

5. Diskussion

5.1. Allgemeines

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen einer Studie zur vergleichenden Untersuchung des Remodellings autologer und allogener freier Sehnentransplantate nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes durchgeführt. Dabei wurden primär der intraartikuläre Bandumbau (eigene Dissertation sowie Dissertation M. Dustmann), die Transplantateinheilung (Dissertation J. Keil), sowie die mechanischen Eigenschaften (Dissertation I. Gangey) in einem zeitlichen Verlauf bis zu einem Jahr post operationem untersucht.

Es wurde angenommen, dass das Remodelling bei allogenen Transplantaten langsamer abläuft als bei autologen Transplantaten.

Die Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit beschäftigten sich vor allem mit dem Vergleich der Revaskularisierung und zellulärer Veränderungen autologer und allogener freier Sehnentransplantate nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes. Hierbei wurde erstmalig die Revaskularisierung bis auf kapilläres Niveau eines freien allogenen Sehnentransplantates als Ersatz des vorderen Kreuzbandes am Tiermodell dargestellt. Dabei haben freie Sehnentransplantate gegenüber knochenblocktragenden Transplantaten aufgrund geringerer postoperativer Komplikationen durch eine geringere Entnahmemorbidität deutliche Vorteile (Rosenberg et al., 1992; Breitfuss et al., 1996; Kartus et al., 1997; Bartlett et al., 2001). Aufgrund der substantiell verbesserten Verankerungsmethoden von freien Sehnentransplantaten, die bisher beschriebene Nachteile wie eine geringere Stabilität oder vermehrte Transplantatbewegungen (Höher et al., 1999; Brand et al., 2000; Weiler et al., 2002a) eliminieren können, werden diese im Vergleich zu knochenblock-tragenden Transplantaten (Patellar-, Quadrizepssehne) zunehmend verwendet, und konnten sowohl bei autologen als auch bei allogenen Transplantaten an Bedeutung gewinnen.

Als Tiermodell wurde in diesem Projekt das Schaf ausgewählt, das sich schon in diversen anderen Studien aufgrund seiner den Verhältnissen beim Menschen sehr ähnelnden Anatomie, Morphologie und den ähnlichen biomechanischen Eigenschaften sowie der problemlosen Haltung dieser Tiere als durchaus geeignet gezeigt hat (Radford et al., 1996; Allen et al., 1998; Hunt et al., 2004). Scranton et al. konnten in einer vergleichenden Studie 1998 des Remodellingprozesses zeigen, dass die auf zellulärer Ebene ablaufenden Vorgänge bei Mensch und Schaf durchaus vergleichbar sind und in ähnlichen Zeitdimensionen abzulaufen

scheinen (Scranton et al., 1998). Seitz et al. untersuchten 1997 die Gefäßversorgung des vorderen Kreuzbandes des Schafes mittels Injektionstechnik und kamen zu dem Ergebnis, dass die Blutversorgung des ovinen vorderen Kreuzbandes sowohl im Bereich der versorgenden Hauptgefäße als auch in Bezug auf die mikrovaskuläre Versorgung der beim Menschen beschriebenen Situation sehr nahe kommt. So fanden sie heraus, dass das ovine vordere Kreuzband von der A. genicularis media von der A. poplitea stammend sowie der A. genicularis descendens von der A. femoralis stammend versorgt wird. Diese bilden im Bereich der synovialen Scheide ein periligamentöses Gefäßnetz wie beim Menschen, von dem wiederum kleinste Gefäße ins VKB einsprossen und als intraligamentäre Gefäße zur Versorgung beitragen (Seitz et al., 1997). Dagegen stellt sich das Bandgewebe beim Kaninchen, das ebenfalls in diversen Studien als Modelltier verwendet wird, avaskulär dar (Wallace und Amiel, 1991). Außerdem ist beim Kaninchen die durch die Käfighaltung bedingte minimale Belastung des Transplantates post operationem ein Faktor, der die Vergleichbarkeit zum Menschen minimiert. In einer quantitativen Untersuchung zum zellulären und mikrovaskulären Erscheinungsbild fanden Murray et al. 2004 allerdings eine höhere Vaskularität und Zellularität des vorderen Kreuzbandes des Schafes im Vergleich zum VKB des Menschen und kamen zu dem Ergebnis, dass das VKB des Hundes in diesen Punkten dem VKB des Menschen am nächsten kommt (Murray, 2004). Andere Studien beobachteten allerdings schon sechs Wochen nach Ersatz des VKB's beim Hund eine Ausbildung von Knorpeldefekten im Kniegelenk (Goertzen et al., 1993), die sich störend auf den Heilungsverlauf nach VKB Ersatz auswirken könnten. Xerogeanes et al. fanden 1998 in einer Studie zum biomechanischen Vergleich der Kreuzbänder von Schwein, Ziege und Schaf, dass das Kreuzband des Schweins dem VKB des Menschen in seinen Eigenschaften am ähnlichsten war (Xerogeanes et al., 1998), trotzdem wird das Schwein für Untersuchungen nach Kreuzbandersatz aufgrund seiner schlechten Handbarkeit kaum als in vivo Modell eingesetzt. Zusammenfassend kann man sagen, dass sich trotz einiger Unterschiede das Schaf in verschiedenen Studien als Modelltier für Untersuchungen nach Ersatz des vorderen Kreuzbandes bewährt hat und gut geeignet ist (Amendola und Fowler, 1992; Radford et al., 1996; Allen et al., 1998; Goradia et al., 1998; Goradia et al., 2000; Weiler et al., 2002c).

