
Aus dem Institut für Anatomie und Zellbiologie der Ludwig- Maximilians- Universität
München,
Kommissarischer Vorstand: Prof. Dr. med. L.J. Wurzinger

Die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix der
Sehnen- und Bandansätze am Os pisiforme

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig- Maximilians- Universität zu München

vorgelegt von
Christopher Adamczyk
aus
München
2008

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Steffan Milz

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Martin Kreis
Prof. Dr. Peter Müller

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Maximilian Reiser

Tag der mündlichen Prüfung: 09.10.2008

Ich widme diese Arbeit meinem verstorbenen Vater Dr. Rainer Adamczyk. Er hat die Grundlage für mein Interesse an der wissenschaftlichen Betrachtungsweise des Menschen gelegt.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung.....	5
1.1 Funktionelle Anpassung der Binde- und Stützgewebe	5
1.2 Anatomische Situation.....	6
1.3 Biomechanische Übersicht.....	9
1.4 Die Enthese	9
1.5 Fragestellung.....	11
2 Material und Methode.....	12
2.1 Material	12
2.2 Methode	13
2.2.1 Präparatentnahme	13
2.2.2 Herstellung der Gefrierschnitte.....	14
2.2.3 Immunhistochemische Markierung.....	14
2.2.4 Färbung mit Toluidinblau.....	17
2.2.5 Zonale Einteilung und mikroskopische Auswertung	17
3 Ergebnisse	18
3.1 Histologische Ergebnisse	18
3.1.1 Färbungen mit Toluidinblau.....	18
3.1.2 Kollagene	19
3.1.3 Glykosaminoglykane	32
3.1.4 Proteoglykane und Glykoproteine	44
3.2 Morphometrische Messungen	65
4 Diskussion	67
4.1 Wertigkeit der Methodik.....	67
4.1.1 Präparatentnahme und Vorbereitung.....	67
4.1.2 Immunhistochemische Färbung	68
4.2 Diskussion der Ergebnisse	69
4.2.1 Histologische Ergebnisse	69
4.2.2 Morphometrische Ergebnisse.....	74
4.3 Diskussion der klinischen Relevanz	81
5 Zusammenfassung.....	83
6 Literaturverzeichnis	84
7 Lebenslauf.....	95

1 Einleitung

1.1 Funktionelle Anpassung der Binde- und Stützgewebe

Die Idee der funktionellen Anpassung von Geweben an die mechanische Beanspruchung ist Grundlage einer Vielzahl von Untersuchungen am knöchernen und knorpeligen Anteil des passiven Bewegungsapparates. Der Leitsatz „Form follows function“ fasst schlagwortartig wesentliche Inhalte der Theorien von Wolff („Wolff'sche Gesetz“, 1884, 1892) und Pauwels („kausale Histogenese“, 1960) zusammen.

In jüngster Zeit gibt es eine Reihe von Arbeiten, die sich ausschließlich mit der funktionellen Anpassung straffer Bindegewebe an bestimmte mechanische Belastungssituationen beschäftigt hat. Sehnen und Bänder stehen dabei im Mittelpunkt des Interesses. Sehnen sind im Wesentlichen an der Übertragung von Muskelkräften (Zugkräften) auf Skelettelemente beteiligt. Interessant sind dabei vor allem jedoch die Regionen, auf welche nicht nur Zugbeanspruchungen ausgeübt werden, sondern auch bedingt durch anatomische Gegebenheiten lokal Druckbeanspruchungen einwirken. In solchen Regionen zeigt sich ein sog. sesamoider Faserknorpel (Benjamin et al. 1995, Benjamin & Ralphs 1998, Milz et al. 1998, 1999, 2001, Tischer et al. 2002, Milz et al. 2005).

Anpassungsreaktionen dieser Art wurden jedoch nicht nur in offensichtlich druckbeanspruchten Bereichen von Sehnen und Bändern gefunden, sondern auch in einer Reihe von Sehnen- und Bandansätzen. Dabei handelt es sich um solche Ansätze von Sehnen und Bändern, bei denen auf Grund der Kinematik des nachgeschalteten Gelenkes Scherkräfte auf die Anheftungszone (die sog. Enthesis) wirken (Boszczyk et al. 2003, Milz et al. 2005).

Offen ist bisher, ob eine direkte Beziehung zwischen der Größe der spezialisierten Anheftungszone und der mechanischen Beanspruchung besteht und inwieweit die Geometrie der Kollagenfasereinstrahlung ebenfalls eine Rolle spielt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, einen Teil des menschlichen Bewegungsapparates zu untersuchen, der Aussagen zu diesen noch offenen Fragen ermöglicht. Dazu ist zunächst eine anatomische Einheit zu identifizieren, welche zwar der gleichen

einwirkenden Kraft ausgesetzt ist, diese aber über zwei sehr unterschiedliche Anheftungsstellen weiterleitet.

1.2 Anatomische Situation

Das Os pisiforme ist von seiner Größe her einer Erbse vergleichbar und der kleinste Teil der proximalen Reihe der Handwurzelknochen. Es hat eine kugelige Form mit einer planen, bis leicht konkaven Fläche von ungefähr 1x1 cm, der sog. Facies articularis. Über diese artikuliert das Os pisiforme mit der Gelenkfläche des Os triquetrum in der Articulatio ossis pisiformis. Dabei handelt es sich um ein flaches Gelenk mit zwei Freiheitsgraden.

Das Os pisiforme ist eng mit der Sehne des M. flexor carpi ulnaris verbunden und somit der einzige Knochen der Handwurzel, der einen Sehnenansatz eines Unterarmmuskels aufweist. Der M. flexor carpi ulnaris hat seinen Ursprung sowohl am medialen Epicondylus des Humerus wie auch am Caput ulnae. Seine Sehne setzt an der distalen Hälfte des Os pisiforme an und umschließt dieses dabei fast zur Hälfte. Die Kraft des Muskels wird über zwei weitere Bandzüge, das Lig. pisohamatum und das Lig. pisometacarpale sowohl auf die distale Reihe des Carpus, wie auch auf die Mittelhand übertragen. Die beiden Bänder bilden dabei ein V mit einem Winkel von 45°.

Einleitung

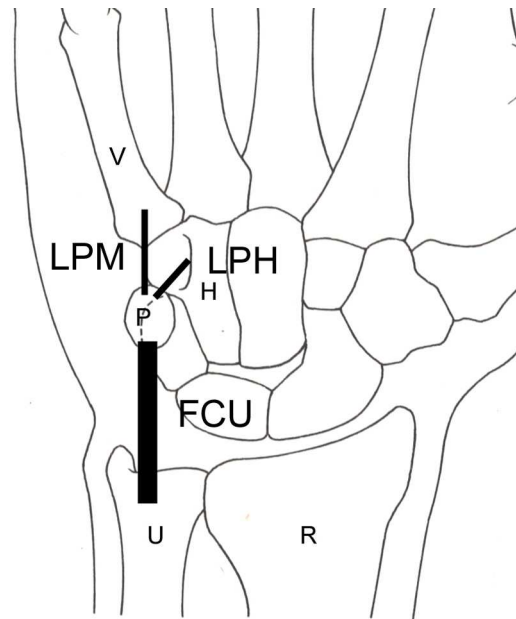


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Einbettung des Os pisiforme in das Zugsystem des M. flexor carpi ulnaris, U= Ulna, R= Radius, P= Os pisiforme, H= Os hamatum, V= Os metacarpale V, FCU= Tendo m. flexoris carpi ulnaris, LPH= Lig. pisohamatum, LPM= Lig. pisometacarpale

Neben diesen besonders kräftigen Strukturen sind am Os pisiforme noch verschiedene andere kleinere Faserzüge befestigt. Dazu gehören die Ursprungssehnen des M. abductor digiti minimi, das Retinaculum flexorum, das Retinaculum extensorum, Bandzüge des Lig. collaterale carpi ulnare, Bandzüge des Retinaculum musculorum flexorum, sowie die distalen Ausläufer des ulnokarpalen Diskus (ulno-karpaler Komplex) (Taleisnik 1985, Schmidt und Lanz 1992, Beckers et al. 1996). Paley et al. (1987) vergleichen das Os pisiforme mit einer Radnabe, von der die fibrösen Befestigungen wie Speichen in alle Richtungen ziehen. Sie halten den Knochen mit seiner flachen Gelenkfläche gering verschieblich auf dem Os triquetrum.

Die Verknöcherung des Os pisiforme beginnt im Alter von 8 Jahren mit multiplen Knochenkernen und ist im Alter von 12 Jahren abgeschlossen (Harris 1944, Michelson 1945). Das Verknöcherungsmuster ist damit dem eines anderen Sesambeines vergleichbar, nämlich dem der Patella. Diese verknöchert auch aus verschiedenen Kernen heraus. Dies erfolgt jedoch schon im Alter von 4-5 Jahren (Olbrich 1948/50, Lang und Wachsmuth 1972).

Zudem ist das Os pisiforme an der Begrenzung der Guyon'schen Loge beteiligt. Es schafft dabei Raum für den Durchtritt des Ramus palmaris des N. ulnaris sowie der A. ulnaris (Schmidt und Lanz 1992, Beckers et al. 1996).

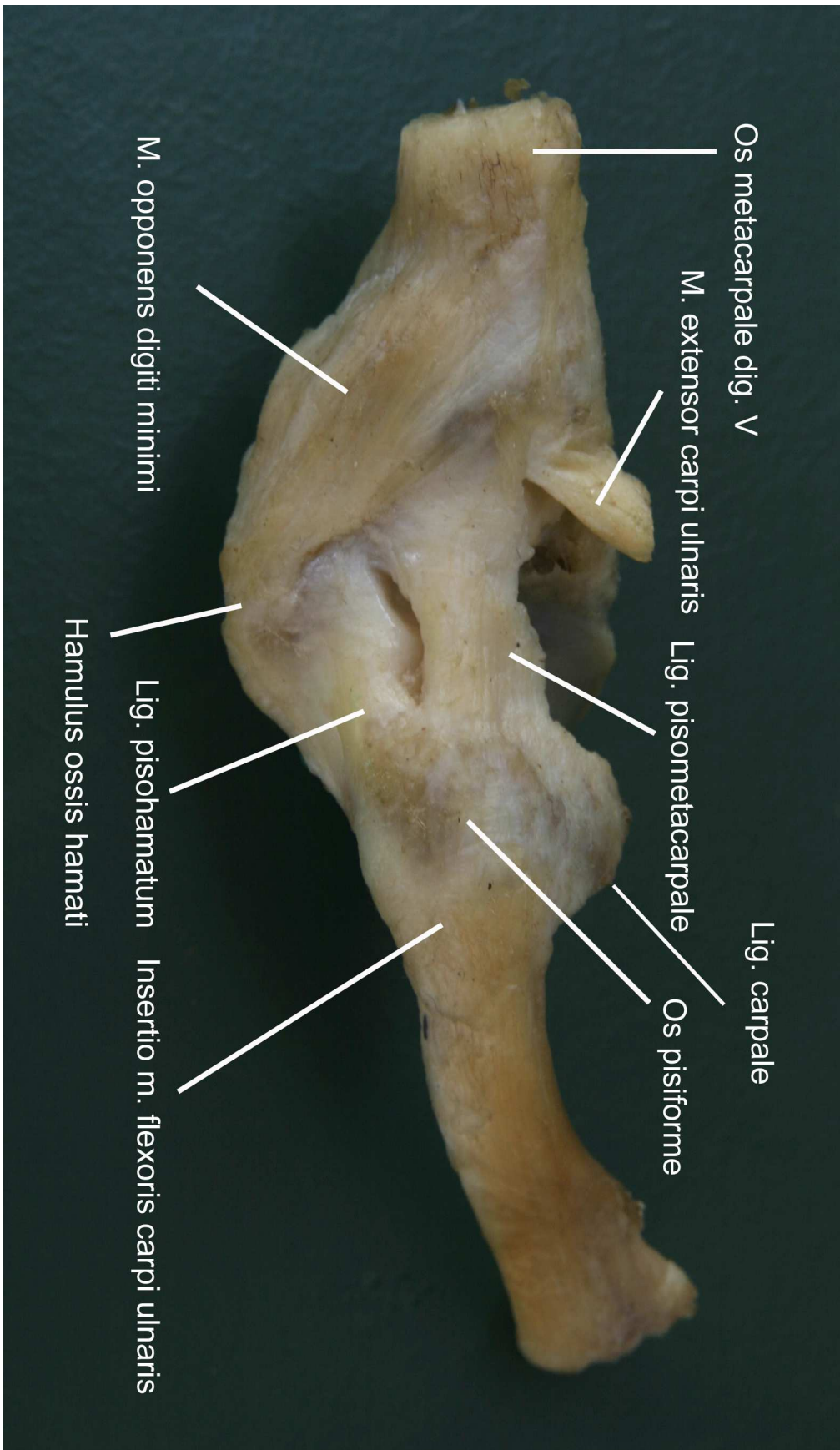


Abbildung 2: Anatomisches Übersichtspräparat des Pisiformestern

1.3 Biomechanische Übersicht

Hinsichtlich der Funktion des Os pisiforme gibt es in der Literatur zwei unterschiedliche Sichtweisen. Zum einen wird das Os pisiforme in der anatomischen Literatur als ein Sesambein und Hypomochlion beschrieben, funktionell vergleichbar der Patella im Kniegelenk (Paley et al. 1987, Pevny et al. 1995). Zum anderen beschreiben Beckers et al. (1996) aber auch eine Leitfunktion des Os pisiforme für das Os triquetrum bei Bewegung und damit eine stabilisierende Stützfunktion des Os pisiforme für die gesamten karpalen Handwurzelknochen.

In der vorliegenden Arbeit soll in erster Linie auf die Funktion des Os pisiforme als Hypomochlion eingegangen werden. Hypomochlia sind Strukturen (z.B. Knochenpunkte oder Retinacula), welche die Verlaufsrichtung einer Sehne oder eines Bandes verändern. Dadurch wirken sie als Dreh- und Stützpunkte. Durch die Änderung des Verlaufs der Sehne / des Bandes wird für bestimmte Bewegungen der Hebelarm und somit die resultierende Muskelkraft vergrößert (Drenckahn 2003).

Im untersuchten Os pisiforme wird nicht nur der Verlaufswinkel der ansetzenden Muskelsehne verändert, sondern auch die wirkende Kraft auf zwei Bandzüge verteilt, auf das Lig. pisohamatum und auf das Lig. pisometacarpale. In neutraler Stellung der Hand verläuft das Lig. pisometacarpale in Zugrichtung der Sehne des M. flexor carpi ulnaris, das Lig. pisohamatum mit einem Winkel von 45° schräg zu dieser (Abbildung 1).

Bei der Bewegung der Hand gleitet das Os pisiforme in proximal - distaler, sowie ulnoradialer Richtung auf der Gelenkfläche des Os triquetrum. Die Verschieblichkeit wird durch die mit einer Radnabe vergleichbare Aufhängung des Knochens eingeschränkt.

1.4 Die Enthesis

Der besondere Schwerpunkt dieser Untersuchung gilt der Histologie der Sehnen- und Bandansätze. An jeder der beteiligten Insertionen findet sich eine besondere mechanische Situation. Diese ist bestimmt von den unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften der beteiligten Gewebe. An dieser Stelle ist relativ weiches Sehngewebe mit relativ hartem Knochengewebe verbunden. Die Aufgabe der Insertionszone (Enthesis) ist nun, diese unterschiedlichen Eigenschaften einander

Einleitung

anzugleichen und dabei lokale Spitzenbeanspruchungen zu verringern, die ansonsten zwangsläufig an solchen Grenzflächen auftreten würden (Milz 2002).

Entsprechend dem morphologischen Erscheinungsbild lassen sich grundsätzlich zwei Arten von Insertionen unterscheiden: faserige und faserknorpelige (Benjamin & Ralphs 1997, 1998). Faserige Insertionen werden mit dem Vorhandensein einer reinen Zugbelastung an dieser Stelle in Verbindung gebracht, faserknorpelige Zonen im Bereich der Enthese dagegen werden als Ausdruck der Anpassung an lokal vorhandene Scher- und daraus resultierende Druckkräfte gesehen. Scherkräfte sind typisch für Sehnenanheftungen, die, bedingt durch die Kinematik des zu bewegendes Gelenkes, große Veränderungen des Insertionswinkels erfahren. Die Differenzierung zu Faserknorpel ermöglicht es der Sehne / dem Band, auf Dauer einer Kombination aus Zug- und lokaler Druckbeanspruchung zu widerstehen. Faserknorpelgewebe lässt sich histologisch vom übrigen Sehnen- und Knochengewebe abgrenzen und weist eine charakteristische molekulare Zusammensetzung auf.

Die extrazelluläre Matrix mit ihrer speziellen molekularen Zusammensetzung trägt wesentlich zu den mechanischen Eigenschaften des Gewebes bei. Die extrazelluläre Matrix im Bereich einer faserknorpeligen Enthese enthält Moleküle, welche typischerweise Bestandteile auch des hyalinen Knorpels darstellen. Charakteristisch sind beispielsweise Glykosaminoglykane wie Chondroitin-6-sulfat, Proteoglykane wie Aggrecan, oder Kollagen Typ II. Diese Moleküle tragen unter anderem dazu bei, dass derartige Gewebe eine hohe Wasserbindungskapazität besitzen (Benjamin et al. 1995, Benjamin & Ralphs 1997; Vogel 1995, Berenson et al. 1996). Die Ausdehnung und die Zusammensetzung einer Enthese region lassen sich durch das lokal unterschiedliche Vorkommen der verschiedenen Moleküle daher relativ genau erfassen.

1.5 Fragestellung

Es ist das Ziel der vorliegenden Untersuchung, die Verteilung der Kollagene, Glykosaminoglykane und Proteoglykane sowie anderer Moleküle in der extrazellulären Matrix der Sehne des M. flexor carpi ulnaris sowie des Lig. pisohamatum und des Lig. pisometacarpale zu bestimmen. Besonderes Interesse gilt dabei der Zusammensetzung der Anheftungszone am Knochen und hier insbesondere am Os pisiforme. Auf Grund der anatomischen Situation wird hier eine Kraft auf zwei Bandzüge verteilt. Durch den unterschiedlichen Winkel der Bandzüge zur Zugrichtung des Muskels ist zu erwarten, dass deren Anheftungszone unterschiedlich beansprucht werden. Anhand der regionalen Verteilung der verschiedenen Bestandteile der extrazellulären Matrix soll nun versucht werden, das Ausmaß der lokalen Druckbeanspruchung an den beteiligten Sehnen- / Bandansätzen gegeneinander abzuschätzen.

Zu diesem Zweck werden im Einzelnen folgende Untersuchungen der extrazellulären Matrix in den verschiedenen Anheftungszone durchgeführt:

1. Bestimmung der Verteilung der Kollagene
2. Bestimmung der Verteilung der Glykosaminoglykane
3. Bestimmung der Verteilung der Proteoglykane sowie weiterer Matrixproteine
4. Vermessung der Kollagen - Typ II - positiven Gewebestellen
(Flächenmessung)

2 Material und Methode

2.1 Material

Elf Pisiforme-Komplexe von unterschiedlichen Individuen sind untersucht worden. Diese wurden bis max. 48 Stunden post mortem von Donatoren der Anatomischen Anstalt der LMU- München entnommen. Bei den Donatoren handelt es sich um 6 Frauen und 5 Männer, verstorben im Alter zwischen 67- 95 Jahren. Tabelle 1 zeigt eine Übersicht über die Geschlechtsverteilung und die in der Todesbescheinigung (Totenschein) angegebene Todesursache. Für die Untersuchung wurden nur Präparate verwendet, die makroskopisch unversehrt waren, d.h. keine größere pathologische Veränderung aufwiesen.

