantate, wie die Hamstring- oder Quadricepssehne und Knochen-Sehnentransplantate mit erhaltener knöcherner Insertion, wie zum Beispiel die Patellarsehne, unterscheidet.

Ein Nachteil bei der Verwendung autologer Transplantate stellt die Entnahmemorbidity dar. So zeigen einige Studien, dass es durch die Entnahme von Spendermaterial zu erheblichen Komplikationen wie Schmerzen an der Entnahmestelle (Rosenberg et al., 1992; Breiffuss et al., 1996; Kartus et al., 1997; Bartlett et al., 2001) und Schwächung betroffener Muskelgruppen (Rosenberg et al., 1992; Yasuda et al., 1992; Yasuda et al., 1995; Simonian und Larson, 2001) kommen kann. Im Falle der Verwendung der Patellarsehne, die das zurzeit am häufigsten verwendete autologe Transplantat darstellt, sind mit der Entnahme assoziierte Komplikationen in bis zu 40% der Fälle beobachtet worden. Dies sind eine Beeinträchtigung des Streckapparates mit der Folge eines persistierenden Streckdefizits, patellofemorale Schmerzen, die Fraktur der Patella als seltene Komplikation (Christen und Jakob, 1992) und die Ausbildung des sog. infrapatellären Kontraktursyndroms (Weiler et al., 2000).

Weitere Nachteile sind in längeren Operations- und damit Narkosezeiten zu sehen, die zum einen das Narkoserisiko und zum anderen die Operationskosten erhöhen. Außerdem stellen kosmetische Beeinträchtigungen durch zusätzliche Narbenbildung, sowie die begrenzte Möglichkeit der Dimensionierung des Transplantates und damit eine Limitierung der Anpassungsmöglichkeit an anatomische Gegebenheiten beim Patienten limitierende Faktoren dar.

Bei multiplen Bandverletzungen und vor allem Revisionseingriffen stehen autologe Transplantate meist nicht ausreichend zur Verfügung. Hier stellen allogene Transplantate, die von einem anderen Menschen als Spender stammen, oft die einzige Möglichkeit zum

Kreuzbandersatz dar. Ihr Einsatz ermöglicht eine Senkung von Operations- und Narkosezeiten und vor allem einen Wegfall der erwähnten Entnahmemorbidity. Daraus ergibt sich die Möglichkeit einer früheren Belastung und Bewegungsmöglichkeit nach der Operation und eventuell eine schnellere Rückkehr zur vollen Belastbarkeit. Diese Vorteile haben auch zu einem zunehmenden Einsatz allogener Transplantate in der primären Kreuzbandchirurgie geführt.

Nachteile bei der Verwendung allogener Transplantate sind vor allem die Gefahr der Übertragung von Infektionskrankheiten wie Hepatitis C und HIV, sowie die Möglichkeit von Abstoßungs- und Immunreaktion des Empfängers. Mittel der Wahl zur Unterdrückung antigener Eigenschaften von Zelloberflächen des Spendermaterials und der partiellen Abtötung vorhandener Keime und Viren stellt zur Zeit das Frieren der Bänder auf Temperaturen von minus 70- 80°C dar. Dies zerstört die antigenwirksamen Oberflächenstrukturen der Zellen, ohne die mechanischen Eigenschaften des Bandes negativ zu beeinflussen (Barad, 1982; Jackson et al., 1991). Nachteilig bei dieser Methodik ist, dass hierbei keine Eliminierung zum Beispiel von HIV- oder Hepatitis-Viren erfolgt (Buck et al., 1990), was die Bedeutung von gründlichen viralen präoperativen Screenings und eine überlegte Spenderauswahl erklärt. Außerdem ist zumindest in Deutschland aufgrund der geringen Spendebereitschaft der allgemeinen Bevölkerung das Spendermaterial begrenzt und deckt bei Weitem nicht den Bedarf. Stiftungen (Deutsche Institut für Zell- und Gewebetransplantation) und staatliche Organisationen (Deutsche Stiftung für Organtransplantation DSO) ermöglichen in begrenztem Umfang den Erwerb allogener Transplantate, der jedoch recht kostenintensiv ist und strengen Auflagen hinsichtlich der Transplantataufarbeitung unterliegt. Auch der Bezug von Gewebe aus dem Ausland ist nur sehr eingeschränkt möglich. So bleibt der Einsatz allogener Sehnentransplantate zum Ersatz des VKB in Deutschland momentan noch primär spezialisierten Zentren mit eigener Gewebekbank vorbehalten, wohingegen in Amerika der Einsatz allogener Spendermaterialien zum Ersatz des vorderen Kreuzbandes bereits zur Routine geworden ist und in den letzten 5 Jahren eine Zunahme von 30% erfahren hat.

## 2.2. Limitierung vorhandener Studien

Ein grundsätzliches Problem bei der Verwendung von allogenen Sehnen-Transplantaten stellt die nicht eindeutig geklärte Fragestellung zu evtl. bestehenden Unterschieden bezüglich des Bandumbaus und der Bandeinheilung zwischen autologen und allogenen Transplantaten dar. Betrachtet man die Ergebnisse vorhandener klinischer und tierexperimenteller Studien, so wird man mit sehr unterschiedlichen Ergebnissen konfrontiert. So kommen sowohl tierexperimentelle als auch klinische Studien zum Teil zu sehr guten biomechanischen und klinischen Ergebnissen bei der Verwendung allogener Transplantate. Sie konnten vergleichbare Remodellingprozesse bei beiden Transplantattypen nachweisen. (Shino et al., 1984; Arnoczky et al., 1986; Drez et al., 1991b; Fromm et al., 1996; Shelton et al., 1997; Kleipool et al., 1998; Vorlat et al., 1999). Andere Studien hingegen beobachteten bei der Verwendung allogener Transplantate einen verzögert ablaufenden Bandumbauprozess, eine verzögerte biologische Inkorporation sowie eine unvollständige und zeitlich verzögert ablaufende Revaskularisierung. Auch ein erhöhtes Auftreten von Transplantatversagern wurde bei der Verwendung allogener Transplantate immer wieder beschrieben (Jackson et al., 1987; Jackson et al., 1993; Victor et al., 1997; Gorschewsky et al., 2002; Siebold et al., 2002a; Gorschewsky et al., 2005b; Gorschewsky et al., 2005a).

Vergleicht man die verschiedenen Studien, so sind einige Punkte zu beachten :

Zum einen ist festzustellen, dass sich fast alle histologischen Studien zum Remodellingprozess allogener Kreuzbandtransplantate mit der Patellarsehne, also einem Knochen-Sehnen-Transplantat, beschäftigt haben. Histologische Studien mit Untersuchung der Revaskularisierung freier Sehnen-Transplantate existieren kaum, wobei die Bedeutung freier Sehnen-Transplantate im Vergleich zu Knochen-Sehnen-Transplantaten erheblich zugenommen hat. Besonders im Bereich der allogenen Transplantate stehen häufig nur freie Sehnen-Transplantate zur Verfügung. Bei der Verwendung autologer Transplantate haben freie Sehnen den Vorteil einer geringeren Entnahmemorbidität. Frühere Nachteile im Sinne erhöhter Transplantatbewegungen aufgrund mangelhafter Fixierung der Transplantate treten aufgrund verbesserter Verankerungstechniken immer mehr in den Hintergrund (Weiler et al., 2002d). Da sich das Einheilverfahren von Knochen- Sehnen-Transplantaten von dem freier Sehnen-Transplantate deutlich unterscheidet (Park et al., 2001), ist zu vermuten, dass sich hieraus auch abweichende Vorgänge in Bezug auf das intraligamentäre Remodelling ergeben. Zum anderen ist zu beachten, dass allogene Transplantate im Rahmen der Infektprävention zunehmend einem Sterilisationsverfahren wie zum Beispiel einer Bestrahlung mit Gammastrahlen oder der Behandlung mit Ethylenoxid unterzogen werden. Sämtliche aktuelle

Verfahren zeigen jedoch nachteilige Auswirkungen auf die mechanischen und biologischen Eigenschaften der Transplantate. So konnten verschiedene Studien zeigen, dass die Bestrahlung die mechanischen Eigenschaften der Transplantate signifikant verringert (Conway et al., 1991; Noyes und Barber-Westin, 2000). Aufgrund der möglichen Nachteile der Sterilisationsverfahren, werden aktuell in den USA nicht-sterilisierte, tiefgefrorene Allografts als Gold-Standard verwendet. Diese repräsentieren hinsichtlich der Remodellingprozesse das optimale Transplantat, das weltweit auch am häufigsten eingesetzt wird.