Ein weiterer Diskussionspunkt bei Untersuchungen zum Ersatz des VKB am Tiermodell stellt das postoperative Management dar. Ein Grundproblem stellt hierbei die Kontrolle der postoperativen Belastung der frisch operierten Gliedmaße dar. Während der Mensch ein differenziertes Nachbehandlungsprotokoll durchläuft, kommt es beim Tiermodell meist kurz nach der Operation und dem Abklingen der initialen Beschwerden zu einer vollen,

uneingeschränkter Belastung der operierten Gliedmaße. Dies kann den Heilungsprozess beeinflussen und dadurch eine erhöhte Anzahl von Transplantatversagern begünstigen. Transplantatversager im Sinne eines Reißens des Transplantats aufgrund zu starker Belastung wurden in dieser Studie jedoch nicht beobachtet.

Probleme gab es in dieser Studie eher durch die mit der Stallhaltung der Tiere zusammenhängenden Problematik der Kontamination. So kam es bei einigen Tieren zu Wundinfektionen, die auch zum Ausscheiden von Tieren aus der Studie geführt haben (siehe Komplikationen). Die Kontamination der frischen OP Wunde mit Kot und Urin konnte dabei trotz initialer Versorgung der Tiere mit Verbänden und gründlicher Stallhygiene nicht immer vermieden werden, da die Fixierung der Verbände zum Teil sehr schwierig war, und es, auch aufgrund starker Bewegungen, häufig zum Abrutschen der Verbände kam. Eine Haltung der Tiere in den ersten drei Tagen post operationem in speziellen Einzelboxen mit Kunststoffgittern als Bodenbelag ist in zukünftigen Studien zu erwägen, wobei dies wiederum zu Störungen des Allgemeinbefindens aufgrund der fehlenden Herdenzugehörigkeit führen könnte. Grundsätzlich sind die genannten Faktoren beim Vergleich der hier ermittelten Ergebnisse mit humanmedizinischen Studien zu bedenken und für Schlussfolgerungen für Anwendungen am Menschen zu berücksichtigen. Da im Rahmen dieser Studie sowohl Daten für autologe als auch allogene Transplantate ermittelt wurden, ist eine Aussage zur vergleichenden Revaskularisierung am Schafsmodell möglich, und die Ergebnisse sind in ihrer Tendenz, was den Vergleich autologer und allogener Transplantate betrifft, durchaus hinweisend auf beim Menschen ähnlich ablaufende Vorgänge.

Bei der Präparation der Proben verblieben 2 autologe 6-Wochenpräparate fünf statt drei Tage in 4% Formalin. Die Auswertung der Gefäßdichte dieser beiden Präparate ergab einen deutlich geringeren Gefäßgehalt als bei den anderen autologen 6-Wochenpräparaten. Van Alstine fand in einer Untersuchung eine verminderte immunhistochemische Anfärbbarkeit bei seinen Präparaten bei längerer Aufbewahrung in Formalin (Van Alstine et al., 2002). Da nicht eindeutig zu beweisen war, dass die Abweichungen auf die zu lange Lagerung in Formalin beruhen, wurden die in dieser Arbeit ermittelten Daten im Ergebnisteil einmal mit und einmal ohne die Ausreißertiere präsentiert. Ein weiteres Tier aus der allogenen 6-Wochengruppe, das einen sehr viel höheren Gefäßgehalt als die anderen Tiere der Gruppe zeigte, wurde ebenfalls in der korrigierten Datenanalyse aus der Wertung genommen. Dieses Tier hatte ausgeprägte, jedoch nur oberflächliche Wundheilungsstörungen gezeigt. Die beobachtete Hypervaskularität könnte durch die im Rahmen einer Entzündung entstehenden, erhöhten Durchblutung erklärbar sein. Da der direkte Zusammenhang zwischen abweichender Daten und der

Entzündung zwar nahe liegt, jedoch nicht zu beweisen ist, soll auch hier durch Darstellung aller Daten die Entscheidung dem Leser überlassen werden.