Präparat- nummer	Alter in Jahren	Geschlecht	Größe in cm	Im Totenschein angegebene Todesursache
1	84 Jahre	m	168	Kammerflimmern
2	78 Jahre	m	168	akuter Myokardinfarkt
3	67 Jahre	m	162	HerzKreislaufversagen bei Dünndarmileus
4	76 Jahre	m	164	
5	71 Jahre	w	157	Hirnfarkt
6	81 Jahre	w	152	HerzKreislaufstillstand
7	84 Jahre	w	164	
8	81 Jahre	w	158	Herzstillstand
9	70 Jahre	m	170	Herzinfarkt
10	95 Jahre	w	158	akutes cerebrales Ereignis
11	76 Jahre	w	164	Sepsis bei HWI
	Durchschnitt 78,46 Jahre	6 w/ 5 m		

Tabelle 1: Biometrische Daten der Donatoren und, soweit bekannt, ihrer Todesursache.

2.2 Methode

2.2.1 Präparatentnahme

Die ulnare Hälfte des Carpus, bestehend aus der proximalen und der distalen Reihe der Handwurzelknochen, sowie das Os metacarpale V wurde als Block entnommen und zur weiteren Verarbeitung mindestens 48 Stunden in 90% Methanol bei 4°C fixiert. Durch präparatorische Entfernung des Weichteilgewebes sowie der für die geplante Untersuchung hinderlichen knöchernen Strukturen wurde ein Präparat erstellt, das im Folgenden als „Pisiformestern“ bezeichnet wird. Es besteht aus dem distalen Teil der Sehne des M. flexor carpi ulnaris mit ihrem Ansatz am Os pisiforme, dem Os pisiforme sowie dessen Bandverbindungen, dem Lig. pisohamatum mit dem Ansatz am Hamulus ossis hamati und dem Lig. pisometacarpale mit dem Ansatz an der proximalen Basis des Os metacarpale V. Zur weiteren Bearbeitung wurde der Pisiformestern in drei Fragmente (A,B,C) wie folgt unterteilt (Abbildung 3):

- Fragment A: Distale Sehne des M. flexor carpi ulnaris, mit ihrem Ansatz am Os pisiforme
- Fragment B: Lig. pisohamatum mit seiner proximalen Enthese am Os pisiforme und seiner distalen Enthese am Hamulus des Os hamati
- Fragment C: Lig. pisometacarpale mit der proximalen Enthese am Os pisiforme und der distalen Enthese an der Basis des Os metacarpale V

Die Lagerung bis zur endgültigen Bearbeitung erfolgte im fixierten Zustand in Methanol bei -20°C.

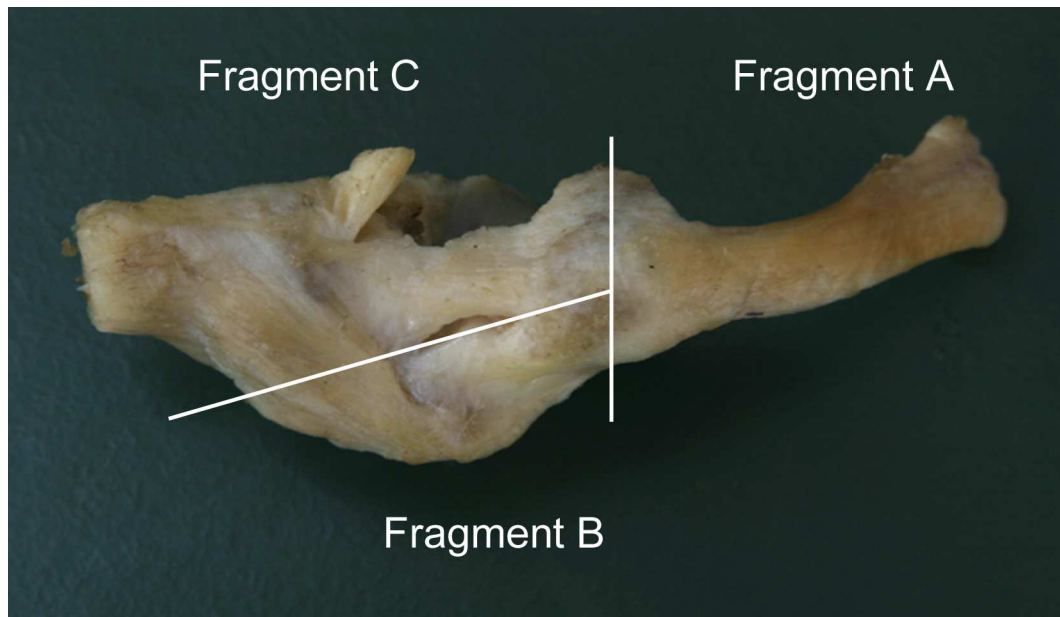


Abbildung 3: Einteilung der Fragmente

2.2.2 Herstellung der Gefrierschnitte

Zur Vorbereitung der Mikrotomschnitte wurden die Fragmente in 5% EDTA ca. 30 Tage entkalkt. Im Anschluss daran wurden sie für 12 Stunden in 5% Saccharose-Lösung (gelöst in PBS) eingelegt, um ein möglichst gleichmäßiges Einfrieren der Präparate zu gewährleisten.

Die Gefrierschnitte wurden mit Hilfe eines Kryomikrotoms (Microm HM 500 OMV) angefertigt. Hierfür wurde das zu schneidende Fragment auf einen Objekthalter aufgebracht und mittels eines Gefriermediums (Jung tissue freezing medium) bei -22°C fixiert.

Nach Ausrichtung des Präparates erfolgten zunächst Trimmschnitte mit einer Dicke von $50\mu\text{m}$, bis die zu untersuchende Schicht der Anheftungszone erreicht war. Anschließend wurden Schnitte mit einer Dicke von $12\text{-}14\mu\text{m}$ angefertigt und auf einen Objektträger der Marke „Menzel Superfrost Plus“ aufgezogen. Die Lagerung der Schnitte bis zur weiteren Bearbeitung erfolgte bei -20°C .

2.2.3 Immunhistochemische Markierung

Von jeder Probe wurde zunächst eine Übersichtsfärbung mit Toluidinblau angefertigt, um die metachromatisch reagierenden Zonen nachzuweisen. In der immunhistochemischen Untersuchung wurden alle Proben mit Antikörpern gegen Kollagen Typ I, II, III, VI, die Glykosaminoglykane Chondroitin-6-sulfat, Chondroitin-

4-sulfat, Keratansulfat und Dermatansulfat, gegen die Proteoglykane Versican und Aggrecan, das Glykoprotein Tenascin, die Matrixproteine Link Protein, COMP (Cartilage Oligomeric Matrix Protein) und CMP (Cartilage Matrix Protein) markiert (Tabelle 2). Zur Kontrolle einer möglichen unspezifischen Markierung wurde entweder der Primärantikörper durch PBS oder Neurofilamentantikörper ersetzt.

Um die Bindung der Primärantikörper an den jeweiligen Epitopen zu ermöglichen, war zum Teil eine Vorbehandlung der Proben mit verschiedenen Enzymen (Hyaluronidase 1,5 U/ml, Chondroitinase AC und ABC, je 0,25 U/ml; Sigma) erforderlich. Die Schnitte, die für die Markierung mit Aggrecan und Link - Protein vorgesehen waren, wurden zuvor mittels eines Reduktionsschrittes mit 10 mM Dithiothreitol (Sigma) für zwei Stunden bei 37°C behandelt und im Anschluss mit 40 mM Iodoacetamid für eine Stunde bei 37°C alkylirt (Milz et al. 2002).

In einem weiteren Arbeitsschritt wurde eine unspezifische Bindung des sekundären Antikörpers durch die Verwendung eines geeigneten Blockadeserums (im vorliegenden Fall Pferdeserum, Verdünnung 1:20, Vector Labs., Burlingame, Ca., USA) minimiert. Um das Ausmaß der verbleibenden unspezifischen Bindung abschätzen zu können, wurden an allen Fragmenten Kontrollmarkierungen durchgeführt, bei denen entweder der primäre Antikörper weggelassen oder der Antikörper RT97 gegen Neurofilament verwendet wurde.

Mit Hilfe eines Avidin-Biotin-Peroxidase-Detektions-Kit (Vectastain ABC 'Elite', Vector Labs., Burlingame, Ca., USA) wurde nun der gebundene Primärantikörper nachgewiesen. Der verwendete biotinylierte Sekundärantikörper bindet am Fc-Fragment des primären Antikörpers und reagiert wiederum mit dem aufgetragenen Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex. In einem weiteren Nachweisschritt wird der zunächst farblose DAB-Monomer zu einem im Lichtmikroskop sichtbaren braunen, unlöslichen Niederschlag polymerisiert.

Um eine bessere Kontrastierung des Gewebes zu erzielen, wurde zuletzt noch eine Kerngegenfärbung mit Mayer's Hämatoxylin (30 Sekunden in Farblösung, danach Differenzierung in Leitungswasser) durchgeführt.

In einer aufsteigende Ethanolreihe (70%- 80%- 90%- 100% jeweils 2x) wurden die Schnitte dehydriert, in Xylol überführt und anschließend mit DPX unter Vermeidung von Lufteinschlüssen eingedeckt.

Material und Methode

Antigen	Antikörper (Klon-Bezeichnung)	Verdünnung	Enzym Vorbehandlung	Bezugsquelle	Referenz
Kollagen I	Col 1	1:2000	Hyal (1,5 U/ml) & ChABC (0,25 U/ml)	Sigma	Mayne 1988
Kollagen II	Col II	1:6	Hyal (1,5 U/ml) & ChABC (0,25 U/ml)	DSHB	Holmdahl et al. 1986
Kollagen III	FH7A	1:4000	Hyal (1,5 U/ml) & ChABC (0,25 U/ml)	Sigma	Olsen & Ninomiya 1993
Kollagen IV	5C6	1:10	Hyal (1,5 U/ml) & ChABC (0,25 U/ml)	DSHB	Hessle & Engvall 1984
Chondroitin-4-sulfat	2B6	1:1500	ChAC (0,25 U/ml)	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Chondroitin-4- & Dermatansulfat	2B6	1:1500	ChABC (0,25 U/ml)	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Chondroitin-6-sulfat	3B3	1:150	ChABC (0,25 U/ml)	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Keratansulfat	5D4	1:1500	keine	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Aggrecan	1C6	1: 5	ChAC (0,25 U/ml) nach Reduktion & Alkylierung	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Link Protein	8A4	1: 5	ChAC (0,25 U/ml) nach Reduktion & Alkylierung	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Versican	12C5	1: 5	ChAC (0,25 U/ml)	DSHB	Asher et al. 1991, 1995
Tenascin	T2H5	1: 100	keine	Serotec	Verstraeten et al. 1993
Cartilage Matrix Protein	CMP	1: 100	keine	M. Paulson	keine
Cartilage Oligomeric Matrix Protein	COMP	1: 20	keine	Serotec	keine
Fibromodulin	630D1	1: 10	keine	Kamiya	keine
Neurofilament	RT97	1: 10	keine	DSHB	Wood & Anderton 1981

Tabelle 2: Liste der für die Immunhistologie verwendeten Primärantikörper (alle monoklonal, aus der Maus gewonnen). ChAC - Chondroitinase AC, ChABC - Chondroitinase ABC, Hyal- Hyaluronidase, DSHB - Developmental Studies Hybridoma Bank der University of Iowa (USA)

2.2.4 Färbung mit Toluidinblau

Zur Herstellung der 1%ig Färbelösung wurde 1g Toluidinblau (C.I. Nr. 52040) und 1g Natriumtetraborat in 100 ml Aqua dest. gelöst. Mit dieser Lösung wurden die zu färbenden Schnitte für 3 Min. inkubiert. Anschließend erfolgte ein Differenzierungsschritt mit Leitungswasser für bis zu 120 Min. Nach Trocknung der gefärbten Präparate mit saugfähigem Filterpapier (Presstrocknung) erfolgte das Eindecken mit DPX.

2.2.5 Zonale Einteilung und mikroskopische Auswertung

Die Fragmente wurden jeweils in die Zonen T= Sehne, UF= nicht verkalkter Faserknorpel, CF= verkalkter Faserknorpel und B= Knochen eingeteilt. Zur Beurteilung der jeweiligen Fragmente und Zonen wurde ein Lichtmikroskop vom Typ Zeiss Axiophot verwendet. Dies war zur Erfassung der histologischen Bilder mit einer Digitalkamera (Zeiss AxioCam HRc) ausgestattet. Die Vermessung der jeweiligen Zonen wurde mit Hilfe der Bildbearbeitungssoftware Axiovision LE der Firma Zeiss durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Histologische Ergebnisse

3.1.1 Färbungen mit Toluidinblau

In allen Präparaten erscheinen die Sehnen des M. flexor carpi ulnaris und auch die Bänder des Lig. pisohamatum und des Lig. pisometacarpale nach einer orthochromatischen Reaktion leicht blau gefärbt. Im Bereich der knöchernen Anheftungszonen liegt eine unterschiedlich intensiv ausgeprägte, metachromatische Reaktion mit roter Färbung vor, im Bereich des morphologisch abgrenzbaren, verkalkten Faserknorpels eine gemischte metachromatisch- orthochromatische Reaktion, wobei die blaue Färbung zum Knochen hin deutlicher wird. In den knöchernen Bereichen ist die extrazelluläre Matrix orthochromatisch blau gefärbt (Abbildung 4).

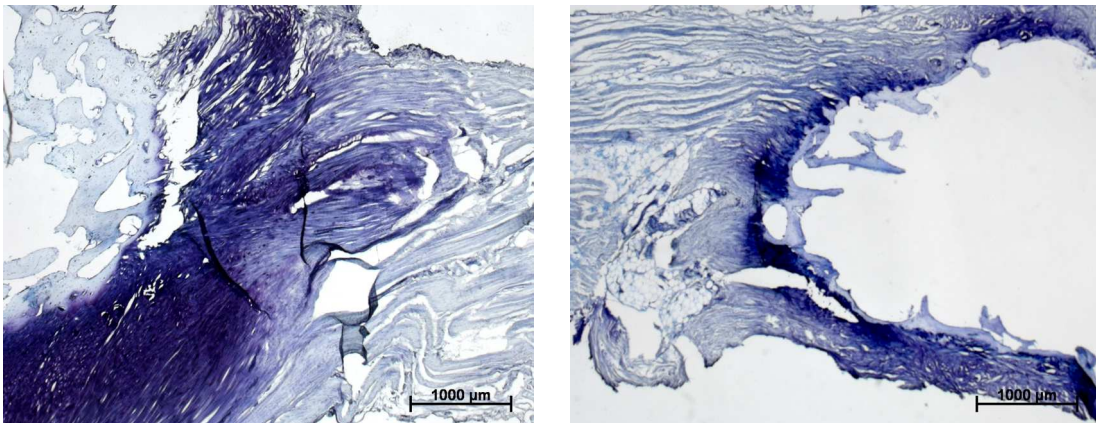


Abbildung 4: Lig. pisohamatum, Toluidinblaufärbung; Enthesis am Os pisiforme (links), Enthesis am Hamulus (rechts).

3.1.2 Kollagene

3.1.2.1 Kollagen-Typ I

M. flexor carpi ulnaris

In allen elf Sehnen des M. flexor carpi ulnaris ließ sich eine gleichmäßige und deutlich erkennbare Farbreaktion für Kollagen-Typ I nachweisen (Tabelle 3). Die extrazelluläre Matrix des entkalkten Knochens reagierte ebenfalls positiv auf den Kollagen - Typ I markierenden Antikörper. 10/10 Präparate wiesen im unverkalkten Faserknorpel der Enthese eine deutliche Färbung für Kollagen Typ I auf. In allen untersuchten Präparaten zeigte sich eine Zone, in der keine Markierung für Kollagen-Typ I zu finden war („Gap-Phänomen“). Die Breite dieser Zone variierte bei den verschiedenen Präparaten und umfasste in der Regel den verkalkten Faserknorpel sowie angrenzende Anteile des unverkalkten Faserknorpels (Abbildung 5).

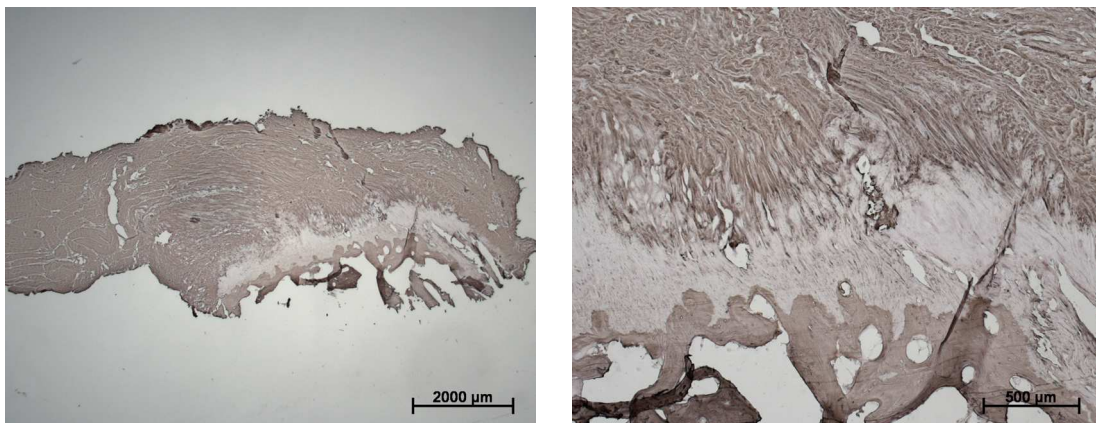


Abbildung 5: M. flexor carpi ulnaris, Markierung für Kollagen-Typ I; Enthese am Os pisiforme in Übersicht (links), Detail der Kollagen-Typ I - freien Zone der Enthese (rechts)

Ergebnisse

Präparatnr.	Sehne	Enthesis am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	o	+
2	+	+	o	+
3	+	+	o	+
4	+	+	o	+
5	+	+	o	+
6	+	+	o	+
7	+	+	o	+
8	+	+	o	+
9	+	+	o	+
10	+	+	o	+
11	+	n.v.	n.v.	+
Gesamt	11/11	10/10	0/10	11/11

Tabelle 3: Kollagen-Typ I-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

In allen elf Präparaten ließ sich eine deutliche Markierung für Kollagen-Typ I im Bereich des Bandes nachweisen (Tabelle 4). Ebenfalls 11/11 Präparate zeigten eine deutliche Farbreaktion in dem nicht verkalkten Faserknorpel der Enthese sowohl am proximalen als auch am distalen Ende. Der verkalkte Faserknorpel der Enthese dagegen wies in 0/11 Präparaten einen Farbniederschlag auf, wobei jedoch der ungefärbte Abschnitt der proximalen Enthese von der flächigen Ausdehnung her größer erschien als der der distalen Enthese. In 11/11 Präparaten fand sich in beiden Knochenfragmenten eine gleichmäßige Markierung der extrazellulären Matrix (Abbildung 6).