In den meisten aktuellen tierexperimentellen Arbeiten wird mit nicht-sterilisierten, tiefgefrorenen Sehnen gearbeitet, wohingegen in vielen klinischen humanmedizinischen Studien und besonders in älteren Studien durch Bestrahlung behandelte Transplantate untersucht wurden. Diesen Faktor gilt es zu beachten, wenn man die verschiedenen Studien untereinander vergleicht.

Ein weiteres Problem der Vergleichbarkeit aktueller Studien sind die erheblichen Unterschiede in der Methodik der Untersuchungen. Bezüglich der Revaskularisierung, die die Grundvoraussetzung für ablaufende Remodellingprozesse und das Langzeitüberleben des Transplantats darstellt, wurde in fast allen Studien mit Methoden gearbeitet, die eine Darstellung besonders der frühen Phase der Revaskularisierung auf kapillärer Ebene nicht ermöglichen, was Unterhauser et al. (Unterhauser et al., 2003) zeigen konnten. Da es aber schon in dieser frühen Einheilphase zu erheblichen Umbauvorgängen kommt, ist besonders diese Phase der Revaskularisierung von großer Bedeutung. Außerdem erfolgten bisherige vergleichenden Untersuchungen der Revaskularisierung autologer und allogener Transplantate fast ausschließlich deskriptiv.

Der Remodellingprozeß freier allogener Sehnentransplantate als primärer Kreuzbandersatz sowie der zeitliche Verlauf der Revaskularisierung auf kapillärer Ebene sind bis heute ungeklärt. Die Bedeutung freier allogener Sehnentransplantate zum Ersatz des vorderen Kreuzbandes nimmt sowohl bei Revisionseingriffen und multiplen Bandverletzungen als auch zur Standardversorgung von Kreuzbandrupturen aufgrund der genannten Vorteile aber stetig zu. Dabei ist der zeitliche Verlauf des Remodellings klinisch für die Erstellung von Rehabilitationsprotokollen von größter Bedeutung, da eine aufgrund der fehlenden Entnahmemorbidität propagierte frühere Rückkehr zum ursprünglichen Aktivitätsniveau bei möglicherweise verzögertem Remodeling der Allografts zum Transplantatversagen führen könnte.

### **2.3. Anatomie des Kniegelenkes beim Menschen**

Das Kniegelenk, eine Kombination aus einem Rad- und Scharniergelenk, stellt das größte Gelenk des Körpers beim Menschen dar und erlaubt eine Beweglichkeit in 6 Freiheitsgraden (Streckung/ Beugung, Innen-/ Außenrotation, Abduktion/ Adduktion). An seinem Aufbau sind drei Knochen beteiligt, die über 6 Gelenkflächen miteinander kommunizieren. Dabei kommuniziert der distale Femur über die Gelenkflächen am Condylus lateralis et medialis, die walzenförmig gestaltet sind, mit den flach gestalteten Gelenkflächen des proximalen Tibiaendes sowie über die Facies patellaris mit der Patella. Zwischen den beiden spiralig gekrümmten Condylen am distalen Femur befindet sich die Fossa intercondylaris, die die Kreuzbänder aufnimmt. Das vordere Kreuzband verläuft dabei in der Fossa intercondylaris von hinten lateral oben zur Area intercondylaris anterior zwischen den Tibiacondylen. Das hintere Kreuzband verläuft rechtwinklig dazu von vorn medial oben nach unten hinten lateral zur Area intercondylaris posterior. Die Kollateralbänder entspringen im Krümmungsmittelpunkt der Kondylen am Epicondylus med. und lat. und verlaufen zur Medialseite der Tibia (Lig. coll. tibiale= Innenband) bzw. zum Fibulakopf (Lig. coll. fibulare= Außenband). Die bezeichneten Bänder dienen der Stabilisation des Kniegelenkes. Dabei verhindern die Kreuzbänder hauptsächlich eine Verschiebung von Femur und Tibia gegeneinander nach vorne bzw. hinten (vordere und hintere Schublade), die Kollateralbänder schützen vor allem vor zu starken seitlichen d.h. lateralen und medialen Bewegungen. Eine Besonderheit des Kniegelenkes stellen die Menisken dar. Sie dienen als bewegliche Gelenkpfannen zwischen Femur und Tibia und ermöglichen so Rotationsbewegungen. Zusammenfassend sind also folgende Bewegungen des Kniegelenkes möglich: Extension und Flexion, Außen- und Innenrotation, sowie Ab- und Adduktion, wobei bei einem gesunden Erwachsenen Extensions- und Flexionswerte von  $0^{\circ}$ - $0^{\circ}$ - $150^{\circ}$  und Außen- Innenrotationswerte bei rechtwinkliger Beugung von  $30^{\circ}$ - $0^{\circ}$ - $10^{\circ}$  möglich sind.

### **2.4. Anatomie und Funktion des vorderen Kreuzbandes beim Menschen**

#### *2.4.1. Anatomie*

Das vordere Kreuzband entspringt fächerförmig in der Fossa intercondylaris an der posterioren Seite der Innenfläche des lateralen Femurcondylus. Die Beschreibung der Ursprungsfläche variiert von oval, halbmondförmig (Odensten und Gillquist, 1985), bis zu