In der vorliegenden Studie wurde eine extrakortikale, nicht-anatomische Verankerung femoral mittels Endobutton und tibial mittels Faden-Knochen Brücke gewählt, um zum einen nicht die Untersuchung der Knochen-Band Einheilung durch Implantate wie Interferenzschrauben oder Cross-Pins zu erschweren und zum anderen eine Vergleichbarkeit zur aktuellen Literatur herstellen zu können, in der fast ausschliesslich diese Art der Verankerung verwendet wird (Hunt et al., 2004). Zusätzlich ist diese Art der Verankerung weiterhin eine der am häufigsten verwendeten Fixationstechniken von knochenblockfreien Transplantaten beim Menschen. Es muss jedoch erwähnt werden, dass es Unterschiede sowohl im zeitlichen Verlauf des Bandumbaus als auch bei der Knochen-Band-Einheilung zwischen einer anatomischen Verankerung am Gelenkniveau und der hier verwandten extracorticalen Verankerung des Transplantates gibt. So kann es bei letzterer zum Beispiel zu verstärkten Transplantattunnelbewegungen mit der Folge einer verzögerten Einheilung des Gewebes am Tunneleingang kommen (Nebelung et al., 1998; Jansson et al., 1999; Höher et al., 2000). In einer neuen vergleichenden Untersuchung der femoralen Fixierung mittels modifizierter Endobutton-Technik gegenüber der Verankerung mittels Schraube konnten demgegenüber keine Unterschiede klinischer Parameter festgestellt werden (Ma et al., 2004). Tunnelaufweitungen wurden bei beiden Verankerungstechniken beobachtet. Da es außerdem in unserer vorliegenden Studie vorrangig um den Vergleich von autologem und allogenen Kreuzbandersatz ging, wurden eventuelle Limitierungen in Kauf genommen.

Bei der Darstellung der Revaskularisierung in bisherigen Studien bestanden verschiedene Einschränkungen der Methoden hinsichtlich einer korrekten Quantifizierung. Deshalb wurde in dieser Studie die immunhistochemische Faktor VIII (von-Willebrandt-Faktor) Färbung zum Gefäßnachweis und Darstellung der Revaskularisierung benutzt. Diese sehr sensitive Methode ermöglichte eine Darstellung der Revaskularisierung schon ab einer sehr frühen Phase, in der erste, kleinste Kapillaren ins Transplantat einsprossen. Im Gegensatz zu bisher zur Darstellung von Gefäßen verwandten Methoden ist die hier angewandte Technik nicht von der Perfusionskapazität oder Größe der röntgendichten Partikel abhängig. Unterhauser konnte mit Hilfe dieser Methode zeigen, dass die Revaskularisierung autologer Kreuzbandtransplantate früher beendet ist, als andere Studien bisher ergab (Unterhauser et al., 2003).

In den meisten der bisherigen Studien, die sich mit dem Remodelling von Kreuzbandtransplantaten beschäftigt haben, wurden andere, unterschiedlich sensitive

Methoden zur Darstellung der Revaskularisierung genutzt, wie zum Beispiel Kontrastmitteluntersuchungen, Farbstoffinjektionen oder Laser - Dopplerflowmetrie. Bei der Darstellung des intraligamentären Gefäßsystems mit Kontrastmitteln (Spalteholz, Tusche, röntgendichte Substanzen) wird die Perfusionsmöglichkeit kleinster Kapillaren durch die Partikelgröße der verwendeten Substanzen selbst limitiert. Auch die Gefäßperfusion mit löslichen Farbstoffen kann oftmals nicht das gesamte feine Kapillarnetzwerk erfassen (Clancy et al., 1981; Petersen und Tillmann, 1999). Bei zu hohem Injektionsdruck besteht die Gefahr, dass das Kontrastmittel paravasal austritt und ein falsch positives Ergebnis zeigt, falsch negative Ergebnisse können durch zu niedrigen Injektionsdruck, Mikroembolien oder Arteriosklerose entstehen (Petersen und Tillmann, 1999). Die Technik der Laser Dopplerflowmetrie ist eine elegante, nicht-invasive Methode, oberflächliche Blutflüsse darzustellen. In einer Untersuchung von Jakobsson und Nilsson, bezüglich der Meßtiefe in verschiedenen Geweben, konnten in Hautpräparaten jedoch nur Gefäße in einer maximalen Tiefe von 250 µm erfasst werden (Jakobsson und Nilsson, 1993). Somit erscheint es zweifelhaft, ob intraligamentär gelegene Kapillaren mit Hilfe dieser Technik hinreichend erfasst und dargestellt werden können. Eine weitere häufig eingesetzte Methode zum Gefäßnachweis stellt die immunhistochemische Markierung von alpha- smooth muscle aktin in glatten Gefäßmuskelzellen dar. Dabei beschränkt sich diese Methode auf den Nachweis von Gefäßen, die eine glatte Muskulatur aufweisen. Kapillaren, die keine glatte Muskelwand aufweisen, sind somit nicht zu erfassen. Damit ist auch diese Methode nicht geeignet, die Revaskularisierung ausgehend von ihrer frühesten, kapillären Phase darzustellen.