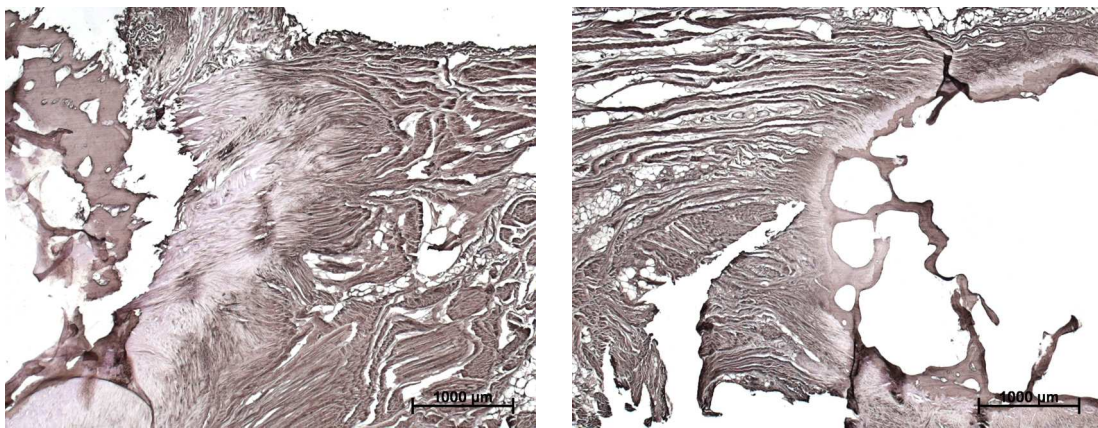


Abbildung 6: Lig. pisohamatum, Markierung für Kollagen-Typ I; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	+	0	+	+	+	0	+
2	+	0	+	+	+	0	+
3	+	0	+	+	+	0	+
4	+	0	+	+	+	0	+
5	+	0	+	+	+	0	+
6	+	0	+	+	+	0	+
7	+	0	+	+	+	0	+
8	+	0	+	+	+	0	+
9	+	0	+	+	+	0	+
10	+	0	+	+	+	0	+
11	+	0	+	+	+	0	+
Gesamt	11/11	0/11	11/11	11/11	11/11	0/11	11/11

Tabelle 4: Kollagen-Typ I-Färbungen, Enteses des Lig. pisohamatum. 0 = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpale

In allen elf Präparaten wies die Zone des Bandes eine deutliche Markierung für Kollagen-Typ I auf (Tabelle 5). In der Zone des nicht verkalkten Faserknorpels der proximalen Enthese zeigten sich Markierungen in 9/9 Präparaten, in der distalen Enthese in 10/10 Präparaten. Der verkalkte Faserknorpel der Enthese dagegen zeigte proximal 0/9 Markierungen und distal 0/10 Markierungen, wobei ebenfalls die flächige Ausdehnung des nicht gefärbten proximalen Areals größer erschien als die des distalen. Die extrazelluläre Matrix der proximalen und distalen Knochenfragmente war in 11/11 Präparaten gleichmäßig positiv markiert (Abbildung 7).

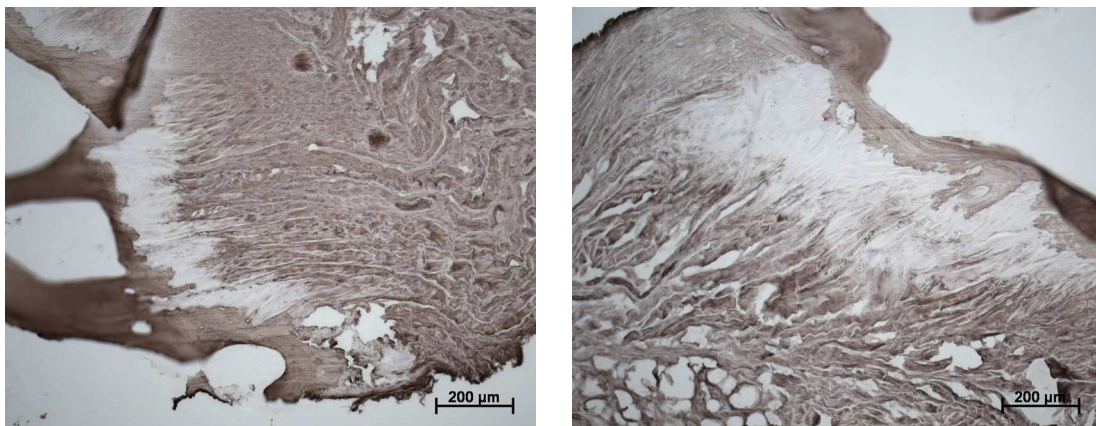


Abbildung 7: Lig. pisometacarpale, Markierung für Kollagen-Typ I; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	v	n.v.	n.v.	+	+	o	+
2	+	o	+	+	+	o	+
3	+	o	+	+	+	o	+
4	+	o	+	+	+	o	+
5	+	o	+	+	+	n.v.	+
6	+	o	+	+	+	o	+
7	+	o	+	+	+	o	+
8	+	o	+	+	+	o	+
9	+	o	+	+	n.v.	n.v.	+
10	+	o	+	+	+	o	+
11	+	n.v.	n.v.	+	+	o	+
Gesamt	11/11	0/9	9/9	11/11	10/10	0/9	11/11

Tabelle 5: Kollagen-Typ I-Färbung, Anheftungszonen des Lig. pisometacarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.2.2 Kollagen-Typ II

M. flexor carpi ulnaris

In 5/11 Präparaten war im Bereich der Sehne eine leichte Markierung des Kollagen-Typ II markierenden Antikörpers zu verzeichnen (Tabelle 6). Eine deutliche Markierung dagegen fand sich in 10/10 Präparaten sowohl in der Zone des unverkalkten - als auch in der des verkalkten Faserknorpels der Enthese. Im Knochen fand keine Farbreaktion statt (Abbildung 8).

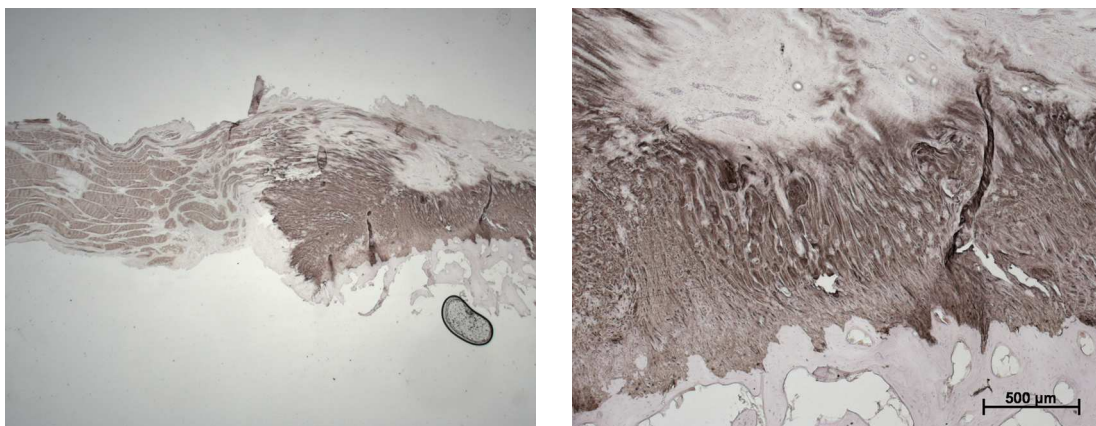


Abbildung 8: M. flexor carpi ulnaris, Markierung für Kollagen-Typ II; Enthese am Os pisiforme in Übersicht (links), Detail der Kollagen-Typ II positiven Zone der Enthese (rechts).

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	o	+	+	o
2	+	+	+	o
3	+	+	+	o
4	+	+	+	o
5	o	+	+	o
6	+	+	+	o
7	+	+	+	o
8	o	+	+	o
9	o	+	+	o
10	o	+	+	o
11	o	n.v.	n.v.	o
Gesamt	5/11	10/10	10/10	0/11

Tabelle 6: Kollagen-Typ II-Färbungen, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

5/11 der Präparate zeigten eine leichte Farbreaktion für Kollagen Typ II im Bereich des Bandes (Tabelle 7). In der Zone des verkalkten und des unverkalkten Faserknorpels der Enthese traten an beiden Enden des Bandes kräftige Markierungen für Kollagen Typ II auf, wobei jedoch die gefärbte Zone der distalen Enthese kleiner erschien als die der proximalen. Im Knochengewebe fand keine Farbreaktion statt (Abbildung 9).

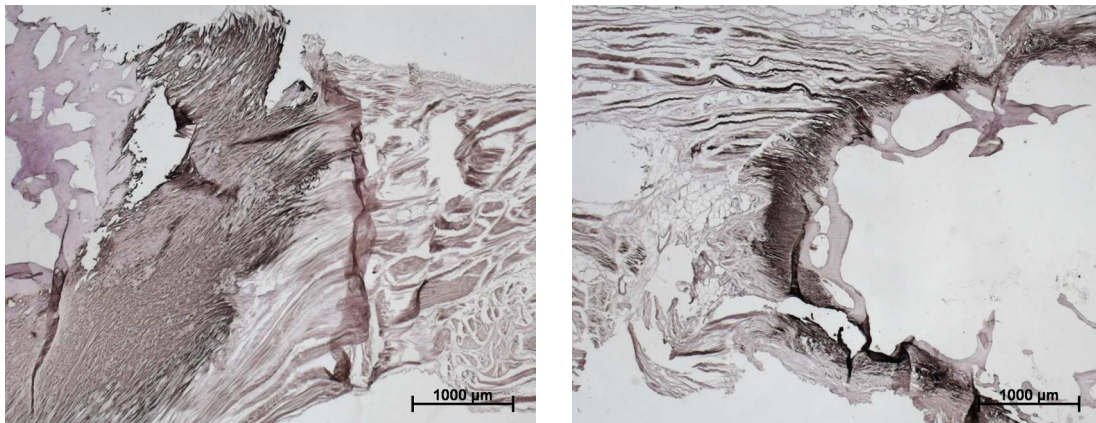


Abbildung 9: Lig. pisohamatum, Markierung für Kollagen-Typ II; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	o	+	+	o	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	o	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	o	+	+	o
9	o	+	+	o	+	+	o
10	o	+	+	o	+	+	o
11	o	+	+	o	+	+	o
Gesamt	0/11	11/11	11/11	5/11	11/11	11/11	0/11

Tabelle 7: Kollagen-Typ II-Färbung, Anheftungszonen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpale

Im Lig. pisometacarpale trat in 1/11 Präparaten eine leichte Markierung für Kollagen Typ II auf (Tabelle 8). Im unverkalkten Faserknorpel der Enthese zeigten proximal 9/9 und distal 10/10 Präparate eine deutliche extrazelluläre Reaktion für Kollagen Typ II. Ebenso fanden sich im verkalkten Faserknorpel proximal 9/9 und distal 10/10 positiv extrazellulär betont markierte Präparate. Im Knochen waren 0/11 Präparate markiert (Abbildung 10).

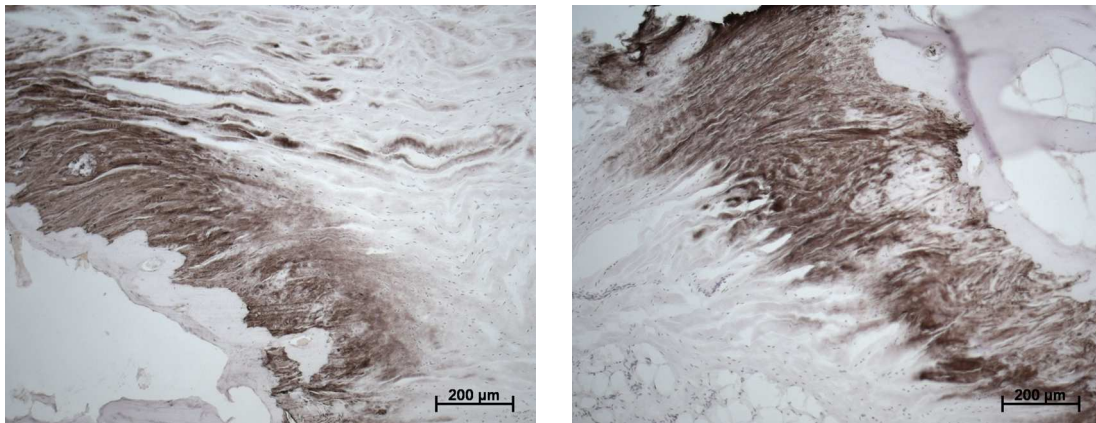


Abbildung 10: Lig. pisometacarpeum, Markierung für Kollagen-Typ II; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	o	n.v.	n.v.	o	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	o	+	+	o
4	o	+	+	o	+	+	o
5	o	+	+	o	+	+	o
6	o	+	+	o	+	+	o
7	o	+	+	o	+	+	o
8	o	+	+	o	n.v.	n.v.	o
9	o	+	+	o	+	+	o
10	o	+	+	o	+	+	o
11	o	n.v.	n.v.	o	+	+	o
Gesamt	0/11	9/9	9/9	1/11	10/10	10/10	0/11

Tabelle 8: Kollagen-Typ II-Färbung, Anheftungszonen des Lig. pisometacarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.2.3 Kollagen Typ III

M. flexor carpi ulnaris

In 10/10 Präparaten erschienen die Bereiche der Sehne sowie der Zone des unverkalkten Faserknorpels der Enthese deutlich markiert (Tabelle 9). Die Zone des verkalkten Faserknorpels der Enthese wies eine eher extrazelluläre Markierung auf, die in ihrer Intensität variierte. Bei einem der untersuchten Präparate war diese Zone nicht markiert. Der Knochen erschien nicht markiert (Abbildung 11).

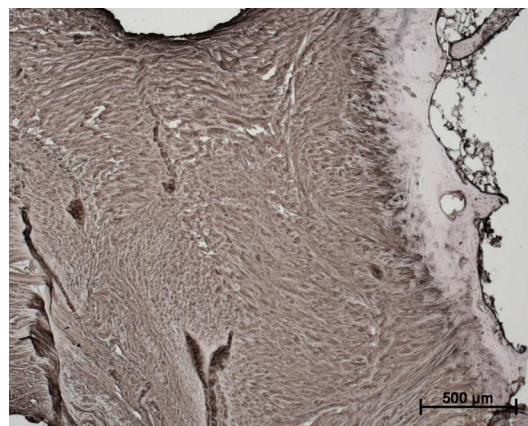


Abbildung 11: Enthese des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Kollagen-Typ III.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	o
2	+	+	+	o
3	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
4	+	+	o	o
5	+	+	+	o
6	+	+	+	o
7	+	+	+	o
8	+	+	+	o
9	+	+	+	o
10	+	+	+	o
11	+	n.v.	n.v.	o
Gesamt	10/10	9/9	8/9	0/10

Tabelle 9: Kollagen-Typ III-Färbung, Anheftungszonen des M. flexor carpi ulnaris; o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

Die untersuchten Bänder sowie deren unverkalkter Faserknorpel in den Enthesen proximal und distal waren meist deutlich markiert (Tabelle 10). Der verkalkte Faserknorpel der Anheftungsstellen war eher extrazellulär betont markiert mit unterschiedlicher Intensität. In beiden Knochenfragmenten war es bei keinem Präparat zu einer Farbreaktion gekommen (Abbildung 12).

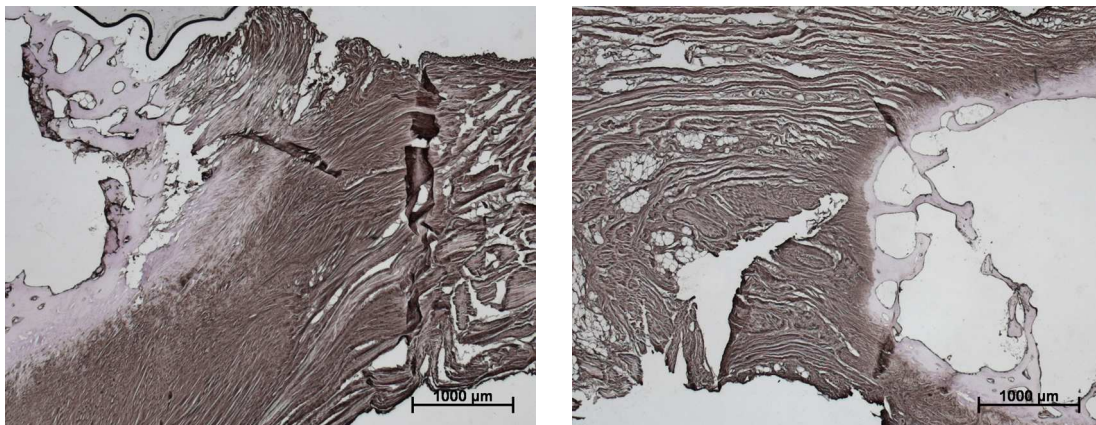


Abbildung 12: Lig. pisohamatum, Markierung für Kollagen-Typ II; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	o	+	+	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	o	+	+	+	o	o
4	o	o	+	+	+	o	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	+	+	+	+	+	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	+	+	+	+	+	o
Gesamt	0/11	9/11	11/11	11/11	11/11	9/11	0/11

Tabelle 10: Kollagen-Typ III-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

In 11/11 Bändern sowie in deren Zonen des unverkalkten Faserknorpels der Anheftungsstellen waren deutliche Markierungen aufgetreten (Tabelle 11). Der verkalkte Faserknorpel beider Anheftungsstellen war unregelmäßig und eher extrazellulär betont angefärbt. In einer der untersuchten Proben war im verkalkten Faserknorpel sowohl am Os pisiforme als auch am Os metacarpale V keine Färbung zu verzeichnen. Die Knochenfragmente erschienen nicht markiert (Abbildung 13).

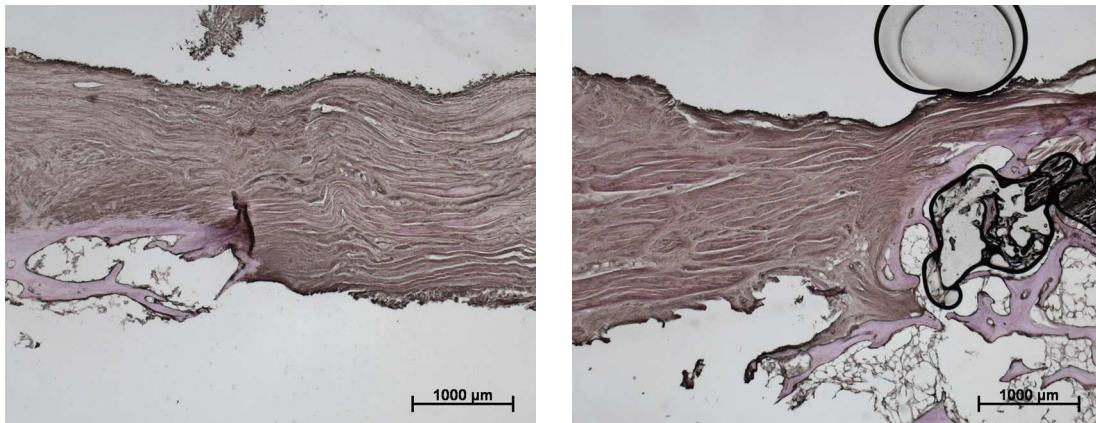


Abbildung 13: Lig. pisometarpale, Markierung für Kollagen-Typ III; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	o	n.v.	+	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	o	+	+	+	o	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	+	+	+	+	+	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	+	+	+	+	+	o
Gesamt	0/11	9/10	11/11	11/11	11/11	10/11	0/11

Tabelle 11: Kollagen-Typ III-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.2.4 Kollagen Typ VI

M. flexor carpi ulnaris

11/11 der dargestellten Abschnitte der Sehne färbten gleichmäßig intra- wie extrazellulär für Kollagen-Typ VI (Tabelle 12). Im Bereich der unverkalkten Faserknorpelzone der Enthese waren 9/9 der Präparate positiv. Im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese waren alle Präparate mit einer eher intrazellulären Betonung markiert. Im Knochen war bei 11/11 Präparaten eine positive intrazelluläre Reaktion nachzuweisen (Abbildung 9).