einer kreisförmigen Gestalt mit einem Längsdurchmesser von ca. 18mm und einem Querdurchmesser von durchschnittlich 11mm. Der Winkel zwischen Femurlängsachse und Kreuzband beträgt in 90° Beugung ca. 28°. In Streckstellung liegt das VKB dem runden Dach und der lateralen Wand der Fossa intercondylaris an und windet sich distal bogenförmig um den Knorpel am vorderen Rand der Fossa intercondylaris (Petersen und Tillmann, 2002). Die Längsachse der femoralen Ansatzzone ist leicht vertikal geneigt, und die posteriore konvexe Seite verläuft parallel zum posterioren knöchernen Ursprung des lateralen Femurcondylus. Tibial setzt das vordere Kreuzband im mittleren Anteil der Eminentia intercondylaris zwischen dem Tuberculum mediale und laterale an, wobei einige Fasern zum Ansatzpunkt des lateralen Meniscus ausstrahlen. Die tibiale Ansatzfläche des VKB's stellt sich mit einer Ausdehnung in der Saggitalebene von ca. 17mm und in der Transversalebene von ca. 11mm weiter und ausgedehnter als die femorale Ansatzfläche dar (Arnoczky, 1983), ihre Form ist jedoch variabel. Während seines diagonalen Verlaufes im Bereich der Fossa intercondylaris von der lateralseitigen Femurcondyle nach ventral und distal zum medialeseitigen Tibiaplateau dreht sich das VKB in einer leichten Außenspirale um sich selbst. Während Odensten et al. 1985 zwar eine funktionelle, aber keine makroskopisch oder mikroskopisch erkennbare Unterteilung des VKB'S finden konnten, wurden in anderen Studien verschiedene Bündelstrukturen beschrieben, nämlich ein anteriomediales Bündel (AMB) sowie ein posteriolaterales Bündel (PLB) (Girgis et al., 1975; Arnoczky, 1983; Dodds und Arnoczky, 1994). Bei gestrecktem Knie ist das PLB gespannt, wohingegen das AMB sich schlaff darstellt. Wird das Kniegelenk gebeugt, kommt der femorale Ansatzpunkt des VKB in eine mehr horizontale Position (Arnoczky, 1983) und die AMB Fasern, die näher am Kniedrehpunkt entspringen, werden gespannt, wohingegen die PLB Fasern ihre Spannung verlieren. Insgesamt sind die AMB Fasern über einen größeren Bewegungssektor gespannt als die PLB Fasern. Die AMB Fasern bezeichnet man daher auch als Führungsbündel (Petersen und Tillmann, 2002), die PLB Fasern werden auch als Sicherungsfasern bezeichnet. Das bedeutet, dass in jeder Gelenkstellung Anteile des VKB's angespannt sind. Beide Bündel stellen eine funktionelle Einheit dar und sind nicht als eigenständige Strukturen zu betrachten. Die durchschnittliche Längenangaben für das VKB reichen von 31+/- 3mm und 36+/- 6mm. Die längsovale Querschnittsfläche ist im mittleren Drittel mit ca. 36 (Frauen) -44mm<sup>2</sup> (Männer) am kleinsten, sie nimmt in Richtung der Insertionszonen bis zu 113mm<sup>2</sup> (femoral) bzw. 136mm<sup>2</sup> (tibial) zu (Petersen und Tillmann, 2002). Beide Kreuzbänder verlaufen innerhalb eines fettreichen Bindegewebes. Das VKB wird im vorderen und seitlichen Bereich

von der synovialen Scheide der Gelenkkapsel umhüllt, es liegt also strenggenommen außerhalb der Gelenkhöhle aber innerhalb der fibrösen Gelenkkapsel.

#### *2.4.2. Funktion*

Die Kreuzbänder wirken bei der passiven und aktiven Stabilisierung des Kniegelenkes mit. Dabei dienen sie als Hauptstabilisatoren in der Saggitalebene und als sekundäre Stabilisatoren in der Frontalebene (Petersen und Tillmann, 1999). Die Hauptaufgabe des vorderen Kreuzbandes ist die Sicherung der anterioren Translationsbewegung der Tibia gegen den Femur. Eine weitere Aufgabe der Kreuzbänder ist ein Beitrag zur Rotationssicherung, hierbei dienen die Kreuzbänder jedoch nur als sekundäre Stabilisatoren. Die Rolle des VKB's ist hierbei umstritten. So fanden Peterson et al. 2002, dass das VKB die Innenrotation des Unterschenkels begrenzt (Petersen und Tillmann, 2002), Girgis et al. hingegen beschreiben, dass das VKB bei gebeugtem Kniegelenk ein Stabilisator gegen Außenrotation ist, jedoch nicht die Innenrotation begrenzt (Girgis et al., 1975). In gestrecktem Zustand begrenzt das VKB sowohl die Innen- als auch die Außenrotation. An der Sicherung des Kniegelenkes gegen varische und valgische Kräfte sind die Kreuzbänder zu 15% (varus) und 22% (valgus) beteiligt (Petersen und Tillmann, 2002). Eine weitere Rolle spielen die Kreuzbänder bei der aktiven Stabilisierung des Kniegelenkes. Dies ist durch Mechanorezeptoren erklärbar, die entlang des VKB lokalisiert sind. Die Mechanorezeptoren beteiligen sich an der Propriozeption im VKB, wobei sie als eine Art Sensor fungieren, der die Spannung des VKB und damit die Gelenkstellung kontrolliert. Über Reflexbögen kann der Tonus der Flexoren und Extensoren des Kniegelenkes reguliert werden, so dass eine exzessive Auslenkung des Kniegelenkes vermieden werden kann (Petersen und Tillmann, 2002)

### **2.5. Histologischer Aufbau des vorderen Kreuzbandes des Menschen**

Das vordere Kreuzband weist in seinem Aufbau einige Besonderheiten, die vom üblichen Aufbau beschriebener Bandstrukturen abweichen, auf. Es besteht zum Hauptteil aus straffem Bindegewebe Typ I Kollagen, das von lockerem, retikulärem Bindegewebe vom Typ III Kollagen zu Bündeln zusammengefasst wird (Dodds und Arnoczky, 1994). Betrachtet man den Feinaufbau, so bilden nicht parallel angeordnete, sich kreuzende 150-250 Nanometer dicke Mikrofibrillen die Grundlage. Diese, sich parallel zur Längsachse des Bandes

ausrichtenden Fasern, lagern sich zu 1-20 Mikrometer dicken Fibrillen zusammen, die wiederum subfascikuläre Einheiten von 100-250 Mikrometer Durchmesser bilden. Drei bis 20 der subfascikulären Einheiten werden nun von lockerem Bindegewebe als Endotendinium zu Fascikeln mit einem Durchmesser von bis zu mehreren Millimetern zusammengefasst (Amiel et al., 1984; Yahia, 1988; Amiel, 1990; Clark und Sidles, 1990), die dann vom Epitendinium umhüllt werden. Das gesamte Kreuzband wird nun vom Paratendinium umhüllt (Arnoczky, 1983). Dieser Aufbau kombiniert die hohe Zugfestigkeit des Kollagen I mit den viskoelastischen Eigenschaften des Kollagen III und ermöglicht so eine unterschiedliche Rekrutierung der Faserbündel in verschiedenen Stellungen des Gelenks (Petersen und Tillmann, 2002). Zwischen den Kollagenfaserbündeln liegen einzelne Fibroblasten, die kurze, stabförmige Kerne aufweisen (Goradia et al., 2000). Sie stellen den hauptsächlich zellulären Anteil des Bandes dar. Ihre Form kann je nach Aktivitätszustand variieren von spindelförmig (Fibrozyten, wenig aktiv) bis rundzellig-ovoid (Fibroblasten, hohe Aktivität), und sie regulieren den Auf- und Abbau der Extrazellulärsubstanzen. Neben den Fibroblasten als ortsständige Zellen kann man im Bandgewebe verschiedene freie Zellen wie Histozyten, Mastzellen, Plasmazellen und Granulozyten in wechselnder Anzahl finden. Die Kollagenfasern bilden zusammen mit Wasser und verschiedenen Substanzen die Extrazellulärmatrix. Diese bedingt durch ihre Zusammensetzung die mechanischen Eigenschaften des Bandes. Die Extrazellulärmatrix des vorderen Kreuzbandes besteht zu 75% der Trockenmasse aus Kollagen, wobei Kollagen I mit 90% neben Kollagen II und III den Hauptanteil ausmacht. Ein weiterer Bestandteil ist Elastin, das für die elastischen Eigenschaften des Bandes wichtig ist. Proteoglykane spielen eine wichtige Rolle bei der Organisation der Extrazellulärmatrix und der Regulation des Wasserbestandes. Sie sind durch ihre starke Hydrophilie ausschlaggebend für die Wasserbindung im Gewebe und wichtig für die Wundheilung. Sie machen ca. 1% der Trockenmasse aus (Dodds und Arnoczky, 1994). Die Glykoproteine der Extrazellulärmatrix dienen unter anderem der Zellhaftung. Sie sind durch Adhäsionsrezeptoren, den Integrinen, mit der Plasmamembran verbunden und vermitteln die Interaktion zwischen den Zellen und ihrer umgebenden Matrix. Durch die Integrine können Signale in die Zellen übertragen werden, und die Extrazellulärmatrix kann so Einfluss auf Vorgänge wie Proliferation und Differenzierung nehmen. Beispiele für Glykoproteine im Kreuzband sind das Fibronectin und Laminin. Wasser, das mit 60% der Trockenmasse den zweitgrößten Teil der Extrazellulärmatrix ausmacht, spielt eine Rolle für die Gleitmechanismen der Kollagenfasern und die viskösen Eigenschaften des Bandes (Dodds und Arnoczky, 1994)