5.2. Vergleich der zellulären Umbauvorgänge

Hier konnte ein der Literatur entsprechender Repopulations- und Reifungsprozeß nachvollzogen werden, der bei den allogenen Transplantaten verzögert stattfindet.

Der Zellgehalt der allogenen Transplantate lag zum 6-Wochenzeitpunkt unter dem der autologen Transplantate. In beiden Gruppen waren peripher aktive Fibroblasten vorhanden, während zentral weniger Zellen vorhanden waren. Azelluläre Bereiche dominierten bei den allogenen Transplantaten intermediär und zentral aber das Bild. In der autologen Gruppe dominierten peripher und zum Teil auch intermediär Zellhäufungen das Bild. Azelluläre Bereiche dominierten zentral das Bild. Dies entspricht Beobachtungen anderer Studien. So fanden Arnotzky et al. , Shino et al. und Drez e al. zum 6-Wochenzeitpunkt peripher aktive

Fibroblasten bei ihren allogenen Transplantaten, während zentrale Regionen der Transplantate azellulär und ungeordnet erschienen (Shino et al., 1984; Arnoczky et al., 1986; Drez et al., 1991b). Weiler et al. fanden in ihrer histologischen Untersuchung an autologen Achillessehnen-Transplantaten zum 6-Wochenzeitpunkt hypozelluläre nicht ins beginnende Remodelling einbezogene Bezirke direkt neben hyperzellulären bereits in reparative Prozesse einbezogenen Bereichen. Das MRT dieser Transplantate zeigte eine inhomogene Signalgebung mit hyper- und hypointensen Signalintensitäten (Weiler et al., 2001). Jackson et al. fanden in ihrer Studie zum 6-Wochenzeitpunkt die deutlichsten Unterschiede zwischen den autologen und den allogenen Transplantaten, die zwar von einer gut vaskularisierten und zellhaltigen Hülle umgeben waren, die allogenen Transplantate selbst stellten sich aber über weite Bereiche azellulär dar (Jackson et al., 1993). Eine Hyperzellularität der autologen Transplantate gegenüber dem nativen Kreuzband wie Amiel et al. sie in ihrer Studie 1986 fanden, war bei uns nicht zu erkennen. Dabei ist zu beachten, dass diese Beobachtungen von der Patellarsehne, also einem Knochen- Sehnen-Transplantat stammen und Unterschiede möglicherweise darauf zurückführbar sind (Amiel et al., 1986).

Zum 12-Wochenzeitpunkt lag in der autologen Gruppe schon eine recht gleichmäßige Zellverteilung über alle Regionen des Transplantats vor. Auch in der allogenen Gruppe kam es besonders peripher, in geringerem Maße aber auch intermediär zu einem zunehmenden Zellgehalt, zellarme bzw. azelluläre Bezirke waren aber zum Teil intermediär und vor allem zentral noch vorhanden. Die Kollagenstruktur stellte sich in beiden Gruppen zunehmend geordneter dar. Eine fortschreitende Repopulation der Transplantate fand also in beiden Gruppen, bei den allogenen Transplantaten aber in geringerem Maße als bei den autologen statt. Auch dies konnte in verschiedenen Studien bereits beobachtet werden (Jaskulka et al., 1997). Arnoczky et al. und Drez et al. fanden bei ihren allogenen BPTB Transplantaten ebenfalls eine fortschreitende Repopulation mit mesenchymalen Zellen von 8 nach 12 Wochen (Arnoczky et al., 1986; Drez et al., 1991b).