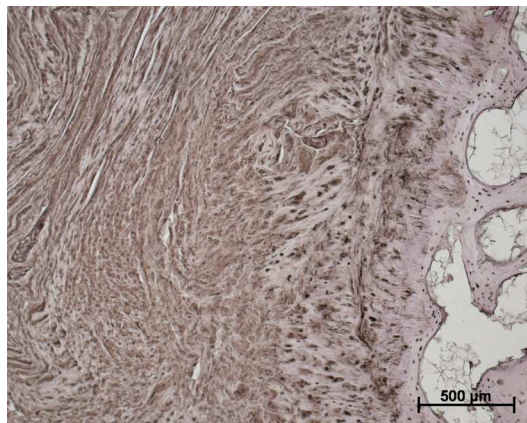


Abbildung 14: Enthese des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Kollagen-Typ VI.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	n.v.	n.v.	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	n.v.	n.v.	+
Gesamt	11/11	9/9	9/9	11/11

Tabelle 12: Kollagen-Typ VI-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

Sowohl im proximalen als auch im distalen Knochenfragment erschien keine positive Farbreaktion für Kollagen Typ VI in der extrazellulären Matrix, jedoch in allen Präparaten (11/11) proximal und distal intrazellulär eine positive Reaktion (Tabelle 13). In der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese war an beiden Enden in allen untersuchten Präparaten eine Farbreaktion aufgetreten mit eher intrazellulärer Betonung. Die Zone des unverkalkten Faserknorpels der Anheftungszonen an beiden Enden und das Band selber waren in 11/11 Fällen intra- wie extrazellulär positiv (Abbildung 15).

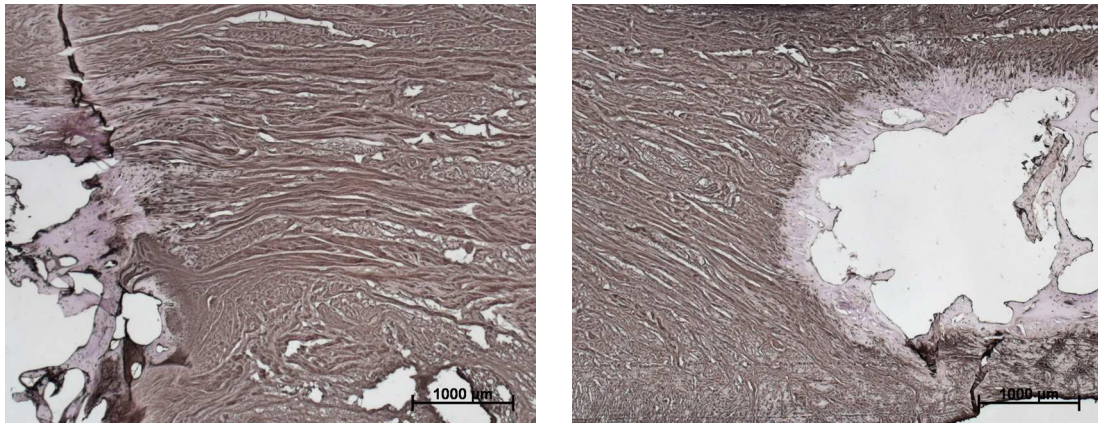


Abbildung 15: Lig. pisohamatum, Markierung für Kollagen-Typ VI; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+
Gesamt	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11

Tabelle 13: Kollagen-Typ VI-Färbung, Enteses des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

Die extrazelluläre Matrix beider Knochenfragmente zeigte keine positive Farbreaktion (0/11) für Kollagen Typ VI, die Osteozyten dieser Regionen dagegen reagierten positiv (11/11) auf den verwendeten Antikörper (Tabelle 14). Die Zone des verkalkten Faserknorpels der proximalen sowie der distalen Enthese war in 9/9 Fällen intrazellulär betont positiv für Kollagen Typ VI. Für die unverkalkten Faserknorpelzonen beider Anheftungszonen ließen sich jeweils 9/9 positive Farbreaktionen nachweisen. Das Band reagierte in 11/11 Fällen intra- und extrazellulär positiv auf Kollagen Typ VI (Abbildung 16).

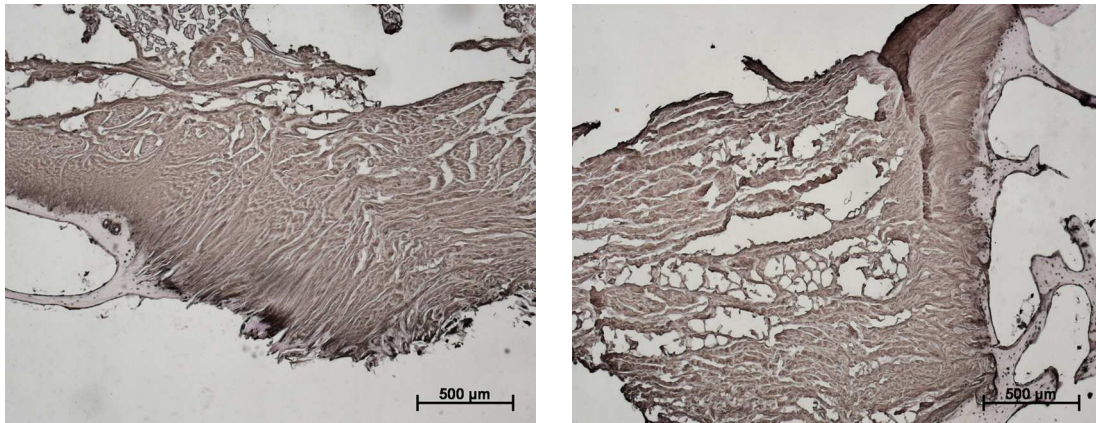


Abbildung 16: Lig. pisometarpale, Markierung für Kollagen-Typ VI; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metarpale V.

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
10	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
11	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+
Gesamt	11/11	9/9	9/9	11/11	9/9	9/9	11/11

Tabelle 14: Kollagen-Typ VI-Färbung, Enteses des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.3 Glykosaminoglykane

3.1.3.1 Chondroitin-6-sulfat

M. flexor carpi ulnaris

Der verwendete Antikörper zur Markierung des Chondroitin-6-sulfats färbt in allen Abschnitten des Bandes die extrazellulären Bestandteile (Tabelle 15). Im Bereich der verkalkten Zone der Enthese war die Farbreaktion sehr viel deutlicher. Im Knochen waren intrazellulär Hämatoxilineffekte aufgetreten (Abbildung 17).

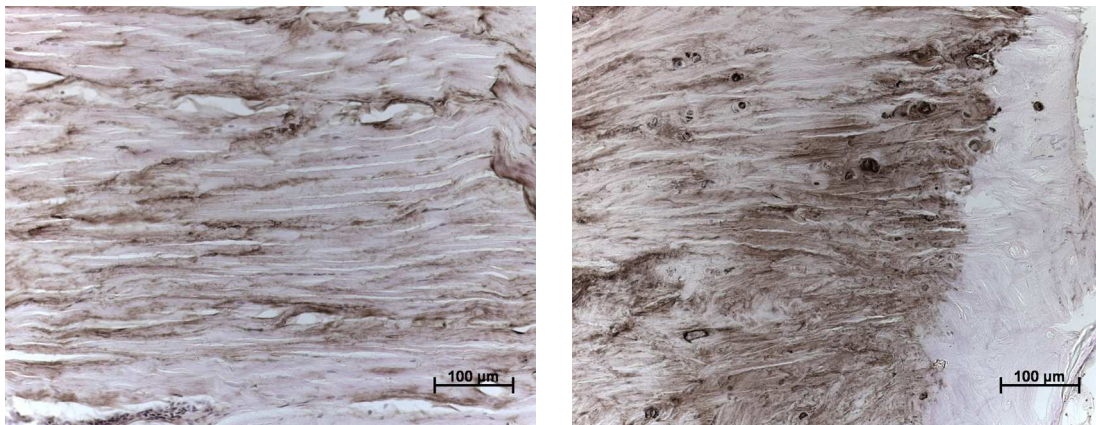


Abbildung 17: Sehne des M. flexor carpi ulnaris, Markierung für Chondroitin-6-sulfat; Detail der Sehne (links), Detail der Enthese am Os pisiforme (rechts).

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	0
2	+	+	+	0
3	+	+	+	0
4	+	+	+	0
5	+	+	+	0
6	+	+	+	0
7	+	+	+	0
8	+	+	+	0
9	+	+	+	0
10	+	+	+	0
11	+	n.v.	n.v.	0
Gesamt	11/11	10/10	10/10	0/11

Tabelle 15: Chondroitin-6-sulfat-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

In 9/11 Bändern war eine schwache bis mittlere Intensität der Markierung nachweisbar (Tabelle 16). Im Bereich beider Zonen der Enthese waren in 11/11 Präparaten sowohl am Os pisiforme als auch am Os hamatum starke Markierungen aufgetreten. In den Knochenfragmenten fanden sich Hämatoxilineffekte (Abbildung 18).

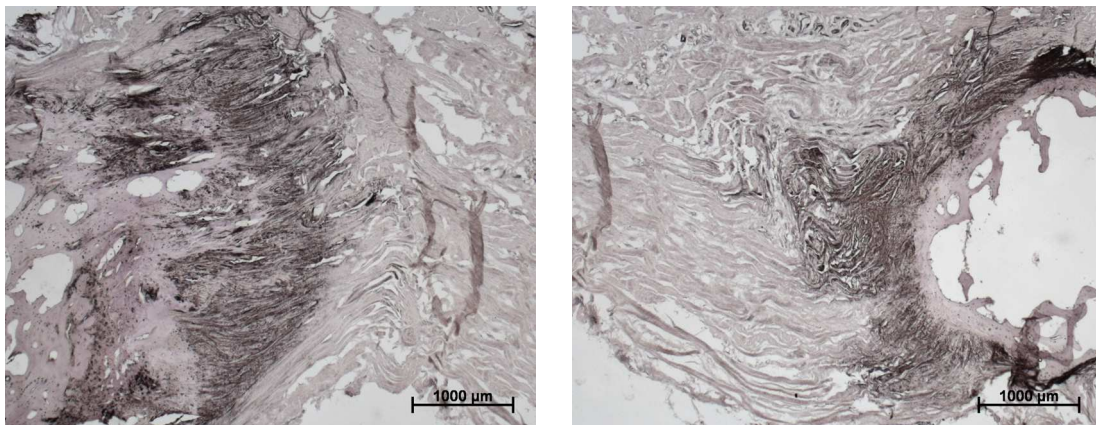


Abbildung 18: Lig. pisohamatum, Markierung für Chondroitin-6-sulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	0	+	+	o	+	+	0
2	0	+	+	+	+	+	0
3	0	+	+	+	+	+	0
4	0	+	+	+	+	+	0
5	0	+	+	+	+	+	0
6	0	+	+	o	+	+	0
7	0	+	+	+	+	+	0
8	0	+	+	+	+	+	0
9	0	+	+	+	+	+	0
10	0	+	+	+	+	+	0
11	0	+	+	+	+	+	0
Gesamt	0/11	11/11	11/11	9/11	11/11	11/11	0/11

Tabelle 16: Chondroitin-6-sulfat-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

In 7/11 Bändern ließ sich eine schwache bis mittlere Farbreaktion für Chondroitin-6-sulfat extrazellulär nachweisen (Tabelle 17). Die verkalkte und unverkalkte Zone der Anheftungszonen am Os pisiforme und am Os metacarpale V reagierten sehr viel deutlicher. In den Knochen kam es nur intrazellulär zu Hämatoxilin- bedingten Farbreaktionen (Abbildung 19).

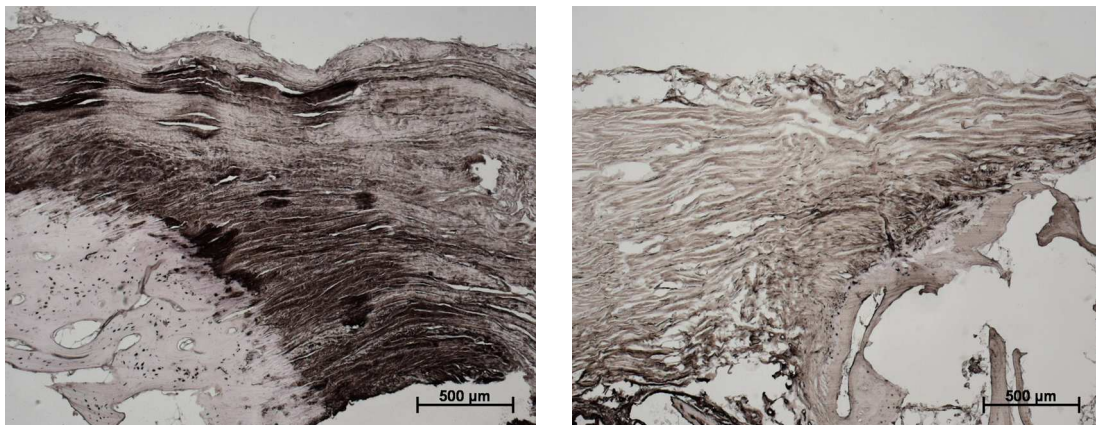


Abbildung 19: Lig. pisometarpale, Markierung für Chondroitin-6-sulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Knochen		
		verkalkt	unverkalkt			unverkalkt	verkalkt
1	0	n.v.	n.v.	+	+	+	0
2	0	+	+	+	+	+	0
3	0	+	+	+	+	+	0
4	0	+	+	+	+	+	0
5	0	+	+	o	+	+	0
6	0	+	+	o	+	+	0
7	0	+	+	o	o	+	0
8	0	+	+	o	n.v.	n.v.	0
9	0	+	+	+	+	+	0
10	0	+	+	+	+	+	0
11	0	n.v.	n.v.	+	+	+	0
Gesamt	0/11	9/9	9/9	7/11	9/10	10/10	0/11

Tabelle 17: Chondroitin-6-sulfat-Färbung, Enteses des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.3.2 Chondroitin-4-sulfat & Dermatansulfat

Der Antikörper 2B6 ist in Geweben, welche mit dem Enzym ABC vorbehandelt wurden, markierend für Chondroitin-4-sulphat und Dermatansulfat.

M. flexor carpi ulnaris

11/11 der Sehnen des Muskels sowie die 10/10 unverkalkten Faserknorpelzonen der Enthese am Os pisiforme erschienen gleichmäßig kräftig intra- wie extrazellulär markiert (Tabelle 18). In der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese dagegen wiesen 10/10 Schnitte eine unregelmäßige, eher intrazelluläre Markierung auf. Im Knochenfragment waren nur die Osteozyten markiert (Abbildung 20).

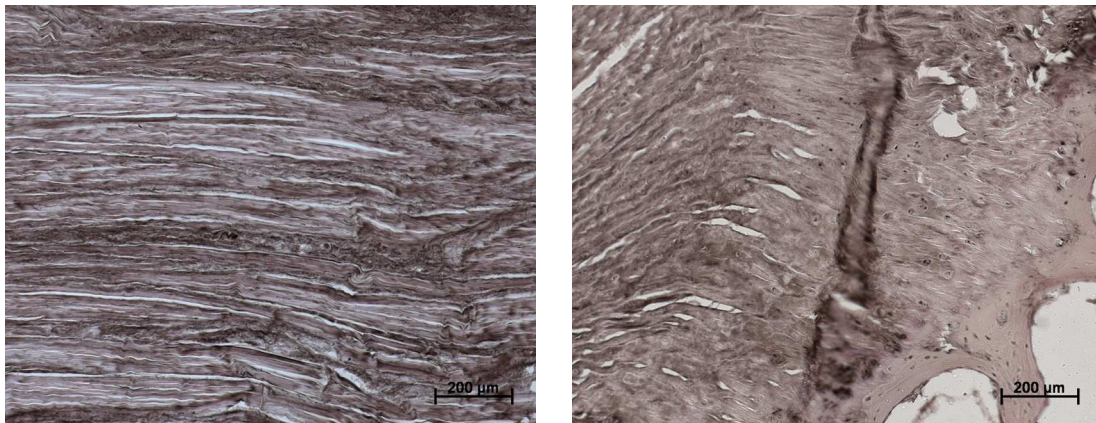


Abbildung 20: M. flexor carpi ulnaris, Markierung für Chondroitin-4-sulfat und Dermatansulfat; Detail der Sehne (links), Detail der Enthese am Os pisiforme (rechts).

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	n.v.	n.v.	+
Gesamt	11/11	10/10	10/10	11/11

Tabelle 18: Chondroitin-4-sulfat- & Dermatansulfat-Färbung, Anheftungszonen des M. flexor carpi ulnaris.
o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

11/11 der untersuchten Bänder waren gleichmäßig intra- wie extrazellulär markiert, das Gleiche galt für die unverkalkten Faserknorpelzonen der Enthese am Os pisiforme und der am Hamulus (Tabelle 19). In den verkalkten Faserknorpelzonen der Anheftungszonen lagen eher intrazellulär betonte Farbreaktionen vor. In beiden Knochenfragmenten waren die Osteozyten positiv markiert (Abbildung 21).

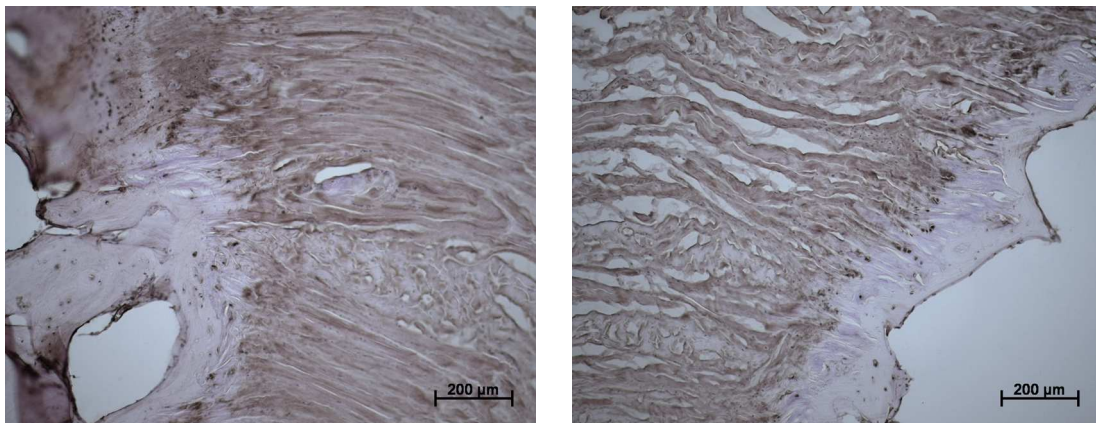


Abbildung 21: Lig. pisohamatum, Markierung für Chondroitin-4-sulfat und Dermatansulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+
Gesamt	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	10/11	11/11

Tabelle 19: Chondroitin-4-sulfat- & Dermatansulfat-Färbung, Enteses des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpale

11/11 der vorliegenden Bänder waren mittel bis kräftig intra- wie extrazellulär markiert, genauso die unverkalkten Faserknorpelzonen der beiden Anheftungsstellen (Tabelle 20). Mittlere, eher intrazelluläre Farbreaktionen lagen in der verkalkten Faserknorpelzone der jeweiligen Enthese vor. Bis auf ein Präparat, welches eine deutliche Markierung der Knochenmatrix beider Knochenstückchen aufwies, reagierten nur die Osteozyten positiv auf den Farbnachweis (Abbildung 22).