Im vorderen Anteil des distalen Drittels, wo das Band dem vorderen Rand der Fossa intercondylaris anliegt und es zu erhöhten Druck- und Schubbelastungen kommt, weist die Bandstruktur einige Besonderheiten auf. Der synoviale Überzug an der der Fossa intercondylaris zugewandten Seite fehlt in diesem Bereich, und der Aufbau des Bandes ähnelt dem von Faserknorpel. Dort liegen ovale Chondrozyten in Reihe zwischen den parallel angeordneten straffen Kollagen I Fasern, umgeben von einer 1 Mikrometer dicken perizellulären Matrix, die über kleine Fasern mit der Oberfläche der Knorpelzellen verbunden scheint. Die Zellen verfügen über ein deutliches rauhes endoplasmatisches Retikulum, und in der perizellulären Matrix lassen sich kollagen II positive Fasern nachweisen. Auch die tibiale und femorale Insertionsstelle weist einen Faserknorpelaufbau auf, es liegen chondrale apophysäre Bandansätze vor (Petersen und Tillmann, 2002). Zum Knochen hin ist der Faserknorpel mineralisiert. Es liegt ein hoher Gehalt an stark sulfatierten, also sauren, Glukosaminoglykanen vor, die eine hohe Wasserbindungsfähigkeit und eine erhöhte Festigkeit ermöglichen. Der Anteil nicht sulfatierter Proteoglykane ist in diesem Bereich stark reduziert. Im Bereich der chondralen Insertionsstellen kommt wiederum Kollagen Typ II vor, hier aber auch außerhalb der perizellulären Matrix (Petersen und Tillmann, 1999).

## **2.6. Blutversorgung des vorderen Kreuzbandes**

Die Blutgefäßversorgung des vorderen Kreuzbandes erfolgt proximal über Endäste der A. genus media, distal über Endäste der Aa. genus inferiores medialis und lateralis. Beide Gefäßstämme bilden im Bereich der synovialen Scheide, die die Kreuzbänder umhüllt, periligamentäre baumartige Gefäßnetze, von denen dann kleinste Gefäße horizontal in das Band einwachsen, und ein longitudinal orientiertes intraligamentäres Gefäßnetz bilden (Petersen und Tillmann, 1999). Im Bereich der Faserknorpelbildungen im Zentrum des Bandes und an den chondral apophysären Insertionszonen finden sich avaskuläre Zonen, die Gefäßverteilung im Band ist also nicht homogen. Die genannten Gefäße schicken auch Äste zur distalen femoralen Epiphyse sowie zur proximalen tibialen Epiphyse, diese Gefäßäste haben jedoch keinen Anteil an der intraligamentären Gefäßversorgung (Dodds und Arnoczky, 1994).

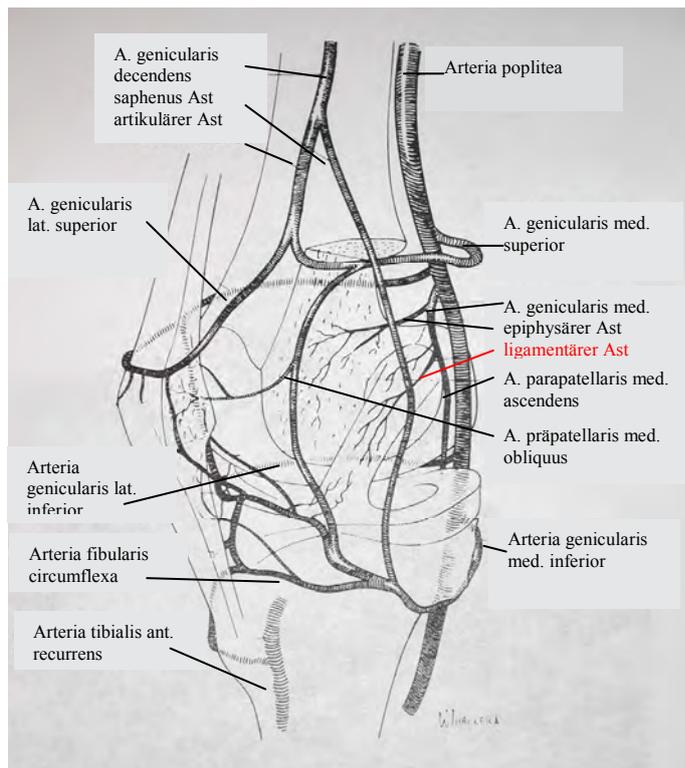


Abb. 1: Schematische Darstellung der Gefäßversorgung des VKB beim Menschen (Unterhauser, 2004)

## 2.7. Innervation des vorderen Kreuzbandes

Das vordere Kreuzband ist durchzogen von die Blutgefäße begleitenden vasomotorischen Nervenfasern des Nervus tibialis und diversen frei im Band vorkommenden Mechanorezeptoren. So wurden sowohl im Verankerungsbereich an Femur und Tibia als auch im subsynovialen Bindegewebe Vater- Pacini- Körperchen, Ruffini- Körperchen und freie Nervenendigungen gefunden (Petersen und Tillmann, 2002). Diese Strukturen machen ca. 1% des Volumens des vorderen Kreuzbandes aus (Dodds und Arnoczky, 1994). Diese Beobachtungen stützen die Theorie, dass das vordere Kreuzband eine wichtige Rolle für die aktive Stabilisierung des Kniegelenkes spielt. Dabei dienen die Propriozeptoren im vorderen Kreuzband als Sensoren für die Gelenkstellung und beeinflussen so die Aktivität der das Kniegelenk stabilisierenden Muskulatur.

## 2.8. Geschichte des Kreuzbandersatzes

Die Geschichte der Kreuzbandchirurgie ist im Wesentlichen durch die Suche nach dem idealen Transplantat zum Ersatz des VKB gekennzeichnet.

Eine erste Erwähnung der Kreuzbänder findet man auf einer ägyptischen Papyrusrolle datiert um ca. 3000 v.Chr. Hippocrates (460-370 v.Chr.) entdeckte schon, dass eine Verletzung der Bänder zu einer Subluxation des Gelenkes führt. Claudius Galen von Pergamon (129-199 v. Chr.) letztendlich gab den Kreuzbändern“ Ligamenta genu cruciata“ ihren Namen und erkannte ihre stabilisierende Funktion im Kniegelenk.

In neuerer Zeit beschäftigten sich die Gebrüder Weber aus Göttingen 1836 mit dem Kniegelenk und beschrieben eine abnormale Beweglichkeit des Gelenkes nach Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes (Weber, 1836). 1938 trug Palmer mit seiner Habilitationsschrift „Die Verletzungen der Bänder des Kniegelenkes“, in der er die Anatomie, Biomechanik und Verletzungsmechanismen ausführlich dokumentierte, zur weiteren Aufklärung der Thematik bei und erwähnte als erster im englischsprachigen Raum das Schubladenphänomen (Palmer, 1938).