Unterhauser fand in seiner Studie mit autologen Transplantaten am gleichen Tiermodell den höchsten Zellgehalt zum 6-Wochenzeitpunkt, mit rückläufiger Tendenz bis zum 12-Wochenzeitpunkt, wobei der Zellgehalt seiner Transplantate weiter signifikant höher war als bei den Kontrollgruppen. Dabei wurde in seiner Studie mit einer anatomischen Verankerung gearbeitet, dies könnte den schnelleren Verlauf der zellulären Veränderungen erklären (Unterhauser et al., 2003).

Zum 52-Wochenzeitpunkt war auch in den allogenen Transplantaten überwiegend eine gleichmäßige Zellverteilung zu finden, Umbauprozesse schienen aber noch nicht komplett

abgeschlossen zu sein, da zum Teil noch azelluläre neben hyperzellulären Bezirken zu finden waren. Die autologen Transplantate zeigten eine dem nativen VKB entsprechende Zellularität, wobei die Zellkerne kleiner als bei den nativen Präparaten erschienen. Ähnliche Beobachtungen bezüglich der Zellverteilung machten auch Jaskulka et al. 1997 in einer Studie am Schaf, und schlussfolgerten daraus auf einen noch nicht komplett abgeschlossenen Reifungsprozeß bei den allogenen Transplantaten (Jaskulka et al., 1997). Auch Malinin et al. fanden 2 Jahre post operationem noch azelluläre Bezirke in allogenen Transplantaten des Menschen vor (Malinin et al., 2002). Jackson et al. machten ähnliche Beobachtungen, wobei sie auch Entzündungsreaktionen bei den allogenen Transplantaten beobachteten, die sich störend auf ablaufende Umbauprozesse ausgewirkt haben könnten und diese hätten verzögern können (Jackson et al., 1993). Andere Studien hingegen fanden zum 52-Wochenzeitpunkt keine Unterschiede der zellulären Struktur autologer und allogener Transplantate (Clancy et al., 1981; Arnoczky et al., 1986; Nagano et al., 1997).

Grundsätzlich ist zu erwähnen, dass in dieser Untersuchung zu keinem Zeitpunkt Hinweise auf überschießende Entzündungsreaktionen wie das Auftreten von Fremdkörperriesenzellen oder das gehäufte Auftreten anderer Entzündungszellen zu finden waren. Limitierend ist aber zu erwähnen, dass die Untersuchungen nur mit Übersichtsfärbungen erfolgten, eine differenzierte Anfärbung mit immunhistochemischen Methoden zur Detektion von zum Beispiel CD4 oder CD8 positiven Zellen wurde zwar in Erwägung gezogen, eine Umsetzung war jedoch aufgrund fehlender beim Schaf anwendbarer Antikörper nicht möglich.

5.3. Vergleich der Revaskularisierung der autologen und allogenen Transplantate

Es wurde deutlich, dass die Revaskularisierung der allogenen Transplantate verzögert beginnt und auch nach 52 Wochen noch nicht abgeschlossen ist.

Bei den autologen Transplantaten war zum 6-Wochenzeitpunkt eine deutliche Hypervaskularität im Vergleich zu den nativen Kontrollgruppen vorhanden, wobei zentrale Bereiche des Transplantates weite azelluläre und avaskuläre Bezirke beinhalteten. Umgeben waren die Transplantate von einer reich vaskularisierten, verdickten synovialen Membran, die auch in der Literatur immer wieder beschrieben wird (Arnoczky et al., 1982). Direkt nach der Transplantation erfolgt die Versorgung des ohne anhängende Gefäßversorgung transplantierten Gewebes über die Synovialis und den umgebenden Fettkörper. Außerdem sind diese Strukturen mit Ursprungsort der initial einsprossenden Gefäße (O'Donoghue et al.,

1966; Arnoczky et al., 1979; Benedetto und Klima, 1986; Sckell et al., 1999). Die beobachtete Hypervaskularität der das Transplantat umgebenden Gewebe entspricht den Beobachtungen anderer Studien (Clancy et al., 1981; Unterhauser et al., 2003) Im Vergleich zur allogenen Vergleichsgruppe waren deutlich mehr Gefäße vorhanden. Die Gefäßdichte der allogenen Transplantate lag zu diesem Zeitpunkt intermediär und zentral sogar unter dem der nativen Flexorsehne. Man kann also davon ausgehen, dass sich die allogenen Transplantate zum 6-Wochenzeitpunkt noch überwiegend in einer Phase der Nekrose und des Zellunterganges befanden, wobei schon dezent von peripher Gefäße einsprossen. Die autologen Transplantate hingegen zeigten schon deutliche Anzeichen einer bis in intermediäre Regionen des Transplantates reichenden Revaskularisierung. Dies fanden auch Arnoczky et al. in einer Studie am Hund. Die allogenen BPTB- Transplantate stellten sich bis zum Zeitpunkt von 8 Wochen avaskulär und nekrotisch dar und waren von einer reich vaskularisierten Hülle umgeben (Arnoczky et al., 1982). Auch Drez et al. fanden in einer Studie an der Ziege zum 6-Wochenzeitpunkt bei allogenen Patellarsehnentransplantaten dezente Revaskularisierung in der Peripherie bei zentral dominierender Avaskularität und Azellularität (Drez et al., 1991b). Shino et al. fanden bei der mikroangiographischen Untersuchung eines freien Sehnen transplantates am Hund deutliche Gefäßeinsprossung ausgehend vom infrapatellären Fett und der synovialen Deckschicht, bei geringer Vaskularität in zentralen Bereichen (Shino et al., 1984; Shino, 1991 ; Shino und Horibe, 1991).