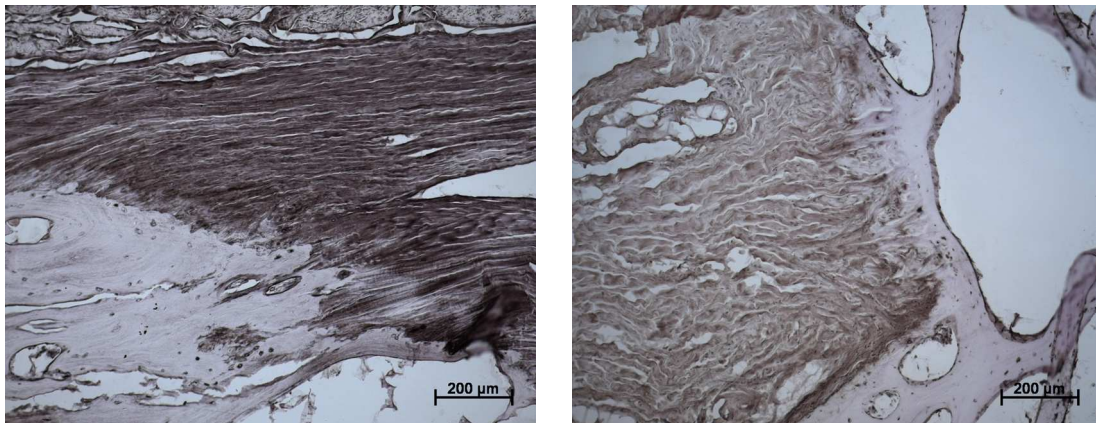


Abbildung 22: Lig. pisometacarpale, Markierung für Chondroitin-4-sulfat und Dermatan-sulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
9	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+
Gesamt	11/11	9/9	9/9	11/11	9/9	9/9	11/11

Tabelle 20: Chondroitin-4-sulfat- & Dermatan-sulfat-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisometacarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.3.3 Chondroitin-4-sulfat

Die Vorbehandlung des Gewebes mit dem Enzym AC bedingte eine vorwiegende Affinität des Antikörpers 2B6 für Epitope des Chondroitin-4-sulfats.

M. flexor carpi ulnaris

In 11/11 Bereichen der Bänder und in 9/10 unverkalkten Faserknorpelzonen der Anheftungszonen lag eine mittlere gleichmäßige Markierung vor, im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese in 9/11 Proben eine mittelgradige, eher intrazellulär betonte Markierung (Tabelle 21). Der Knochen erschien in allen Proben nicht markiert (Abbildung 23).

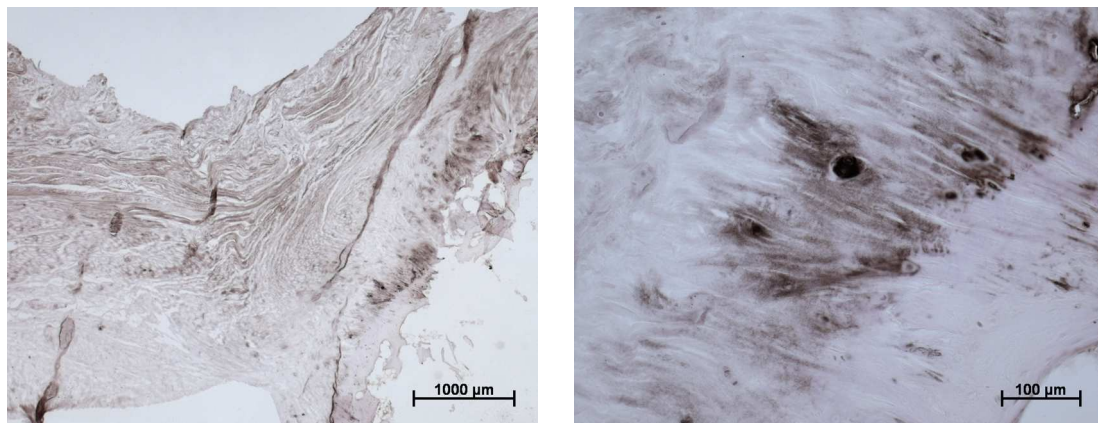


Abbildung 23: M. flexor carpi ulnaris, Markierung für Chondroitin-4-sulfat; Enthese am Os pisiforme in Übersicht (links), Detail der Enthese (rechts).

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	o
2	+	+	+	o
3	+	o	o	o
4	+	+	+	o
5	+	+	o	o
6	+	+	+	o
7	+	+	+	o
8	+	+	+	o
9	+	+	+	o
10	+	+	+	o
11	+	n.v.	n.v.	o
Gesamt	11/11	9/10	8/10	0/11

Tabelle 21: Chondroitin-4-sulfat-Färbung, Anheftungszonen des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

In allen Präparaten war sowohl der verkalkte und unverkalkte Faserknorpel der Enthese am Os pisiforme markiert (Tabelle 22). In der gesamten Enthese region am Os metacarpale V sowie dem Band war nur in einem Präparat keine Markierung aufgetreten. Beide Knochenfragmente zeigten keine Farbreaktion (Abbildung 24).

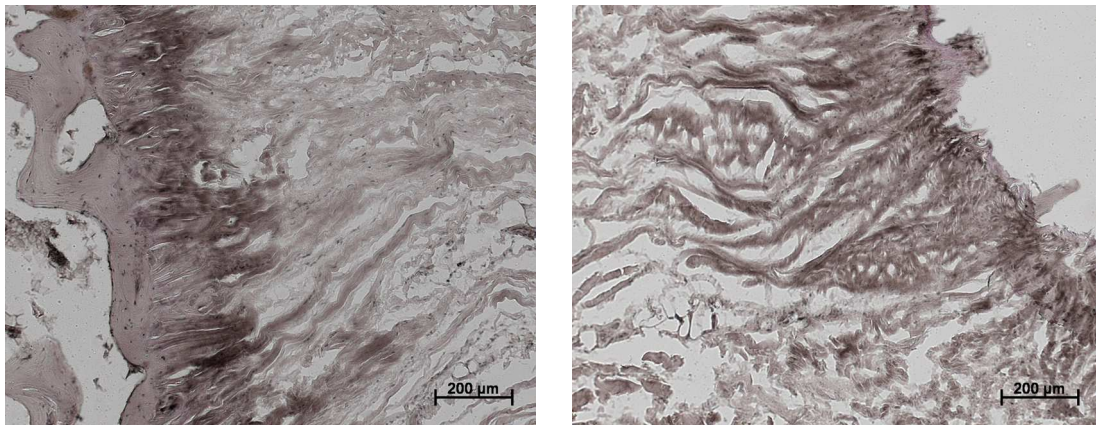


Abbildung 24: Lig. pisohamatum, Markierung für Chondroitin-4-sulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	o	+	+	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	+	+	o	o	o	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	+	+	+	+	+	o
Gesamt	0/11	11/11	11/11	10/11	10/11	10/11	0/11

Tabelle 22: Chondroitin-4-sulfat-Färbung, Anheftungs zonen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

10/11 Bänder wiesen eine mittlere, gleichmäßig intra- wie extrazelluläre Färbung auf (Tabelle 23). Die unverkalkte Faserknorpelzone aller Anheftungsstellen am Os pisiforme und aller Anheftungsstellen am Os metacarpale V waren ebenfalls schwach bis mittel intra- wie extrazellulär markiert. In beiden Knochenfragmenten war nur in einem Präparat eine Farbreaktion aufgetreten (Abbildung 25).

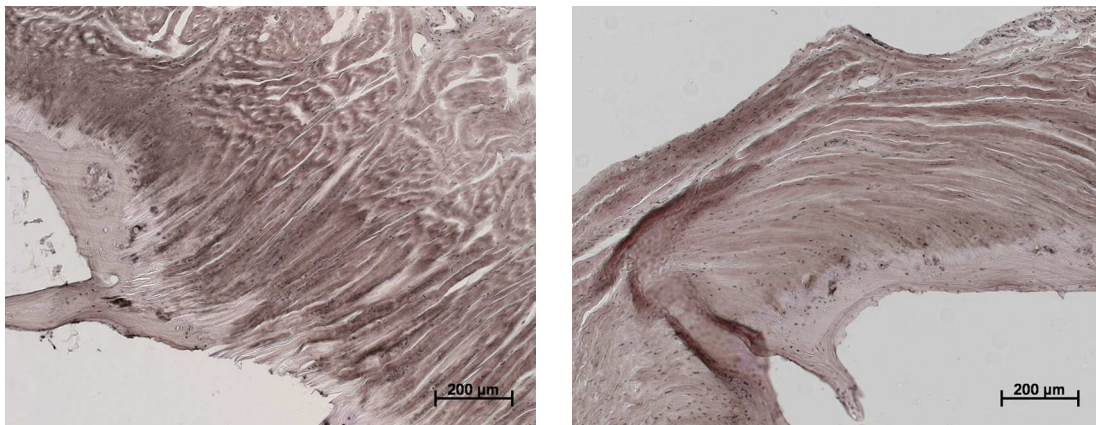


Abbildung 25: Lig. pisometarpale, Markierung für Chondroitin-4-sulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts)

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	o	n.v.	n.v.	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	n.v.	n.v.	o
9	+	+	+	+	+	+	+
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	n.v.	n.v.	+	+	+	o
Gesamt	1/11	9/9	9/9	11/11	10/10	10/10	1/11

Tabelle 23: Chondroitin-4-sulfat-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.3.4 Keratansulfat

M. flexor carpi ulnaris

Die Sehne war in 11/11 Präparaten streifig, mit einer mittelgradigen Intensität markiert (Tabelle 24). In der Zone des unverkalkten und verkalkten Faserknorpels der Enthese dagegen war in allen Präparaten eine deutlich kräftigere, intrazelluläre Markierungen als an der Sehne zu beobachten. Der Knochen war nur in einem Präparat positiv markiert (Abbildung 26).

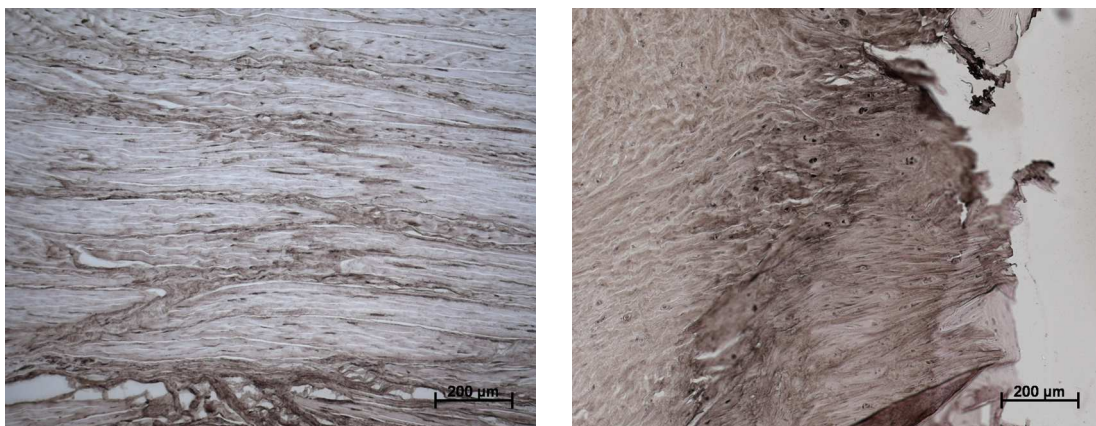


Abbildung 26: M. flexor carpi ulnaris, Markierung für Keratansulfat; Detail der Sehne (links), Detail der Enthese am Os pisiforme (rechts).

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	o
2	+	+	+	o
3	+	+	+	o
4	+	+	+	o
5	+	+	+	o
6	+	+	+	+
7	+	+	+	o
8	+	+	+	o
9	+	+	+	o
10	+	+	+	o
11	+	n.v.	n.v.	o
Gesamt	11/11	10/10	10/10	1/11

Tabelle 24: Keratansulfat-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

10/11 Bänder zeigten eine schwache bis mittelstarke Reaktion mit dem Antikörper (Tabelle 25). Alle Zonen der unverkalkten und verkalkten Faserknorpel der Entheses am Os pisiforme und am Hamulus waren mittelgradig bis kräftig intrazellulär markiert. In einem Präparat war in den Knochenfragmenten eine positive Farbreaktion zu verzeichnen (Abbildung 27).

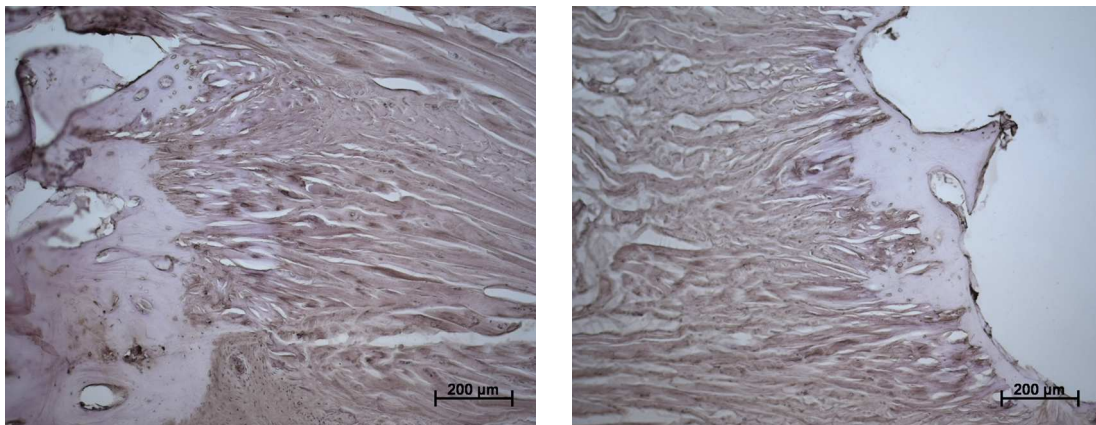


Abbildung 27: Lig. pisohamatum, Markierung für Keratansulfat, Enthesis am Os pisiforme (links), Enthesis am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthesis am Os pisiforme			Band	Enthesis am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	o	+	+	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	+	+	+	+	+	+	+
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	o	o	o	o	o	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	+	+	+	+	+	o
Gesamt	1/11	10/11	10/11	10/11	10/11	10/11	1/11

Tabelle 25: Keratansulfat-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpeum

11/11 der untersuchten Bänder zeigten eine schwache bis mittlere Markierung (Tabelle 26). Sowohl die unverkalkte als auch die verkalkte Faserknorpelzone der Anheftungszonen an beiden Enden des Bandes waren deutlich intrazellulär betont markiert. Eine Farbreaktion im Knochen zeigte sich nur in einem Präparat (Abbildung 28).

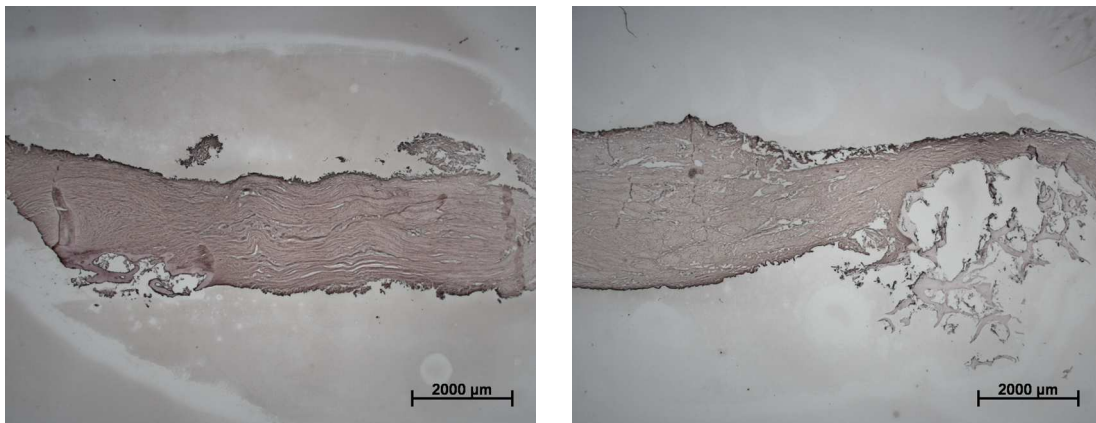


Abbildung 28: Lig. pisometarpale, Markierung für Keratansulfat; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			unverkalkt	verkalkt	Knochen
		verkalkt	unverkalkt				
1	o	n.v.	n.v.	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	+	+	+	+	+	+	+
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	+	+	+	+	+	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	n.v.	n.v.	+	+	+	o
Gesamt	1/11	9/9	9/9	11/11	11/11	11/11	1/11

Tabelle 26: Keratansulfat-Färbung, Enthesen des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4 Proteoglykane und Glykoproteine

3.1.4.1 Aggrecan

M. flexor carpi ulnaris

Bei 11/11 Präparaten war ein positiver Farbnachweis mit einer meist deutlichen Markierung in der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese aufgetreten (Tabelle 27). Die anderen Abschnitte blieben ungefärbt, lediglich in 4/11 Knochenfragmenten waren schwache intrazelluläre Reaktionen nachweisbar (Abbildung 29).

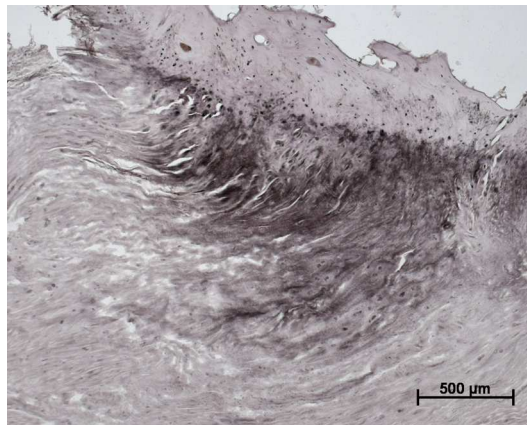


Abbildung 29: Enthese der Sehne des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Aggrecan.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	o	o	+	+
2	o	o	+	o
3	o	o	+	+
4	o	o	+	+
5	o	o	+	o
6	o	o	+	o
7	o	o	+	+
8	o	o	+	o
9	o	o	+	o
10	o	o	+	o
11	o	n.v.	n.v.	o
Gesamt	0/11	0/10	10/10	4/11

Tabelle 27: Aggrecan-Färbung, Entheses des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

Es zeigten sich bei 11/11 Präparaten deutliche Markierungen in der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese am Os pisiforme und am Hamulus (Tabelle 28). In den Zonen des unverkalkten Faserknorpels der Enthese und des Bandes waren 2/11 Proben markiert. Die Knochenfragmente des Os pisiforme und des Hamulus wiesen in 4/11 Fällen eine leichte intrazelluläre Farbreaktion auf (Abbildung 30).