Robson war der Vorreiter für eine operative Versorgung von Verletzungen des VKB's. Er führte bei einem Bergarbeiter eine Wiederherstellung mittels primärer Bandnaht mit Catcut durch und veröffentlichte seine Ergebnisse nach einer positiven Nachuntersuchung 8 Jahre später (Robson, 1903). Um Lösungen für die Versorgung alter Bandverletzungen bzw. ausgedehnter Verletzungen zu finden, führte Nicoletti 1913 eine Studie zum Einheilverhalten von gestielten und freien Transplantaten aus Fascia lata, Sehne und Periost an Hunden durch, die schon nach 14 Tagen gute Stabilität und Mobilität des Gelenkes aufwiesen (Nicoletti, 1913). Ludloff stellte 1927 eine neue Art des extraartikulären Kreuzbandersatzes mit Bandverstärkung vor, wobei er einen breiten autologen Streifen der Fascia lata verwendete und diesen zur Verstärkung um einen dicken Seidenfaden wickelte und mit ihm vernähte. Er berichtete 6 Monate nach der Operation über gute Ergebnisse (Ludloff, 1927). Alle bis dato durchgeführten Operationen stellten Augmentationen dar, d.h. es wurde keine echte Kreuzbandrekonstruktion durchgeführt

Auch der Gedanke, das verletzte Kreuzband durch körperfremde, zum Teil synthetisch hergestellte Materialien wie Seide (Lange, 1907) , Dacron (Rostrup, 1964), Polyester (Amis et al., 1992) oder Problast zu ersetzen, wurde verfolgt, konnte sich jedoch aufgrund zum Teil schlechter klinischer Ergebnisse nicht durchsetzen.

Die ersten dokumentierten Kreuzbandrekonstruktion wurden Anfang des 20 Jahrhunderts von Hey Groves (1917) und Smith (1918) durchgeführt (Hey-Groves, 1917; Smith, 1918). Sie

verwandten ein gestieltes Tractus iliotibialis Autotransplantat zur Rekonstruktion des VKB. Zur Verth (1933) und Brückner (1966) stellten etwas später erstmalig die Verwendung der Patellarsehne zum Ersatz des vorderen Kreuzbandes vor (Verth, 1933; Brückner, 1966), die später zum am häufigsten eingesetzten Transplantat werden sollte.

Lindemann war 1950 der erste, der die Verwendung von freien Sehnenstransplantaten beschrieb, wobei er die Sehnen des *M. gracilis* und des *M. semitendinosus* als Transplantate nutzte (Lindemann, 1950). Diese Transplantattypen konnten sich in der Folgezeit neben dem mittleren Patellarsehnedrittel als autologe Standardtransplantate etablieren.

Neben dem Versuch autologe Materialien zum Ersatz des VKB zu finden, gab es auch verschiedene Ansätze, körperfremde, also allogene oder xenogene Materialien zu verwenden. Der erste Versuch, xenogenes Material zu verwenden, stammt von Bircher aus dem Jahre 1930, der in seinem Versuch 83 sowohl vordere als auch hintere Kreuzbänder durch Kängurubänder ersetzte und zum Teil gute Ergebnisse erzielte (Bircher, 1930). Auch in weiterer Zeit gab es noch einige Berichte über den Einsatz xenogener Transplantate, ohne dass sich diese entscheidend durchsetzen konnten (Dahlstedt et al., 1989; Good et al., 1989).

Seit den 60er Jahren wurde nunmehr auch versucht, allogene Materialien zu verwenden. Einen wichtigen Beitrag dazu lieferten Shino et al. mit ihrer 1984 durchgeführten Studie, wobei sie die halbierte Achillessehne und die Sehne des *M. tibialis anterior* als allogene Transplantate verwendeten und gute Ergebnisse erzielten (Shino et al., 1984). Auch über die Verwendung allogener Patellarsehnen (Levitt et al., 1994) oder Fascia lata Streifen (Defrere und Franckart, 1994) wurde berichtet. Mit verstärkter Verbreitung von Infektionskrankheiten wie HIV oder Hepatitis C wurde dieser Ansatz aber aufgrund von Übertragungsrisiken durch die Transplantate und fehlender Behandlungsmöglichkeiten zur Virusabtötung zunächst zunichte gemacht.

Auch im Bereich der operativen Technik wurden immer wieder neue Methoden entwickelt, angefangen von der klassischen Arthrotomie über die Miniarthrotomie bis hin zum arthroskopischen VKB Ersatz. Die Ursprünge der arthroskopischen Chirurgie gehen dabei auf Bozzini zurück, der 1816 ein Instrument zur Ausleuchtung von Körperhöhlen, von ihm als Lichtleiter bezeichnet, entwickelte. Tagagi hatte 1918 als erster die Idee, das Knie des Menschen „arthroskopisch“ zu untersuchen. Er benutzte dazu das von Leiter 1968 entwickelte Zystoskop, kam aber zu keinen Ergebnissen. Bircher war hierbei 1921 erfolgreicher und führte die erste Arthroskopie am Knie des Menschen durch (Bircher, 1921). Erste arthroskopische Operationen sollten noch auf sich warten lassen, bis Watanabe 1962 die erste arthroskopische Meniscusteilresektion durchführte. Dandy berichtete 1981 über die erste

arthroskopisch assistierte VKB Rekonstruktion (Dandy, 1981). Seitdem ist der arthroskopische Bandersatz aus der Kreuzbandchirurgie nicht mehr wegzudenken und zum „Goldenen Standard“ geworden.

## **2.9. Remodelling**

Der Remodelling- oder Ligamentisierungsprozeß von autologen Kreuzbandtransplantaten ist in diversen tierexperimentellen und menschlichen Studien eingehend untersucht (Clancy et al., 1981; Amiel et al., 1986; Bosch und Kasperczyk, 1992; Rougraff et al., 1993; Falconiero et al., 1998; Scranton et al., 1998; Weiler et al., 2001; Weiler et al., 2002b) worden. Dabei kristallisierten sich immer wieder Parallelen zum Wundheilungsprozeß heraus. Als eine Art Vorreiter auf dem Gebiet der Untersuchungen von Remodellingprozessen gilt Wilhelm Roux, der 1905 das Gesetz der funktionellen und strukturellen Anpassung eines Organs an Veränderungen der äußeren Umgebung formulierte und damit die Grundlage für heutige Betrachtungen zu diesem Thema lieferte (Roux, 1905).

Übertragen auf die Vorgänge, die nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes ablaufen, kann man von einer Metamorphose der als Transplantat dienenden Sehne, wie zum Beispiel der Patellarsehne, zu einer dem nativen vorderen Kreuzband gleichenden Struktur sprechen. Dabei läuft dieser Prozeß in vier Phasen ab, die in verschiedenen Studien immer wieder beobachtet werden konnten und zu Beginn deutliche Parallelen zum Wundheilungsprozeß aufweisen, wobei dieser am Ende zur Wiederherstellung der normalen Ausgangsstrukturen führt. Hingegen steht am Ende des Remodellingprozesses eine sowohl strukturelle als auch biochemische Transformation der vorhandenen Struktur (Amiel et al., 1986; Bosch und Kasperczyk, 1992). Die initial ablaufenden Phasen haben Bosch und Kasperczyk 1992 nach Untersuchungen am hinteren Kreuzband wie folgt definiert:

### *2.9.1. Initiale Phase: Phase der partiellen Nekrose und Degeneration:*

Diese direkt postoperativ beginnende Phase ist durch eine partiell ischämische Nekrose und Degeneration des ohne anhängende Gefäßversorgung transplantierten, also primär avaskulären Gewebes charakterisiert. Nach 2 Wochen findet man peripher bereits vitales Fasergewebe, und es beginnen erste reparative Prozesse mit Invasion eines zell- und gefäßreichen Granulationsgewebes, während zentral Nekrosen mit Zell- und Strukturverlust dominieren. Auf ultrastruktureller Ebene sind Mitochondrienschwellung, Dilatation und

Degranulation des endoplasmatischen Retikulums, intrazytoplasmatische Lipideinschlüsse und Desintegration der Kollagenfibrillen kennzeichnend für die partielle Nekrose und Degeneration des Transplantates. Zu diesem Zeitpunkt findet man im Transplantat kaum Gefäße vor. Die mechanischen Eigenschaften des Bandes sind sukzessiv vermindert.