In der vorliegenden Studie kam es nun in beiden Gruppen in den meisten Regionen zu einem Anstieg des Gefäßgehaltes von 6 nach 12 Wochen. Auch dies konnte in diversen anderen Studien beobachtet werden (Shino et al., 1984; Arnoczky et al., 1986; Drez et al., 1991b; Fromm et al., 1996). Die autologen Transplantate wiesen zum 12- Wochenzeitpunkt auch im zentralen Bereich eine Hypervaskularität auf, man kann also davon ausgehen, dass die Revaskularisierung alle Regionen des Transplantates erreicht hatte. Die allogenen Transplantate zeigten weiterhin eine gegenüber den autologen Transplantaten verminderten Gefäßgehalt in allen Regionen, in der zentralen Region lag der Gefäßgehalt im Median sogar weiterhin unter dem der nativen Flexorsehne. Insgesamt zeigten die allogenen Transplantate von 6 nach 12 Wochen subsynovial und intermediär aber eine stärkere Zunahme der Gefäßdichte als die autologen Transplantate, so dass man in diesem Zeitraum bei den allogenen Transplantaten von einem stärkeren Fortschreiten der Revaskularisierung und einem intensiveren Einwachsen von Gefäßen bis in intermediäre Bereiche der Transplantate sprechen kann. Auch Shino et al. fanden in ihrer Studie eine deutlich stärkere Vaskularisierung der 15-Wochenpräparate im Vergleich zu den 6-Wochenpräparaten (Shino et al., 1984).

Zentrale Bereiche schienen aber weiter nicht komplett in die Revaskularisierung miteinbezogen zu sein. Ähnliche Beobachtungen machten Zhang et al. 2003, die initial zwar langsamere Umbauprozesse bei den allogenen Transplantaten beobachteten, zum 12-Wochenzeitpunkt aber nur noch geringe Unterschiede zwischen autolog und allogenen fanden (Zhang et al., 2003).

Bis zum 52-Wochenzeitpunkt kam es nun in der autologen Gruppe zu einer Normalisierung des Gefäßgehaltes im Sinne eines Rückganges der Gefäßzahl in allen Regionen, der Gefäßgehalt lag aber weiter deutlich über dem des nativen VKB's. Bei den allogenen Transplantaten fand dagegen bis zum 52-Wochenzeitpunkt ein deutlicher weiterer Anstieg der Gefäßzahl in allen Regionen statt, wobei die zentrale Region der Transplantate nur knapp die Gefäßdichte des nativen Kreuzbandes überschritt, weiter unter der Dichte der nativen Flexorsehne lag und bei Weitem nicht den maximalen Gefäßstatus der autologen Transplantate erreichte. Die Revaskularisierung der allogenen Transplantate hatte zum 52-Wochenzeitpunkt also erstmals zentrale Regionen erreicht, aufgrund der zunehmenden Gefäßzahl muss man aber davon ausgehen, dass sie noch nicht abgeschlossen war. Gleiche Beobachtungen machten Gorschewsky et al. 2002 in einer Studie am Menschen. Sie fanden bis zu 13 Monate post operationem eine deutliche Hypervaskularität verbunden mit schlechteren mechanischen Eigenschaften (Gorschewsky et al., 2002).