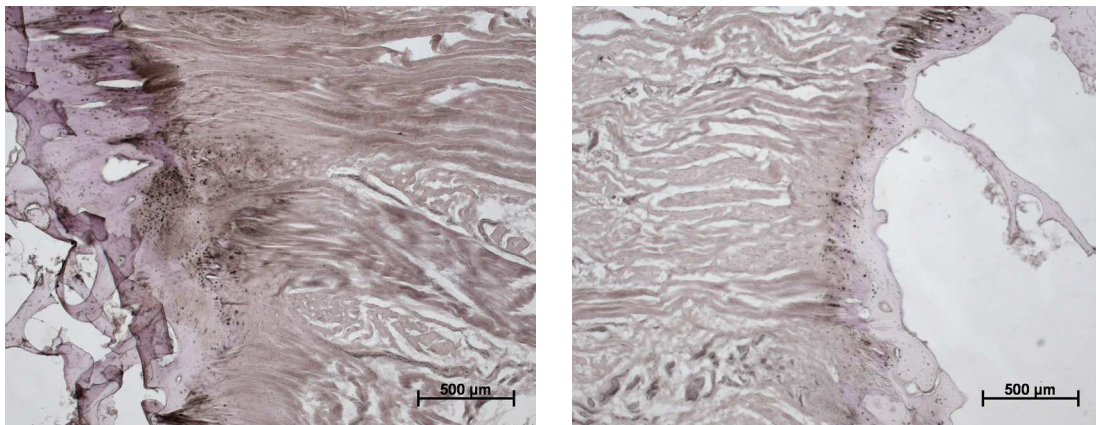


Abbildung 30: Lig. pisohamatum, Markierung für Aggrecan; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	o	o	o	+	+
2	o	+	o	o	o	+	o
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	o	o	o	+	o
7	+	+	o	o	o	+	+
8	o	+	o	o	o	+	o
9	o	+	o	o	o	+	o
10	o	+	o	o	o	+	o
11	o	+	o	o	o	+	o
Gesamt	4/11	11/11	2/11	2/11	2/11	11/11	4/11

Tabelle 28: Aggrecan-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpale

Bei 9/9 Präparaten waren in der verkalkten Faserknorpelzone der Anheftungszone an beiden Enden des Bandes einigermaßen deutliche Markierungen aufgetreten (Tabelle 29). Die Zone am Os metacarpale V erschien in allen Präparaten von der räumlichen Ausdehnung sehr klein. Im unverkalkten Faserknorpel sowie im Bereich des Bandes war 1/11 der Präparate positiv. Bei 3/11 der untersuchten Proben war in den Knochenfragmenten eine leichte intrazelluläre Farbreaktion zu verzeichnen (Abbildung 31).

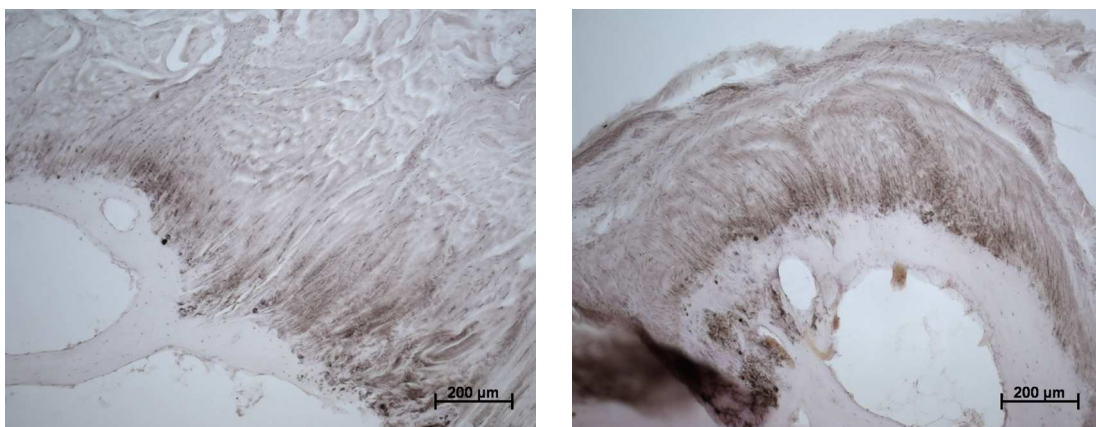


Abbildung 31: Lig. pisometacarpale, Markierung für Aggrecan; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Knochen		
		verkalkt	unverkalkt				
1	+	n.v.	n.v.	o	n.v.	n.v.	+
2	o	+	o	o	o	+	o
3	+	+	+	+	+	+	+
4	o	+	o	o	o	+	o
5	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	o	o	o	+	o
7	+	+	o	o	o	+	+
8	o	+	o	o	o	n.v.	o
9	o	+	o	o	o	+	o
10	o	+	o	o	o	+	o
11	o	n.v.	n.v.	o	o	+	o
Gesamt	3/11	9/9	1/9	1/11	1/10	9/9	3/11

Tabelle 29: Aggrecan-Färbung, Enteses des Lig. pisometacarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4.2 Link- Protein

M. flexor carpi ulnaris

In 10/10 der untersuchten Sehnen waren im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese mittelgradige bis deutliche Markierungen zu verzeichnen (Tabelle 30). In der unverkalkten Faserknorpelzone der Enthese sowie der Sehnen war ein Präparat markiert. Im Knochenfragment kam es nicht zu einer Farbreaktion (Abbildung 32).

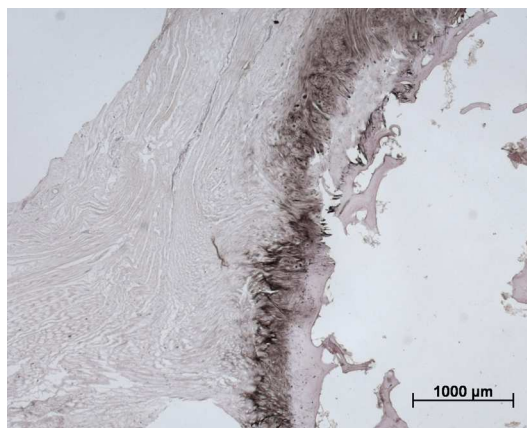


Abbildung 32: Enthese der Sehne des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Link-Protein.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	o	o	+	o
2	+	+	+	o
3	o	o	+	o
4	o	o	+	o
5	o	o	+	o
6	o	o	+	o
7	o	o	+	o
8	o	o	+	o
9	o	o	+	o
10	o	o	+	o
11	o	n.v.	n.v.	o
Gesamt	1/11	1/10	10/10	0/11

Tabelle 30: Link- Protein-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

In 11/11 Präparaten war nur in der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese am Os pisiforme und am Hamulus eine Markierung ersichtlich, wobei dieser Bereich bei der Enthese am proximalen Ende des Hamulus eine geringe Dicke, bis hin zur Unterbrechung aufwies (Tabelle 31). In den anderen untersuchten Bereichen zeigten sich keine Markierungen (Abbildung 33).

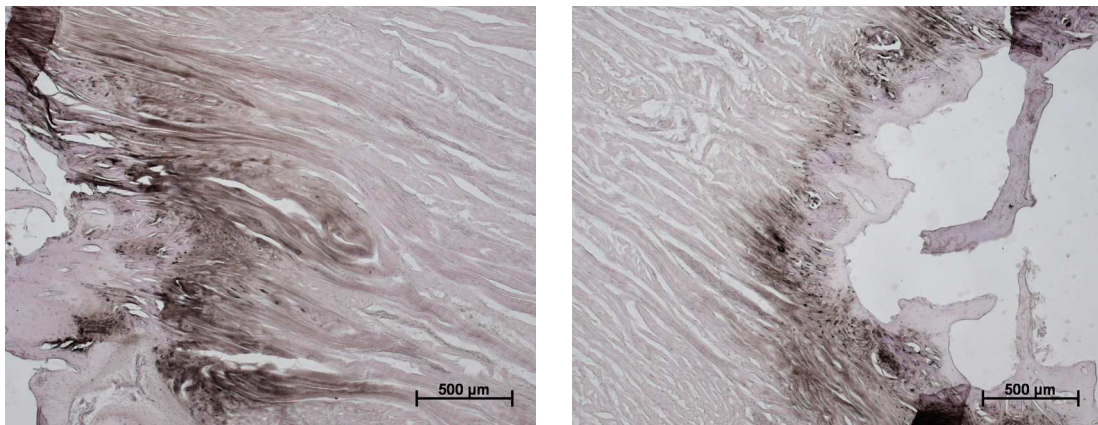


Abbildung 33: Lig. pisohamatum, Markierung für Link- Protein; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	o	+	o	o	o	+	o
2	o	+	o	o	o	+	o
3	o	+	o	o	o	+	o
4	o	+	o	o	o	+	o
5	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	o	o	o	+	o
7	o	+	o	o	o	+	o
8	o	+	o	o	o	+	o
9	o	+	o	o	o	+	o
10	o	+	o	o	o	+	o
11	o	+	o	o	o	+	o
Gesamt	0/11	11/11	0/11	0/11	0/11	11/11	0/11

Tabelle 31: Link- Protein-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

9/9 bzw. 11/11 Präparate zeigten im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese an beiden Enden eine mittelgradig bis deutliche Markierung (Tabelle 32). Die unverkalkte Faserknorpelzone auf beiden Seiten und das Band waren nur in einem Fall markiert. Die Knochenfragmente zeigten keine Farbreaktion (Abbildung 34).

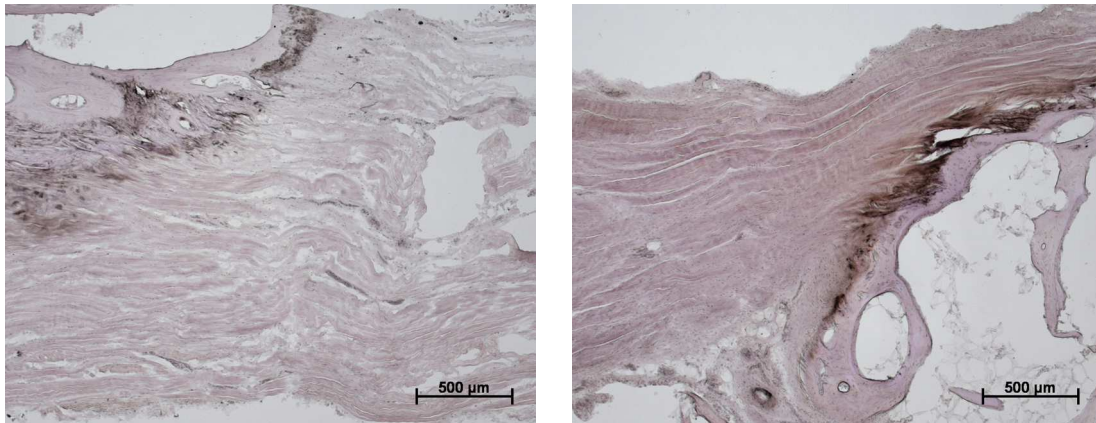


Abbildung 34: Lig. pisometarpale, Markierung für Link- Protein; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	o	+	o	o	o	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	o	o	o	+	o
4	o	+	o	o	o	+	o
5	o	n.v.	o	o	o	+	o
6	o	+	o	o	o	+	o
7	o	+	o	o	o	+	o
8	o	+	o	o	o	+	o
9	o	+	o	o	o	+	o
10	o	+	o	o	o	+	o
11	o	n.v.	n.v.	o	o	+	o
Gesamt	0/11	9/9	1/10	1/11	1/11	11/11	0/11

Tabelle 32: Link- Protein-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4.3 Versican

M. flexor carpi ulnaris

Die Markierung des Gewebes mit dem Antikörper 12C5 verursachte bei 11/11 Präparaten im Bereich der Sehne und bei 10/10 Präparaten in der unverkalkten Faserknorpelzone der Enthese eine gleichmäßige und meist kräftige Farbreaktion (Tabelle 33). In der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese war bei 10/10 Präparaten eine Markierung zu verzeichnen, jedoch unregelmäßig im Erscheinungsbild. Im Knochen zeigten sich die Osteozyten angefärbt, die extrazelluläre Matrix erschien nicht markiert (Abbildung 35).

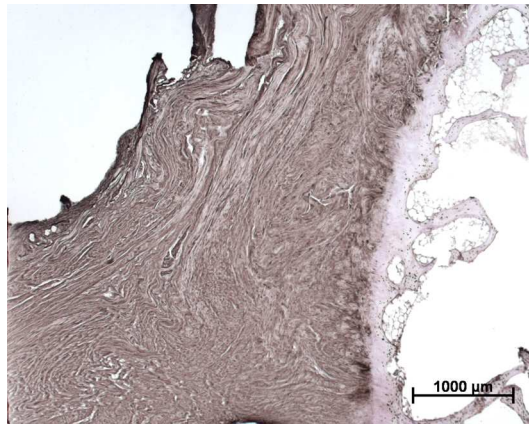


Abbildung 35: Enthese der Sehne des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Versican.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	n.v.	n.v.	+
Gesamt	11/11	10/10	10/10	11/11

Tabelle 33: Versican-Färbung, Enteses des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

Die Bereiche Band und unverkalkter Faserknorpel der Enthese waren an beiden Enden bei 11/11 Proben mittelgradig bis kräftig markiert (Tabelle 34). Der verkalkte Faserknorpel der Enthese wies ein unregelmäßiges Markierungsbild auf. Hierbei reichte das gefärbte Areal im zentralen Bereich des Os pisiforme und am proximalen Ende des Hamulus sehr viel näher an den Knochen heran als weiter lateral. Im Knochen erschienen die Osteozyten markiert (Abbildung 36).

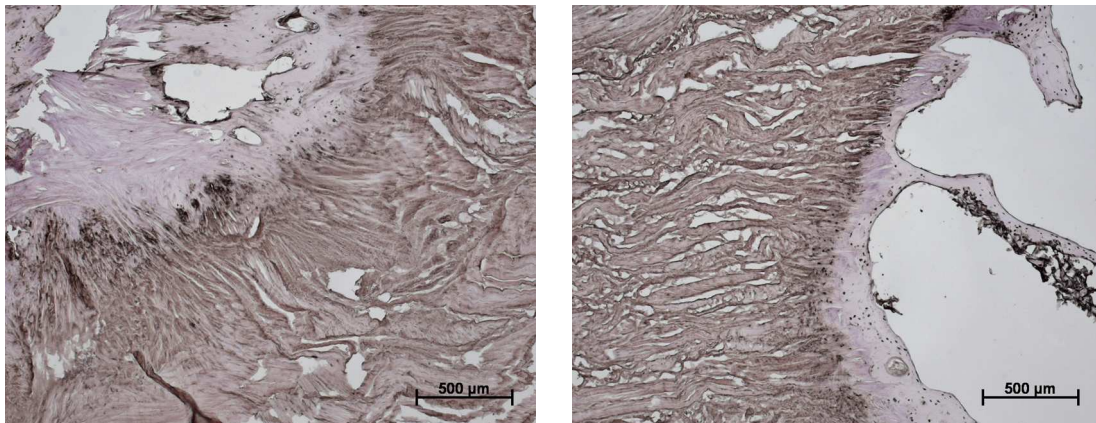


Abbildung 36: Lig. pisohamatum, Markierung für Versican; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+
Gesamt	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11

Tabelle 34: Versican-Färbung, Anheftungszone des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

Bei 11/11 Präparaten zeigte sich im Band und bei 10/10 Präparaten im unverkalkten Faserknorpel der Enthese eine gleichmäßige mittelgradige, bis kräftige Farbreaktion (Tabelle 35). Der verkalkte Faserknorpel der Enthese war bei 10/10 Präparaten an beiden Enden unregelmäßig markiert. In beiden Knochenfragmenten zeigten sich die Osteozyten farbig markiert (Abbildung 37).

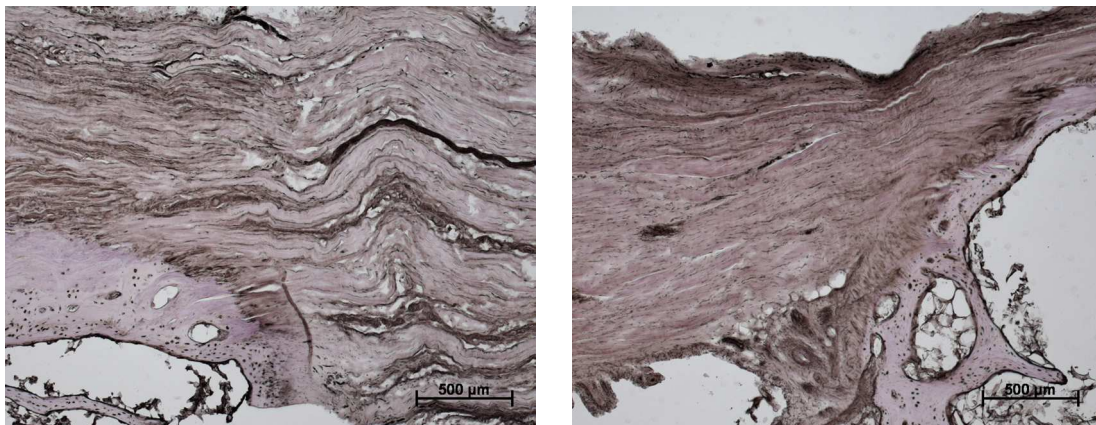


Abbildung 37: Lig. pisometarpale, Markierung für Versican; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+
Gesamt	11/11	10/10	10/10	11/11	10/10	10/10	11/11

Tabelle 35: Versican-Färbung, Enteses des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4.4 Tenascin

M. flexor carpi ulnaris

Bei 11/11 Präparaten zeigte sich im Bereich des Bandes und bei 9/11 Präparate im Bereich der Enthese eine mittlere bis deutliche Farbreaktion, die lediglich in der verkalkten Faserknorpelzone der Enthese unregelmäßig erschien (Tabelle 36). Die Osteozyten im knöchernen Fragment waren markiert (Abbildung 38).

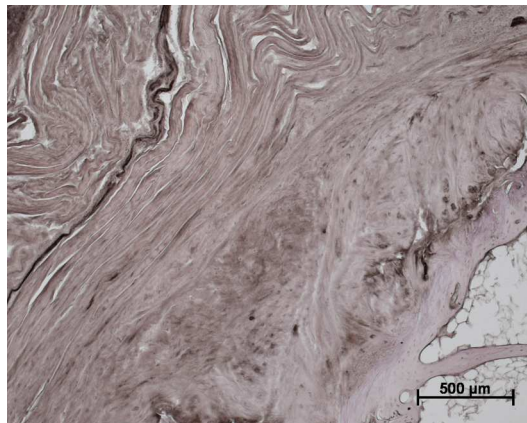


Abbildung 38: Enthese der Sehne des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Tenascin.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	o	o	+
10	+	+	+	+
11	+	n.v.	n.v.	+
Gesamt	11/11	9/10	9/10	11/11

Tabelle 36: Tenascin-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

In 11/11 untersuchten Proben erschien der Bereich des Bandes sowie der Bereich des unverkalkten Faserknorpels der Anheftungszonen am Os pisiforme und am Hamulus mittelgradig bis deutlich markiert (Tabelle 37). Der verkalkte Faserknorpel beider Anheftungszonen war ebenfalls markiert, jedoch unregelmäßiger. In den Knochenfragmenten waren die Osteozyten positiv (Abbildung 39).