### *2.9.2. Reparativ- proliferative Phase*

Dieser auch als Revitalisierungsphase bezeichneter Abschnitt ist gekennzeichnet durch eine von peripher nach zentral fortschreitende Revaskularisierung und Repopulation des Transplantates. Das nekrotische Gewebe wird von Makrophagen und gelegentlich zu findenden mehrkernigen Riesenzellen metabolisiert, wobei dies ohne den Ligamentisierungsprozeß störende Entzündungsreaktionen abzulaufen scheint (Scranton et al., 1998). Eine wichtige Rolle in dieser Phase spielen aktive, kollagenproduzierende Fibroblasten, sogenannte Myofibroblasten, die in der nekrotischen Matrix zu finden sind und im nativen Kreuzbandgewebe inaktiv sind.

Weiterhin laufen reparativ- proliferative Prozesse ab, wie sie auch bei der Ligamentheilung zu finden sind. Dabei kann vermehrt Kollagen III sowie Fibronectin nachgewiesen werden, weiterhin nehmen der GAG-Gehalt und der Anteil dünnerer Kollagenfibrillen zu, bei gleichzeitiger Abnahme der mittleren Fibrillen. Diese strukturellen Veränderungen führen zu einer weiteren Abnahme der mechanischen Eigenschaften des Bandes, wobei Bosch und Kasperczyk 6 Wochen post operationem die schlechtesten Werte ermittelten. Die reparativen Prozesse erreichen nach ca. 16 Wochen zunehmend auch zentrale Teile des Transplantates, wobei es peripher schon wieder zu einem Rückgang der Zell- und Gefäßzahlen kommt und eine beginnende Längsorientierung der Kollagenfasern erkennbar ist. Die fortschreitende Revaskularisierung und Revitalisierung des Transplantats geht nun auch mit einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften einher.

### *2.9.3. Remodellingphase*

Diese bis zu mehreren Jahren andauernde Phase geht mit einer weiteren Organisation der extrazellulären Matrix, einem Rückgang und damit Normalisierung des Zellgehaltes und einer zunehmenden Längsorientierung der Kollagenfaserbündel einher. Der Kollagen III und Fibronectingehalt nimmt wieder ab, und die mechanischen Eigenschaften verbessern sich weiter. Am Ende dieser Phase findet man anstelle des Transplantates ein strukturell und biochemisch dem nativen vorderen Kreuzband entsprechendes Gewebe mit ähnlichen mechanischen Eigenschaften vor. Über die Dauer des kompletten Remodellingprozesses

existieren keine einheitlichen Daten. Während Amiel et al. und Scranton et al. mit 26 bzw 30 Wochen post operationem schon in Vaskularität, Zellularität und Kollagenfaserausrichtung dem nativen vorderen Kreuzband entsprechende Strukturen vorfanden, geben Falconiero et al. den Zeitraum für den Umbau und die Reifung mit 12 Monaten an (Amiel et al., 1986; Falconiero et al., 1998; Scranton et al., 1998). Rougraff et al. fanden sogar noch über diesen Zeitraum hinaus degenerative Zonen und Zeichen für weitere Reifungsvorgänge in den Transplantaten und fanden erst nach 3 Jahren vollständig remodelliertes Gewebe vor (Rougraff et al., 1993). Korreliert man diese unterschiedlichen Ergebnisse mit klinischen Beobachtungen, so wird heute von einer Dauer von ungefähr 12 Monaten für den Remodellingprozeß autologer Transplantate nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes ausgegangen, was auch der Zeitspanne bis zur vollen erlaubten sportlichen Belastung entspricht.

## **2.10. Revaskularisierung**

Wie schon dargestellt, ist die Revaskularisierung von Transplantaten nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes eine Grundvoraussetzung für das Langzeitüberleben des Transplantates und ablaufende Remodellingprozesse. Dabei konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass die Revaskularisierung initial vom umgebenden Binde- und vor allem dem Hoffaschen Fettkörper ausgeht (Arnoczky et al., 1982; Sckell et al., 1999) und dass besonders im frühen Stadium eine Versorgung des Transplantats durch Diffusion aus dem umgebenden synovialen Gewebe stattfindet (Rougraff et al., 1993). In das zum Zeitpunkt der Transplantation avaskuläre Transplantat sprossen dann aus der Peripherie Gefäße ein und beginnen mit der weiteren Versorgung des Gewebes. Die mechanischen Eigenschaften des Transplantates nehmen zu diesem Zeitpunkt ab (Weiler et al., 2001). Im Rahmen der weiteren ablaufenden Remodellingprozesse kommt es zu einem Einwachsen von Gefäßen bis in zentrale Bereiche des Transplantates und zu einer im Vergleich zum nativen VKB bestehenden Hypervaskularität. Arnoczky et al. fanden in ihrer Studie am Hund initial avaskuläre Transplantate vor, die nach 6 Wochen von einer gut vaskularisierten synovialen Scheide umgeben waren, über die die Versorgung erfolgte. In einem zweiten Schritt kam es nun ausgehend von proximal und distal des Transplantates nach zentral fortschreitend zu einer inneren Revaskularisierung, die nach 1 Jahr abgeschlossen schien (Arnoczky et al., 1982). Unterhauser et al. fanden eine maximale Gefäßdichte im subsynovialen Bereich zum Zeitpunkt von 6 Wochen post operativ sowie intermediär und zentral zum Zeitpunkt von 12

Wochen post operativ. Im weiteren Verlauf sank die Gefäßdichte in allen Regionen wieder ab, bis nach ca. 12 Monaten eine Gefäßdichte und Verteilung dem vorderen Kreuzband entsprechend erreicht wurde. Sie konnten außerdem durch Unterteilung der Präparate in verschiedene Regionen zeigen, dass die Revaskularisierung der Transplantate fortschreitend von peripher nach zentral verläuft (Unterhauser et al., 2003).

Petersen et al. konnten in einer Untersuchung der Revaskularisierung autologer Achillessehnen-Transplantate an Schafen einen, die Revaskularisierung stimulierenden, Wachstumsfaktor (VEGF) nachweisen. Dieser wurde durch aktivierte Fibroblasten bis zu einem Zeitpunkt von 24 Wochen exprimiert und hat somit eine Bedeutung bei der Revaskularisierung im Rahmen des Bandmodellings beim Schafsmodell (Petersen et al., 2003). Ferner konnten Weiler et al. einen weiteren Wachstumsfaktor, das PDGF- BB, aufzeigen, welches ebenfalls einen gefäßstimulierenden Effekt während des frühen Bandmodellings hat (Weiler et al., 2003).