Demgegenüber stehen Beobachtungen anderer tierexperimenteller Untersuchungen, in denen die Revaskularisierung allogener Transplantate zum Teil schon nach 6 Monaten abgeschlossen war und die Gefäßverteilung der des nativen VKB's entsprach (Arnoczky et al., 1986; Drez et al., 1991b; Fromm et al., 1996). Diese Studien beschäftigten sich aber zum einen mit Knochen- Sehnen-Transplantaten, zum anderen erfolgten ausschließlich qualitative Untersuchungen. Shino et al. fanden in einer tierexperimentellen Studie am freien Patellarsehnen-Transplantat ebenfalls einen Rückgang der Vaskularität von 15 nach 52 Wochen und beschrieben ein dem nativen VKB gleichendes Gefäßmuster zum 52-Wochenzeitpunkt. In einer klinischen Studie am Menschen mittels Dopplerflowmetry fanden sie zwar initial zum 6-Monatszeitpunkt einen erhöhten Blutfluß, anschließend ging dieser aber zurück, obwohl sich bis 18 Monate post operationem noch Werte über dem Blutfluss des nativen VKB's fanden. Die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant und Shino et al. schlussfolgerten, dass die freien allogenen Sehnen-Transplantate eine Durchblutung dem nativen VKB entsprechend erreicht hätten. Dabei fanden sie jedoch eine persistierende Hyperzellularität, und erst 18 Monate post operationem erreichten die allogenen Transplantate

histologisch einen Zellgehalt und ein Kollagenmuster dem nativen VKB entsprechend (Shino et al., 1991).

Die Unterschiede zu unseren Ergebnissen sind zum einen durch unterschiedlich sensitive Untersuchungsmethoden, zum anderen aber auch durch die unterschiedlichen Tiermodelle zu erklären. Insgesamt muss man sagen, dass in den genannten Studien außer in der Studie von Shino et al. 1991 rein deskriptiv untersucht wurde und keine Auszählung der Gefäße stattfand. Dabei hat sich auch in der vorliegenden Studie gezeigt, dass sich Beobachtungen in der deskriptiven Auswertung zum Teil bei der quantitativen Untersuchung anders darstellten. So erschien in den mit Standardfärbungen bearbeiteten Proben der Gefäßgehalt der autologen 6-Wochentiere zum Teil sehr viel geringer als die Ergebnisse der genauen Auszählung nach Anfärbung mit Faktor VIII ergaben. Bei den Betrachtungen ist zu berücksichtigen, dass auch der Gefäßgehalt der autologen Transplantate in dieser Studie zum 52-Wochenzeitpunkt noch nicht auf den Status des nativen VKB's zurückgegangen ist. Dies widerspricht besonders der aufgrund der Anwendung desselben Nachweisverfahrens mit dieser Studie gut vergleichbaren Studie von Unterhauser 2003, der bereits 24 Wochen post operationem einen Zell- und Gefäßgehalt dem nativen VKB entsprechend beobachten konnte (Unterhauser et al., 2003).

Trotz der Unterschiede konnte in der vorliegenden Studie eindeutig ein verzögert ablaufender Remodellingprozeß der allogenen Transplantate gezeigt werden. Die gewählten Standzeiten waren zur Darstellung der verschiedenen Remodellingphasen wie sie in der aktuellen Literatur beschreiben werden geeignet. So konnte die Revaskularisierung der Transplantate beginnend von ihrer frühen kapillären Phase von peripher nach zentral fortschreitend und ein Rückgang der Gefäßdichte bei den autologen Transplantaten bis zum 52-Wochenzeitpunkt, wie in der Literatur beschrieben, nachgewiesen werden. Da der Remodellingprozeß der allogenen Transplantate zum 52-Wochenzeitpunkt jedoch noch nicht abgeschlossen war, wären weitere Studien mit einer Dauer von beispielsweise 104 Wochen durchaus sinnvoll.

5.4. Weitere Ergebnisse diese Projektes

Wie schon erwähnt wurden im Rahmen dieses Projektes separate Arbeiten anderer Autoren/-innen angefertigt. Dabei ging es zum einen um weitere Teilaspekte des ligamentären Remodellings, wobei sowohl zelluläre als auch strukturelle Veränderungen deskriptiv und quantitativ erfasst wurden, zum Anderen um die Einheilung der Transplantate im Knochentunnel sowie um biomechanische Aspekte.

Die Untersuchungen der Zellzahl ergab eine signifikant geringere Zelldichte der allogenen gegenüber den autologen Transplantaten zum 6-Wochenzeitpunkt, zum 12-Wochenzeitpunkt fanden sich jedoch keine Unterschiede mehr zwischen den beiden Gruppen. Dabei basieren die unterschiedlichen Ergebnisse zum 12- Wochenzeitpunkt gegenüber den Verhältnissen, die in der vorliegenden Arbeit beschrieben wurden, darauf, dass in der vorliegenden Arbeit eine rein deskriptive und qualitative Untersuchung der Zellzahl durchgeführt wurde. In der Dissertation von Herrn Dustmann fand hingegen eine quantitative Auswertung statt.