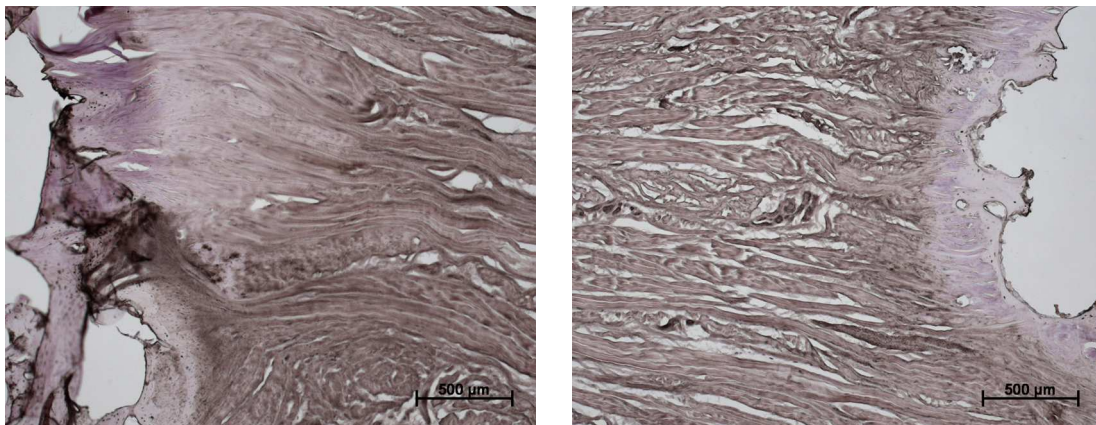


Abbildung 39: Lig. pisohamatum, Markierung für Tenascin; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+
Gesamt	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11

Tabelle 37: Tenascin-Färbung, Anheftungszonen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpale

In allen Bereichen der 11 untersuchten Präparate lag eine mittelgradige bis deutliche Markierung vor, die lediglich in der verkalkten Faserknorpelzone beider Anheftungsstellen unregelmäßig erschien (Tabelle 37). In beiden Knochenfragmenten waren die Osteozyten farblich markiert (Abbildung 40).

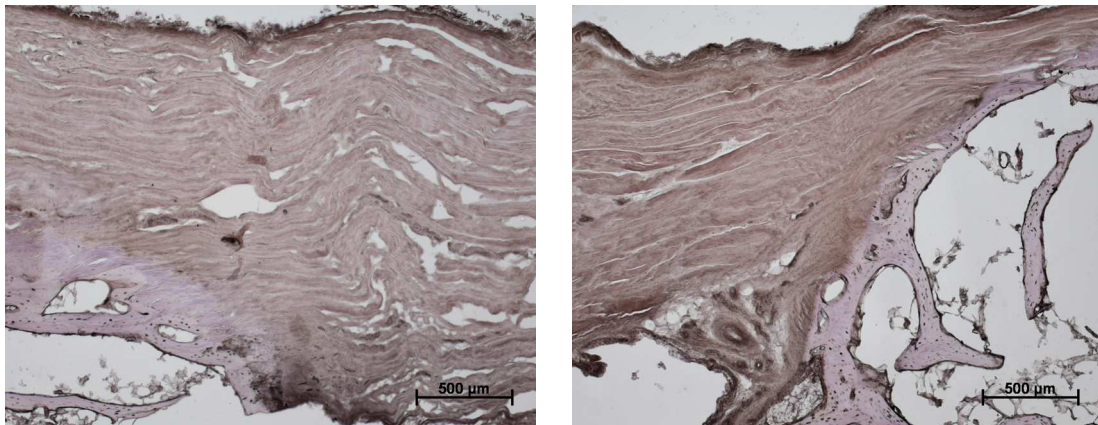


Abbildung 40: Lig. pisometacarpale, Markierung für Tenascin; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
10	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+
Gesamt	11/11	11/11	11/11	11/11	9/9	9/9	11/11

Tabelle 38: Tenascin-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisometacarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4.5 COMP

M. flexor carpi ulnaris

Bei den untersuchten Proben erschienen alle Bereiche, Band und Enthese farblich markiert, wobei jedoch das Markierungsmuster des verkalkten Faserknorpels unregelmäßiger erschien (Tabelle 39). Das Knochenfragment zeigte keine Farbreaktion (Abbildung 41).

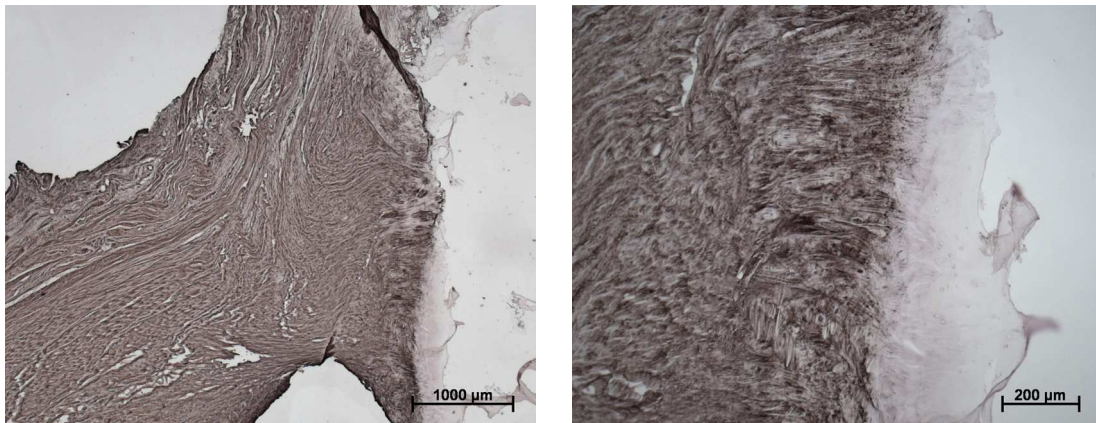


Abbildung 41: M. flexor carpi ulnaris, Markierung für COMP, Enthese am Os pisiforme in Übersicht (links), Detail der Enthese am Os pisiforme (rechts).

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	o
2	+	+	+	o
3	+	+	+	o
4	+	+	+	o
5	+	+	+	o
6	+	+	+	o
7	+	+	+	o
8	+	+	n.v.	n.v.
9	+	+	+	o
10	+	+	+	o
11	+	n.v.	n.v.	o
Gesamt	11/11	10/10	9/9	0/10

Tabelle 39: COMP-Färbung, Anheftungszonen des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

Bei 11/11 Präparaten zeigte sich im Bereich des Bandes und in der verkalkten wie unverkalkten Faserknorpelzone der Enthese an beiden Enden eine Farbmarkierung, die lediglich im verkalkten Faserknorpel unregelmäßig erschien (Tabelle 41). Die Knochenfragmente waren bei 0/11 Präparaten farblich markiert (Abbildung 43).

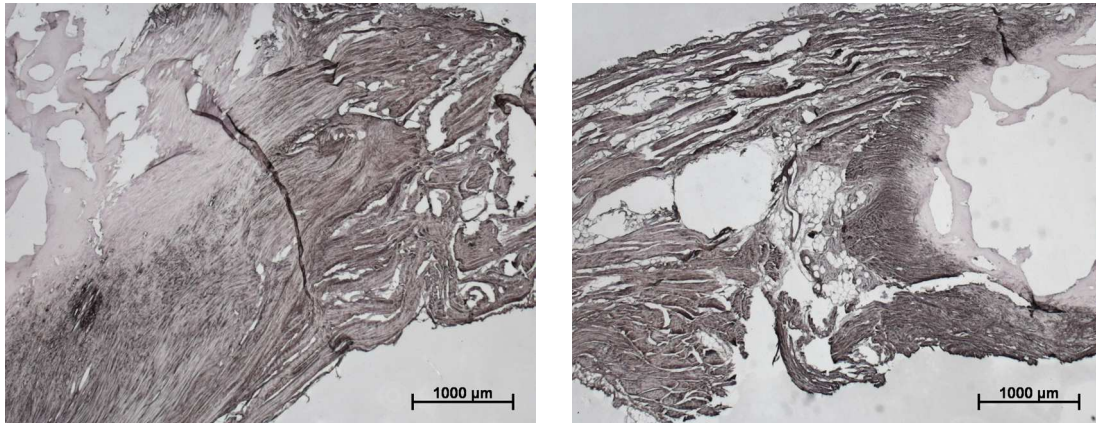


Abbildung 42: Lig. pisohamatum, Markierung für COMP; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	o	+	+	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	+	+	+	+	+	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	+	+	+	+	+	o
Gesamt	0/11	11/11	11/11	11/11	11/11	11/11	0/11

Tabelle 40: COMP-Färbung, Anheftungszone des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

11/11 der untersuchten Bänder waren farbmarkiert (Tabelle 41). Das Gleiche galt für die Anheftungsstellen mit ihren unverkalkten und verkalkten Faserknorpelzonen, wobei das Färbemuster im verkalkten Faserknorpel unregelmäßig erschien. Bei 0/11 Präparaten zeigten beide Knochenfragmente keine Farbreaktion (Abbildung 43).

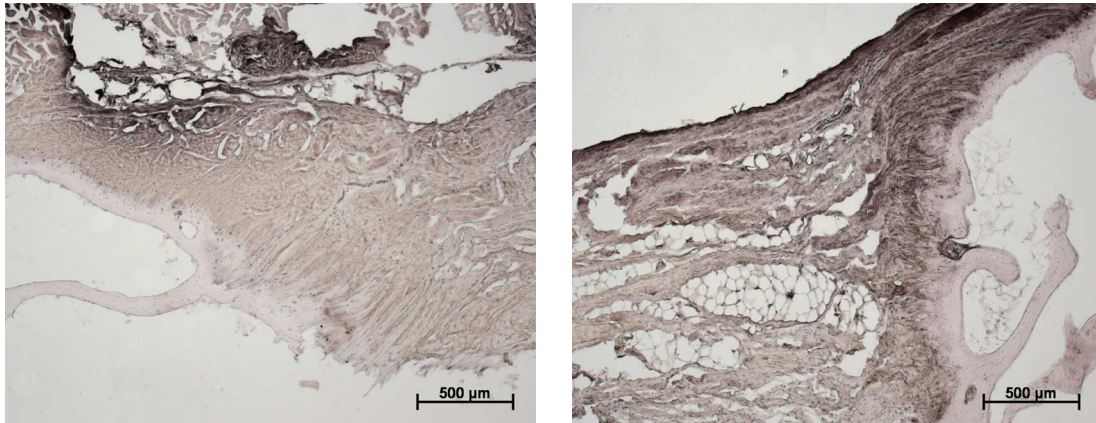


Abbildung 43: Lig. pisometarpale, Markierung für COMP; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel	Knochen	
		verkalkt	unverkalkt				unverkalkt
1	o	+	+	+	+	+	o
2	o	+	+	+	+	+	o
3	o	+	+	+	+	+	o
4	o	+	+	+	+	+	o
5	o	+	+	+	+	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	o	+	+	+	+	+	o
9	o	+	+	+	+	+	o
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	n.v.	n.v.	+	+	+	o
Gesamt	0/11	10/10	10/10	11/11	11/11	11/11	0/11

Tabelle 41: COMP-Färbung, Anheftungsstellen des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4.6 CMP

M. flexor carpi ulnaris

Der verwendete Antikörper markierte in allen untersuchten Abschnitten, jedoch mit unterschiedlichem Muster. Im Bereich der Sehne waren 9/10, im Bereich der unverkalkten Faserknorpelzone der Enthese 8/9 Präparate mit einer leichten Farbreaktion zu verzeichnen (Tabelle 42). In der verkalkten Faserknorpelzone waren 9/9 Präparate positiv markiert. Die Farbreaktionen erschienen deutlich kräftiger. Der Knochen markierte sich in 5/10 der untersuchten Proben (Abbildung 44).

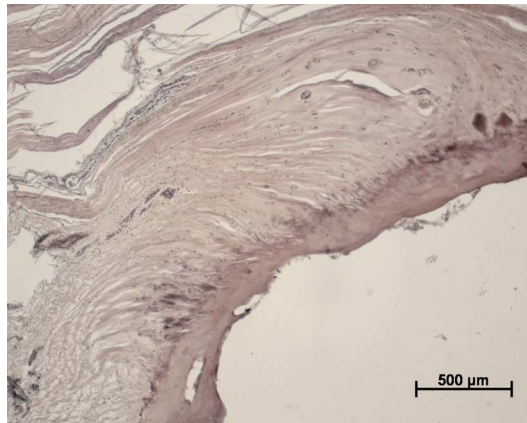


Abbildung 44: Enthese der Sehne des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für CMP.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+
2	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	o	o	+	o
6	+	+	+	o
7	+	+	+	o
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	o
11	+	n.v.	n.v.	o
Gesamt	9/10	8/9	9/9	5/10

Tabelle 42: CMP-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

9/11 bzw. 11/11 Präparate zeigten eine mittelgradige Farbreaktion im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone der Anheftungszonen (Tabelle 43). Die Farbreaktion im unverkalkten Faserknorpel und im Band war nur als leicht zu beschreiben und in 9/11 sowie 10/11 Präparaten als positiv zu verzeichnen. Im Knochen kam es bei 5/11 Präparaten zu Farbreaktionen (Abbildung 45).

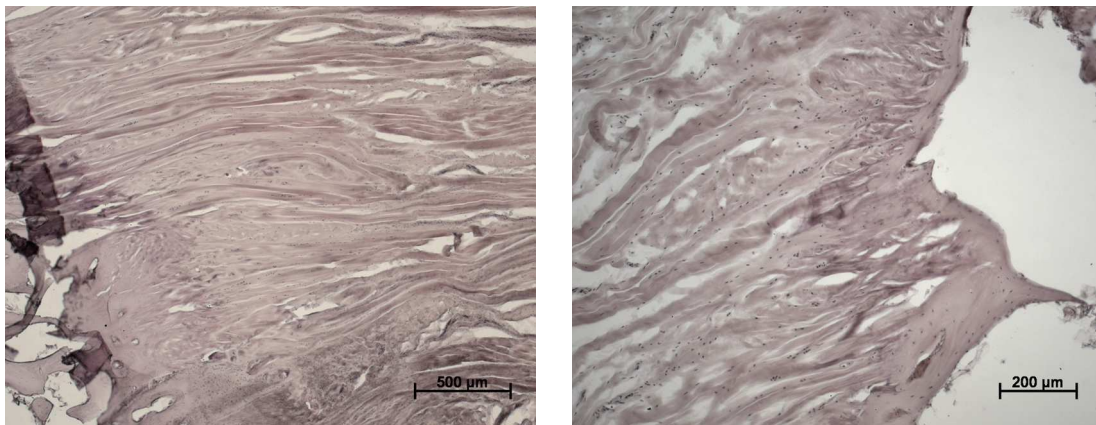


Abbildung 45: Lig. pisohamatum, Markierung für CMP; Enthesis am Os pisiforme (links), Enthesis am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthesis am Os pisiforme			Band	Enthesis am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	o	+	o	+	o	+	o
2	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	+	+	+	+	+	o
Gesamt	5/11	11/11	9/11	10/11	9/11	11/11	5/11

Tabelle 43: CMP-Färbung, Anheftungszonen des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometacarpeum

Bei 10/11 Präparaten zeigte sich im Bereich des Bandes und bei 9/11 bzw. 8/11 Präparaten im Bereich der unverkalkten Faserknorpelzone der Anheftungszone eine leichte Farbmarkierung (Tabelle 44). Der verkalkte Faserknorpel zeigte bei 10/10 Präparaten an beiden Enden eine deutliche Farbmarkierungen. In den Knochenfragmenten kam es bei 5/11 Präparaten am Os pisiforme und bei 4/11 Präparaten am Os metacarpale V zu Farbreaktionen (Abbildung 46).

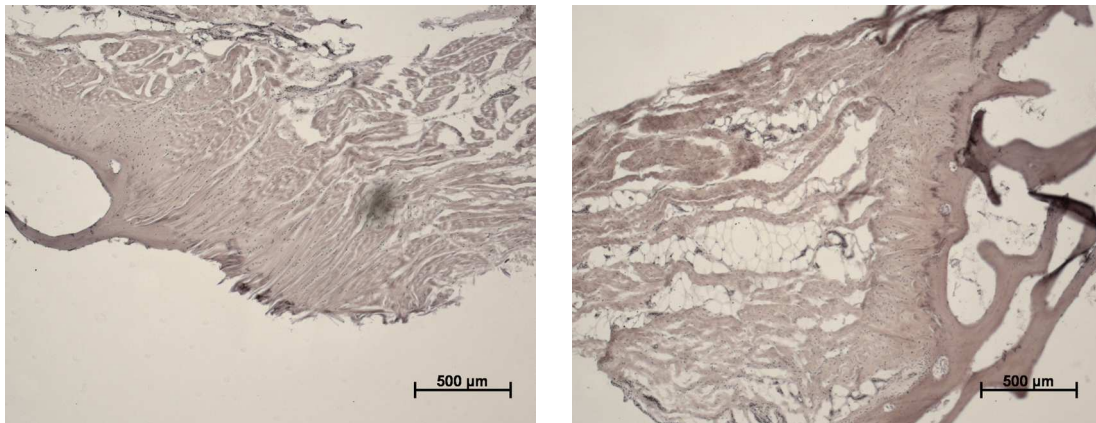


Abbildung 46: Lig. pisometarpale, Markierung für CMP; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
1	+	+	+	+	o	+	o
2	o	+	+	+	n.v.	n.v.	o
3	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	+	+	+	+	o
7	o	+	+	+	+	+	o
8	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+
10	o	+	+	+	+	+	o
11	o	n.v.	n.v.	+	+	+	o
Gesamt	5/11	10/10	9/10	10/11	8/10	10/10	4/11

Tabelle 44: CMP-Färbung, Enteses des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.1.4.7 Fibromodulin

M. flexor carpi ulnaris

Der verwendete Antikörper zeigte lediglich im Bereich der Zementlinie der verkalkten Faserknorpelzone bei 5/6 Präparaten eine mittelgradige Farbreaktion (Tabelle 45). In allen anderen Bereichen war keine Farbmarkierung nachzuweisen (Abbildung 47).

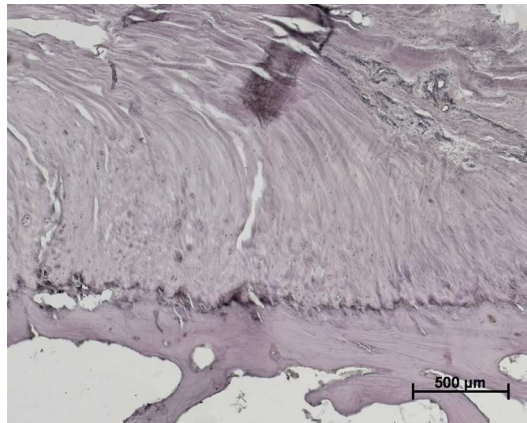


Abbildung 47: Enthese der Sehne des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme, Markierung für Fibromodulin.

Präparatnr.	Sehne	Enthese am Os pisiforme		
		Faserknorpel		Knochen
		unverkalkt	verkalkt	
3	o	o	o	o
4	o	o	+	o
6	o	o	+	o
7	o	o	+	o
9	o	o	+	o
10	o	o	+	o
Gesamt	0/6	0/6	5/6	0/6

Tabelle 45: Fibromodulin-Färbung, Anheftungszone des M. flexor carpi ulnaris. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisohamatum

Bei 4/5 bzw. 6/6 Präparaten zeigte sich nur eine sehr leichte bis leichte Farbreaktion im Bereich der Zementlinie der verkalkten Faserknorpelzonen (Tabelle 46). In den anderen Bereichen fand keine Farbreaktion statt (Abbildung 48).