### **2.11. Tiermodell**

In unserem Projekt wurde mit dem Schafsmodell gearbeitet. Wie in diversen Studien (Radford et al., 1996; Seitz et al., 1997; Allen et al., 1998; Hunt et al., 2004) gezeigt wurde, ist das Schaf ein adäquates Versuchstier für Untersuchungen zum Kniegelenk des Menschen aufgrund seiner ähnlichen Anatomie, Morphologie und vergleichbaren biomechanischen Eigenschaften sowie der problemlosen Haltung dieser Tiere. Scranton et al. (Scranton et al., 1998) konnten in einer vergleichenden Studie zum Remodellingprozess zeigen, dass die auf zellulärer Ebene ablaufenden Vorgänge bei Mensch und Schaf durchaus vergleichbar sind und in ähnlichen Zeitdimensionen abzulaufen scheinen. So konnten sie zum Beispiel bei beiden Spezies alpha smooth positive Fibroblasten als aktiv am Remodellingprozesses beteiligte Zellen nachweisen. Weiterhin lässt sich das vordere Kreuzband des Schafes ebenso wie das des Menschen in zwei Anteile, nämlich dem anteromedialen und dem posterolateralen Bündel mit den beim Knie des Menschen gleichzusetzendem Ursprüngen unterteilen, und wie beim Menschen wirken die Kreuz- und die Kollateralbänder als stabilisierende Faktoren des Kniegelenkes. Eine Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes beim Schaf führt ebenso wie beim Menschen zu einer verstärkten anterioren Verschieblichkeit der Tibia gegen den Femur, also zu einer vorderen Schublade, wobei dies beim Schaf stärker ausgeprägt ist als beim Menschen (Radford et al., 1996). Grundsätzlich ist eine größere Steifheit in der anterioposterioren Ebene des Kniegelenkes beim Schaf vorhanden, und es ist keine maximale

Streckung möglich (Radford et al., 1996). Wie beim Menschen scheint das VKB beim Schaf Rotationsbewegungen zu beschränken, wobei die externe Rotation stärker als die interne Rotation limitiert wird und diese Begrenzung mit zunehmender Beugung abnimmt. Das vordere Kreuzband des Schafes erreicht mit 2,5 kN ungefähr die Kraft von VKB's junger Erwachsener mit 1,73 kN (Noyes und Grood, 1976), wobei der Durchmesser des ovinen VKB's nur halb so stark ist (Rogers, 1985; Radford et al., 1996). Aufgrund der geringen Weite der Fossa intercondylaris beim Schaf spielt hier die Platzierung sowie die richtige Größenauswahl des Transplantats eine große Rolle, um eine adäquate Rekonstruktion zu erreichen und valide Messungen vornehmen zu können.



*Abb. 2: Darstellung des ovinen Kniegelenkes, deutlich erkennbar die 2 Anteile des vorderen Kreuzbandes, eigene Präparation*

## **2.12. Faktor VIII Färbung**

Die Faktor VIII Färbung dient der Darstellung der Gefäße im Bandgewebe und soll Aufschluß über die Revaskularisierung des Transplantates geben. Unterhauser et al. konnten zeigen, dass mit Hilfe der gezielten Markierung des in den Endothelzellen vorkommenden Faktor VIII ( von- Willebrandt- Faktor) mittels polyklonaler AK auch kleinste Kapillaren ohne glatte Muskelzellen darstellbar sind und somit diese Methode weitaus sensitiver als bisher häufig verwandte Methoden wie Laser Dopplerflowmetrie, Spalteholztechnik oder Tuscheinjektion ist. Sie stellt damit besonders zur Darstellung der frühen auf kapillärer Ebene ablaufenden Revaskularisierung die Methode der Wahl dar (Unterhauser et al., 2003). Daher erfolgte in diesem Projekt die Untersuchung der Revaskularisierung mittels immunhistochemischer Faktor VIII Färbung.

### 2.13. Grundlagen der Immunhistologie

Die Immunhistochemie beruht auf der Möglichkeit, bestimmte Strukturen, die als Antigene fungieren, mit Hilfe von Antikörpern zu markieren bzw. eine Antigen- Antikörperreaktion auszulösen und diese durch an den Antikörper gekoppelte Farbstoffe sichtbar zu machen. In der Immunhistochemie wird zum größten Teil mit den Antikörpern IgM und IgG gearbeitet. Um die Antikörper in der Immunhistochemie zu nutzen, müssen spezifische auf das zu detektierende Epitop ausgerichtete Antikörper hergestellt werden. Man unterscheidet hierbei zwei große Gruppen von Antikörpern:

#### *Polyklonale Antikörper*

Als polyklonale Antikörper bezeichnet man Antikörper, die von vielen verschiedenen Typen (oder Populationen) Antikörper produzierender Zellen eines mit einem Antigen immunisierten Tieres erzeugt werden. Jeder Zelltyp produziert einen Antikörper, der nur an ein bestimmtes Epitop des Antigens bindet. Polyklonale Antikörper sind also eine Mischung von Antikörpern, die verschiedene Epitope des Antigens erkennen und daran binden. Sie sind immunchemisch verschieden.

#### *Monoklonale Antikörper*

Sie sind das Produkt eines einzelnen Klons von Plasmazellen, sind somit immunchemisch identisch und reagieren nur mit einem bestimmten Epitop des Antigens, gegen welches sie gerichtet sind. Hierbei wird im Spendertier eine antigenspezifische Immunantwort induziert, anschließend werden aus Milz und Lymphknoten B- Lymphozyten gewonnen und unter bestimmten Bedingungen mit Myelomzellen fusioniert (Hybridisierung). Im Kulturmedium erfolgt nun die klonale Vermehrung der vorher selektierten antikörperbildenden Hybridome und anschließend die Gewinnung der gebildeten monoklonalen Antikörper.

#### *Grundprinzip der Faktor VIII Färbung*

Die in diesem Projekt angewandte Faktor VIII Färbung arbeitet mit der Streptavidin- Biotin Methode. Hierbei wird an den polyklonalen Primärantikörper in einem zweiten Schritt ein gegen den Primärantikörper gerichteter biotinylierter Zweitantikörper angelagert. In einem dritten Schritt werden nun vorgeformte Avidin- Biotin- Enzymkomplexe ( ABC ), die mit einem Reporterenzym gekoppelt sind, angelagert. Als Enzyme werden hierbei vorzugsweise Meerrettichperoxidase oder Alkalische Phosphatase verwendet. Dabei findet eine

Signalverstärkung statt, da jedes der genannten Avidinmoleküle vier Bindungsstellen für Biotin besitzt.

Zum Sichtbarmachen der erfolgten AG-AK Reaktion wird nun ein Substrat zugesetzt, das vom Reporterenzym zu einem farbigen Produkt umgesetzt wird.