Bis zum 52-Wochenzeitpunkt fand in beiden Gruppen eine Angleichung in Richtung Zellzahl des nativen VKB, ohne diese zu erreichen, statt. In einer weiteren Untersuchung konnten Myofibroblasten als wichtige Zellen im aktiven Remodellingprozeß in beiden Gruppen nachgewiesen werden (Dissertation Moritz Dustmann).

Die Untersuchungen der Knochen- Bandheilung ergaben, dass die allogenen Transplantate zum 6- und 12-Wochenzeitpunkt eine verzögerte Knochen- Bandheilung aufwiesen. Nach 1 Jahr zeigten beide Gruppen vergleichbare histologische Erscheinungsbilder im Bereich der Knochen-Bandinsertion (Dissertation Judith Keil).

Die biomechanischen Untersuchungen zur maximalen Versagenslast und Steifigkeit des Transplantats ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen zum 6- und 12- Wochenzeitpunkt, während nach 1 Jahr die biomechanischen Eigenschaften der autologen Transplantate signifikant höher waren als die der allogenen Transplantate. In beiden Gruppen lagen die Werte zu jedem Zeitpunkt unter den Werten nativer VKB's (Dissertation Insa Gangrey).

Diese Ergebnisse unterstreichen die Tatsache, dass die allogenen Transplantate sowohl initial einer verzögerte Knochen-Bandheilung unterliegen und gleichzeitig ein verzögertes, nach einem Jahr noch nicht abgeschlossenes Remodelling zeigen. Dies erklärt die verminderten mechanischen Eigenschaften der allogenen gegenüber den autologen Transplantaten zum 52-Wochenzeitpunkt.

5.5. Schlußfolgerungen

Die in dieser Studie beobachtete verzögerte Revaskularisierung allogener freier Sehnentransplantate könnte eine Erklärung für häufig beobachtete Transplantatversager und zum Teil schlechtere biomechanische Ergebnisse allogener Transplantate sein (Jackson et al., 1993; Kirkpatrick et al., 1996; Gorschewsky et al., 2002; Siebold et al., 2002b). Dabei muss

bedacht werden, dass die mechanischen Eigenschaften des Bandes sowohl initial in der Nekrosephase durch ablaufende degenerative Prozesse als auch in der folgenden Phase durch eine bestehende Hypervaskularität geschwächt sind (Bosch et al., 1990). Durch das massive Einwachsen von Gefäßen kommt es zu einer Auflockerung des Bandgewebes und damit zu verminderten mechanischen Eigenschaften. Kommt es nun verzögert zur Revaskularisierung und zu einer länger bestehenden Hypervaskularität bei allogenen Transplantaten, muss dies in Bezug auf die Rehabilitation und den Zeitpunkt bis zur vollen sportlichen Belastung berücksichtigt werden, da sonst ein erhöhtes Risiko für ein Transplantatversagen besteht. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass es zu einer Revaskularisierung der allogenen Transplantate ähnlich dem der autologen Transplantate kommt, diese aber verzögert stattfindet und zum Zeitpunkt von einem Jahr noch nicht abgeschlossen ist.

Ein weniger aggressives Rehabilitationsmanagement mit verzögerter voller Belastungsaufnahme und längerem Schutz vor Spitzenbelastungen erscheint bei der Verwendung allogener Transplantate zum Ersatz des VKB aufgrund der nachgewiesenen Verzögerung der Revaskularisierung und der zelluläreren Umbauprozesse als sinnvoll. Trotzdem stellen allogene Transplantate aufgrund der gegenüber autologen Transplantaten verringerten Entnahmemorbidität, besseren Dimensionierungsmöglichkeiten und kürzeren OP-Zeiten auch bei Primäreingriffen eine gute Möglichkeit zum Kreuzbandersatz dar. Dies zeigen auch diverse neuere klinische Studien, die keine unterschiedlichen Ergebnisse klinischer Parameter autologer und allogener freier und Knochen-Sehnentransplantate darstellen konnten (Indelli et al., 2004; Kustos et al., 2004).

Grundsätzlich ist anzumerken, dass in verschiedenen Studien Hinweise auf unterschiedliche Remodellingprozesse bei Mensch und Tier gefunden wurden. So scheint das in tierexperimentellen Studien wie auch in der vorliegenden häufig gefundene massive Absinken der mechanischen Eigenschaften der Transplantate während der frühen Remodellingphasen beim Menschen nicht so stark aufzutreten. Ursache dafür könnten unter anderem die geringere Präzision der rekonstruktiven Verfahren, aber auch die fehlende Möglichkeit einer gezielten Rehabilitation sein (Weiler et al., 2001).