## **2.14. Heutiger Stand der Literatur**

### *Vergleich des Remodellings autologer und allogener Kreuzbandtransplantate*

Eine der ersten umfassenden tierexperimentellen Studien zum Vergleich autologer und allogener Transplantate zum Ersatz des vorderen Kreuzbandes haben Shino et al. 1984 (Shino et al., 1984) durchgeführt. Sie untersuchten den Remodellingprozeß von mit Knochenblock verwandten, frisch gefrorenen Patellarsehnen im Rahmen einer Studie am Hund über einen Zeitraum von 3 bis 52 Wochen nach Kreuzbandersatz mit Hilfe histologischer, biomechanischer und mikroangiographischer Untersuchungsmethoden. Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass der Remodellingprozeß der allogenen Transplantate mit dem autologer zu vergleichen ist. Sie beobachteten, dass das Transplantat nach 52 Wochen in seinem Aufbau dem nativer vorderer Kreuzbänder glich, die Revaskularisierung ab der dritten postoperativen Woche erfolgte und nach 30 Wochen abgeschlossen erschien. Zu diesem Zeitpunkt wiesen die allogenen Transplantate ähnliche mechanische Eigenschaften wie die autologen Transplantate auf. Ferner konnten keine Hinweise auf überschießende Immunreaktionen festgestellt werden. Auch Arnoczky et al. kamen 1986 ebenfalls in einer Hundestudie zu guten Ergebnissen und konnten zeigen, dass es bei allogenen wie bei autologen Transplantaten innerhalb von 4 Monaten zu einer Revaskularisierung und zu einem Remodelling der Transplantate kam, so dass auch sie nach 52 Wochen eine dem nativen vorderen Kreuzband entsprechendem Struktur vorfanden. Auch in dieser Studie kam es bei den durchs Einfrieren präparierten Transplantaten zu keinerlei immunologischen Reaktionen im Sinne von Abstoßungsreaktionen. Dagegen kam es bei frisch verwandtem allogenen Material zu deutlichen Abstoßungsreaktionen, Entzündungen, Schwellungen und Ergüssen (Arnoczky et al., 1986). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Drez et al. 1991 (Drez et al., 1991b) und Fromm et al. 1996 (Fromm et al., 1996) im Rahmen tierexperimenteller Untersuchungen an der Ziege bzw. am Kaninchen, wobei Fromm et al. mit Hilfe der Injektionstechnik sehr schön zeigen konnten, dass es nicht nur zu einer Revaskularisierung des Transplantates kommt, sondern dass auch eine Gefäßverteilung dem nativen vorderen Kreuzband entsprechend

hergestellt wird. So fanden sie nach 24 Wochen eine dem nativen VKB entsprechende Gefäßverteilung mit hypovaskulären Bereichen im distalen Teil des Bandes.

Andere tierexperimentelle Studien kamen zu völlig anderen Ergebnissen (Thorson et al., 1989; Jackson et al., 1993). So zeigten Jackson et al. in einer Studie an der Ziege 1993 signifikant höhere Werte der Laxizität der allogenen Patellarsehnen-Knochen-Transplantate (BPTB), deutlich niedrigere Versagenslasten nach 6 Monaten (600N Allo vs 1300N Auto ) sowie erhöhte Translationswerte und eine verringerte anteriore Steifigkeit der allogenen Transplantate. Außerdem zeigten die autologen Transplantate nach 6 Monaten eine bessere Stabilität sowie eine robustere biologische Inkorporation. Bei den allogenen Transplantaten fanden sie leichte Entzündungszeichen sowie verminderte strukturelle Fähigkeiten und eine verzögerte biologische Inkorporation.

Auch humanmedizinische Studien lieferten bisher keine einheitlichen Ergebnisse. So fanden Kleipool et al. (Kleipool et al., 1998) und Shelton et al. (Shelton et al., 1997) bei ihren klinischen Studien an Patienten mit gefrorenen autologen und allogenen Patellarsehnenknochentransplantaten 3 bis 64 Monaten post operationem keine signifikanten Unterschiede der klinischen Untersuchungsergebnissen zwischen den Gruppen. Auch Peterson et al. erreichten in beiden Gruppen gute biomechanische Ergebnisse, jedoch mit einer leichten Tendenz eines stärkeren Extensionsvermögensverlustes in der allogenen Gruppe und einigen Fällen von Schmerzen im Bereich der Transplantatentnahmestelle in der autologen Gruppe (Peterson et al., 2001). In einer aktuellen Studie von 2003 verglichen Chang et al. ebenfalls autologe und allogene BPTB Transplantate mit grundsätzlich guten Ergebnissen in beiden Gruppen, kamen aber aufgrund von 3 Transplantatversagern und einem im Vergleich mit dem nativen VKB signifikanten Flexionsdefizit in der allogenen Gruppe zu dem Schluß, dass autologe Transplantate zum Routineersatz allogenen Transplantaten vorzuziehen sind (Chang et al., 2003). Poehling et al. fanden in einer klinischen Untersuchung letzten Jahres 5 Jahre post operationem vergleichbare Ergebnisse bei allogenen und autologen Patellarsehnenknochentransplantaten (Poehling et al., 2005).

Sehr viel schlechtere Ergebnisse erhielten Gorschewsky et al. 2002 mit bestrahlten allogenen Transplantaten in einer biomechanischen und histologischen 2- Jahres- Studie. Sie beobachteten eine signifikant höhere Versagerrate besonders bei sportlich aktiven Patienten, eine signifikant stärkere antero-posteriore Translation sowie ein Extensionsdefizit in der Gruppe der allogenen Transplantate. Die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen mittels Standardfärbungen zeigten eine verzögerte Inkorporation und verlängerte Umbauvorgänge mit länger vorhandener Hyperzellularität- und vaskularität, sowie ein auch

nach einem Jahr noch nicht regelmäßig ausgerichtetes Kollagengerüst. Allerdings klagten mit 44% mehr als doppelt so viele Patienten in der Autograftgruppe über Beschwerden an der Transplantatentnahmestelle (Gorschewsky et al., 2002). Auch in aktuellen Studien erhielten Gorschewsky et al. keine befriedigenden klinischen Ergebnisse mit allogenen Patellarsehnentransplantaten besonders bei sportlich sehr aktiven Patienten (Gorschewsky et al., 2005b).

Abschließend ist also zu sagen, dass sich die Ergebnisse bisheriger Studien sehr variabel darstellen und eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse aufgrund unterschiedlicher Untersuchungstechniken und Verwendung verschiedener Transplantatmodelle fraglich ist. Vergleichende Studien der Revaskularisierung bis auf kapilläres Niveau und des Remodellings freier autologer und allogener Sehnentransplantate zum Ersatz des VKB existieren nicht. Bisher verfügbare Daten stammen zum einen meist aus Untersuchungen an Knochen-Sehnentransplantaten, und zum anderen erfolgten die Untersuchungen zur Revaskularisierung zumeist mit Methoden, die eine Darstellung der frühen kapillären Phase nicht zulassen. Weiterhin erfolgten die Untersuchungen meist rein deskriptiv.

Da in klinischen Untersuchungen immer wieder höhere Transplantatversagerraten und zum Teil auch schlechtere biomechanische Eigenschaften der allogenen freien Sehnentransplantate festgestellt wurden, tritt die Frage nach dem Ablauf des Remodellings und der Revaskularisierung als Grundvoraussetzung für das Langzeitüberleben des Transplantates wieder in den Mittelpunkt.

### **2.15. Ziel dieser Studie**

Ziel dieser Studie ist die Aufklärung des Remodellings freier allogener Sehnentransplantate nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes.

Dabei soll in dieser Arbeit vergleichend die Revaskularisierung autologer und allogener freier Sehnentransplantate als Teilaspekt und Grundvoraussetzung des Remodellings dargestellt und sowohl qualitativ als auch quantitativ untersucht werden. Um die Revaskularisierung beginnend von ihrer frühen kapillären Phase darstellen zu können, werden die Gefäße in dieser Arbeit mittels modifizierter Methodik (siehe Methoden) immunhistochemisch dargestellt. Dabei soll in dieser Arbeit sowohl der zeitliche Verlauf als auch das räumliche Fortschreiten der Revaskularisierung erfasst werden. Zusätzlich erfolgt eine deskriptive

Betrachtung der zellulären Umbauvorgänge während des Remodellings mit Hilfe von Standardfärbungen

### **2.16. Hypothesen**

1: Die Revaskularisierung der allogenen Transplantate läuft im Vergleich mit den autologen Transplantaten verzögert ab.

2: In beiden Gruppen werden keine überschießenden Immun- und Entzündungsreaktionen erwartet.