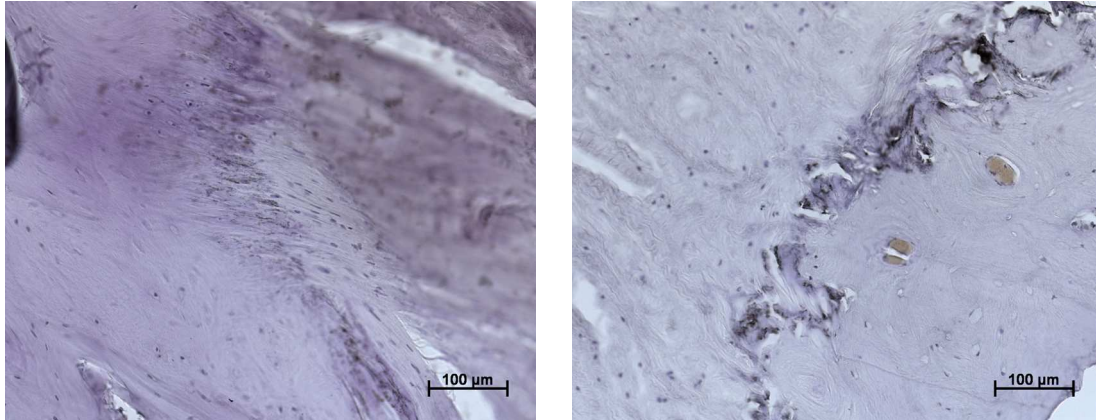


Abbildung 48: Lig. pisohamatum, Markierung für Fibromodulin; Enthese am Os pisiforme (links), Enthese am Hamulus (rechts).

Präparatnr.	Enthese am Os pisiforme			Band	Enthese am Hamulus		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
3	o	o	o	o	o	+	o
4	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	o	o	o	+	o
7	n.v.	n.v.	o	o	o	+	o
9	o	+	o	o	o	+	o
10	o	+	o	o	o	+	o
Gesamt	0/5	4/5	0/6	0/6	0/6	6/6	0/6

Tabelle 46: Fibromodulin-Färbung, Anheftungszone des Lig. pisohamatum. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

Lig. pisometarpale

In 5/6 Präparaten war eine leichte Farbreaktion im Bereich der Zementlinie der verkalkten Faserknorpelzone der Anheftungszonen zu verzeichnen (Tabelle 47). Die anderen Bereiche zeigten sich nicht markiert (Abbildung 49).

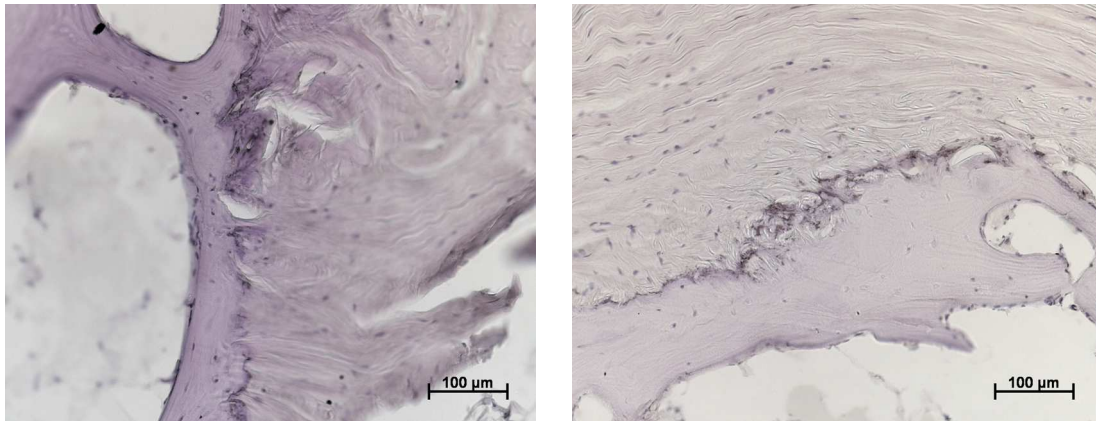


Abbildung 49: Lig. pisometarpale, Markierung für Fibromodulin; Enthesis am Os pisiforme (links), Enthesis am Os metacarpale V (rechts).

Präparatnr.	Enthesis am Os pisiforme			Band	Enthesis am Os metacarpale V		
	Knochen	Faserknorpel			Faserknorpel		Knochen
		verkalkt	unverkalkt		unverkalkt	verkalkt	
3	o	+	o	o	o	+	o
4	o	+	o	o	o	+	o
6	o	+	o	o	o	+	o
7	o	o	o	o	o	+	o
9	o	+	o	o	o	+	o
10	o	+	o	o	o	o	o
Gesamt	0/6	5/6	0/6	0/6	0/6	5/6	0/6

Tabelle 47: Fibromodulin-Färbung, Anheftungszonen des Lig. pisometarpale. o = keine Markierung, + = positive Markierung, n.v. = nicht verwertbar

3.2 Morphometrische Messungen

Die Flächenmessung der Kollagen-Typ II- positiven Zone der jeweiligen Enthese lieferte in den untersuchten Proben folgende Ergebnisse: Die flächig größte Ausdehnung dieser Zone war trotz individueller Unterschiede bei allen Präparaten in der Enthese des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme (Fragment A) zu finden. In den beiden Bändern Lig. pisohamatum (Fragment B) und Lig. pisometacarpale (Fragment C) war bei allen Präparaten die jeweilige Kollagen-Typ II- positive Fläche am Os pisiforme (proximales Ende) größer als die entsprechende am Hamulus oder am Os metacarpale V (Diagramm 1).

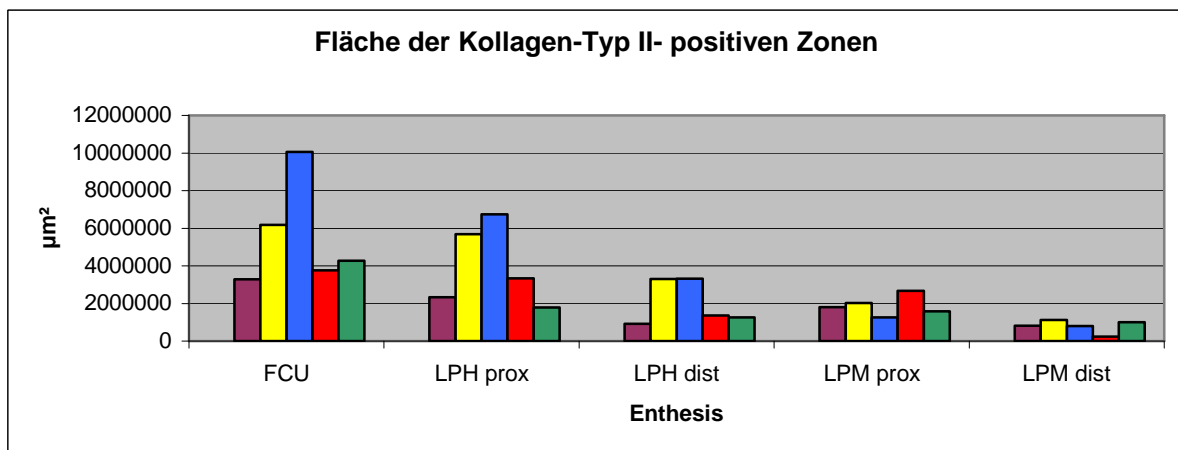


Diagramm 1: FCU= M. flexor carpi ulnaris, LPH= Lig. pisohamatum, LPM= Lig. pisometacarpale, dist= distal, prox= proximal

Um die individuellen Messwerte besser miteinander vergleichen zu können, wurden die Daten normalisiert, wobei die Fläche der Enthese des M. flexor carpi ulnaris gleich 100% gesetzt wurde. Der weitere Kurvenverlauf im Diagramm 2 zeigt die jeweilige Änderung der Flächengröße in Prozenten dazu.

Ergebnisse

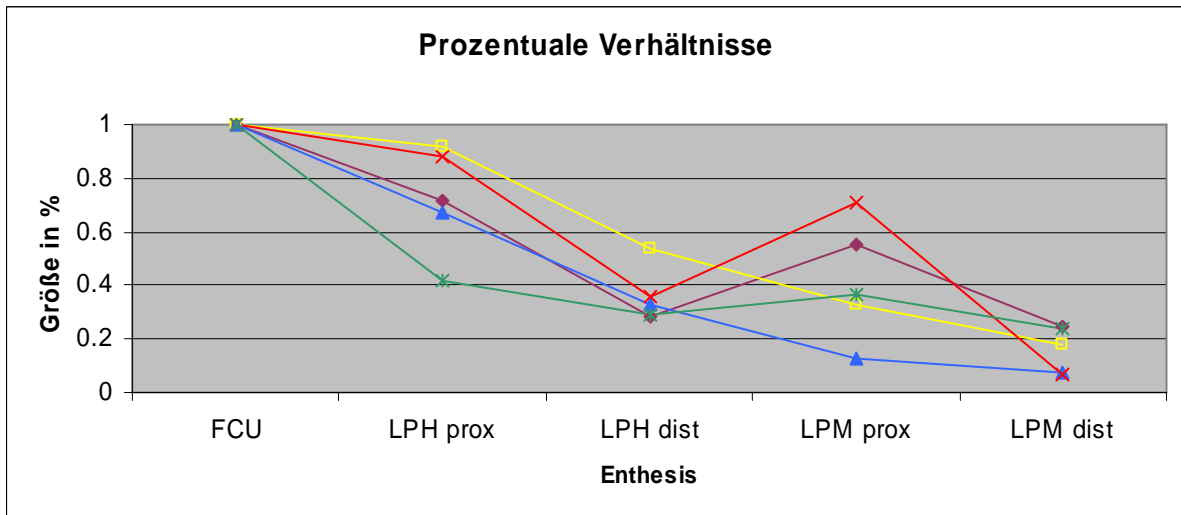


Diagramm 2: FCU= M. flexor carpi ulnaris, LPH= Lig. pisohamatum, LPM= Lig. pisometacarpale, dist= distal, prox= proximal

Nach Betrachtung der individuellen Messwerte der unterschiedlichen Präparate wurde das Mittel der Werte für jede Enthese bestimmt und mit den zugehörigen Standardabweichungen im Diagramm 3 graphisch dargestellt.

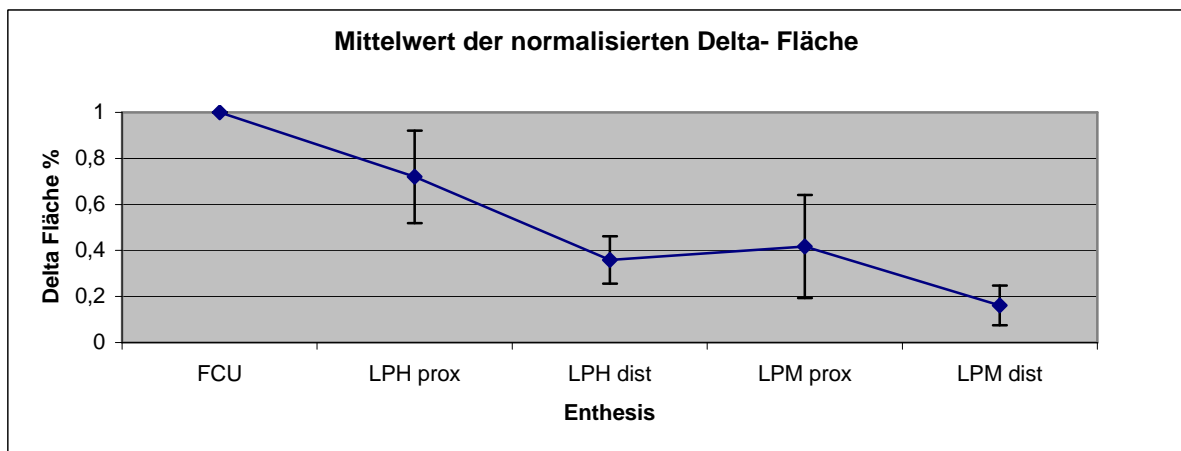


Diagramm 3: FCU= M. flexor carpi ulnaris, LPH= Lig. pisohamatum, LPM= Lig. pisometacarpale, dist= distal, prox= proximal

Es zeigte sich die Tendenz der Abnahme der Flächengrößen von proximal nach distal. Auffallend ist der Größenunterschied in den Kollagen-Typ II- positiven Zonen der distalen Enthese des Lig. pisohamatum und der Enthese des Lig. pisometacarpale.

4 Diskussion

4.1 Wertigkeit der Methodik

4.1.1 Präparatentnahme und Vorbereitung

Ein Problem bei der immunhistochemischen Untersuchung von Geweben, welche post mortem entnommen wurden, stellt immer die durch Autolyse bedingte Veränderung der Gewebeprobe dar. Hierbei kann die Struktur der zu markierenden Antigene durch freigesetzte lysosomale Enzyme so verändert werden, dass ein sicheres Erkennen durch einen spezifischen Antikörper nicht mehr gewährleistet ist. Um Veränderungen dieser Art möglichst gering zu halten, wurden alle Proben bis längstens 48 Std. post mortem entnommen. Die anschließende Fixierung fand mit 100%igem Methanol statt. Methanol als Fixierungsmittel hat den Vorteil, dass es die endogene Peroxidaseaktivität im Gewebe unterbindet und somit zur Vermeidung falsch positiver Markierungen beiträgt, da die hier verwendete Markierungsmethode ebenfalls auf Peroxidaseaktivität beruht.

Bei der Herstellung der Gefrierschnitte waren unterschiedliche Probleme zu berücksichtigen. Die verschiedenen Materialien der zu untersuchenden Probe führten vor allem an der Grenze zwischen Knochen und Weichgewebe immer wieder zu Faltenbildung und Zerreißen des Schnittes. Um dies zu vermeiden, wurde versucht, möglichst immer in Richtung vom weichen zum festen Gewebe zu schneiden. Deshalb war es erforderlich, das Lig. pisometacarpale makroskopisch in zwei Teile zu teilen und so immer von der Mitte her in Richtung auf die jeweilige Enthesis schneiden zu können. Beim Lig. pisohamatum bestand diese Möglichkeit nicht, da es für eine makroskopische Zweiteilung zu kurz ist. Hier erfolgte die Schnittrichtung immer vom Os pisiforme aus in Richtung Hamulus, weshalb es nicht immer gelang, die Enthesis am Os pisiforme faltenfrei darzustellen.

Ein weiteres Problem stellte die räumliche Orientierung sowie das eindeutige Erkennen der jeweiligen Enthesis dar. Die Einteilung des Pisiformesterns in die drei Fragmente benötigte eine Dreiteilung des ohnehin nicht sehr großen Os pisiforme. Dabei war es schwierig, die Einteilung so zu treffen, dass die jeweiligen Enthesisbereiche am Os pisiforme entsprechend auf die Fragmente aufgeteilt sind.

In der darauf folgenden Schnittführung am Microtom wurde versucht, immer rechtwinkelig zur Enthese in longitudinaler Richtung zum Verlauf des Bandes / der Sehne zu schneiden, was wiederum die kugelige Form des Os pisiforme erschwerte.

4.1.2 Immunhistochemische Färbung

Antikörper haben die Eigenschaft, mittels des Schlüssel-Schloss-Prinzips an spezifische Proteinstrukturen zu binden, ein Verhalten, das man sich bei der immunhistochemischen Färbung zu Nutze macht (Kiernan 1999, Lehninger et al. 1994). Voraussetzung für einen Nachweis mittels Immunreaktion ist, dass der Antikörper spezifisch für die nachzuweisende Struktur ist. Um dies zu gewährleisten, wurden in dieser Studie ausschließlich monoklonale Antikörper zur Markierung verwendet, da diese die Spezifität polyklonaler Antikörper in der Regel übertreffen (Milz 2002). Um das Risiko von eventuellen Kreuzreaktionen zu minimieren, wurde lediglich auf gut charakterisierte und bereits etablierte Antikörperklone renommierter Hersteller zurückgegriffen (Tabelle 2).

Bei dem verwendeten Detektorsystem erfolgte die Erkennung des gebundenen Primärantikörpers mittels eines biotinierten Sekundärantikörpers (hergestellt im Pferd), welcher mit einem Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex reagiert, der wiederum mit Hilfe eines Chromogens einen Farbniederschlag bildet. Zur Verwendung kam das Avidin-Biotin-Peroxidase-Detektions-Kit (Vectastain ABC 'Elite', Vector Labs., Burlingame, Ca., USA), welches weltweit bei zahlreichen ähnlichen Projekten eingesetzt wird. Bei dieser Methode ist jedoch zu berücksichtigen, dass der erzielte Farbniederschlag nur zur qualitativen Auswertung herangezogen werden kann und nicht zur quantitativen Analyse, da die Farbniederschlagmenge (d.h. die Farbintensität) nicht unbedingt mit der Menge des vorhandenen Antigens korreliert (Milz 2002).

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Histologische Ergebnisse

Das fibrilläre Kollagen-Typ I kommt typischerweise in straffen Geweben, wie z. B. der Haut, den Sehnen oder der Knochen mit variierender Verteilung vor (Welsch 2003). Es liefert diesen die mechanische Stabilität gegenüber Belastungen auf Zug (Kielty & Shuttleworth 1993). Die vorliegende Untersuchung zeigt ein typisches Verteilungsmuster des Moleküls mit gleichmäßigem Vorkommen in allen untersuchten Sehnen/ Bändern, sowie Knochenfragmenten. Lediglich die Anheftungszone der untersuchten Sehnen/ Bänder weisen eine Kollagen-Typ I-freie Zone auf, welche in der Literatur als Gap-Phänomen beschrieben wurde. In dieser Kollagen-Typ I-freien Zone findet sich mit eher rundlichen und in Reihen angeordneten Zellen eine andere Zellmorphologie als in den Sehnen/ Bändern. Dieses zellmorphologische Bild entspricht dem eines Enthesefaserknorpels, der die Zugsehnenanteile von den jeweiligen knöchernen Anheftungspunkten trennt.

Kollagen-Typ II ist ein für hyalinen Knorpel typisches fibrilläres Molekül (Welsch 2003). Es wird aber auch in Sehnen beschrieben und mit dem Auftreten bestimmter mechanischer Situationen diskutiert (Vogel 1995, Milz et al. 1998). Klinisch wird Kollagen Typ II mit Erkrankungen des rheumatoiden Formenkreises in Verbindung gebracht (Zhang et al. 1998). In den hier vorliegenden Ergebnissen zeigt sich im Bereich der Anheftungszone ein Vorkommen von Kollagen-Typ II. Dieses erstreckt sich weitgehend auf die zellmorphologisch beschriebene Zone des Enthesefaserknorpels, ist aber größer als die Kollagen-Typ I freie Zone und bildet somit einen Überlappungsbereich mit dieser.

Kollagen-Typ III ist wie Kollagen-Typ I und II ebenfalls ein fibrilläres Kollagen, charakteristisch für faserreiches Bindegewebe. Es kommt vermehrt in Geweben mit elastischen Eigenschaften vor, (Welsch 2003). In Sehnen findet sich Kollagen Typ III in erster Linie im Bereich des lockeren Hüllgewebes der Primär-, Sekundär- und Tertiärbündel (Zschäbitz 2005). Hier zeigte sich eine Verteilung in allen Bereichen der Sehnen/ Bänder, jedoch mit einem unregelmäßigeren Vorkommen im Bereich der Anheftungszone.

Diskussion

Kollagen-Typ VI gehört zu den mikrofibrillären Kollagenen. Es kommt sowohl im lockeren als auch im straffen Bindegewebe vor (Drenckhahn 2003). Es spielt eine Rolle bei der Befestigung von Bindegewebszellen an Makromolekülen der extrazellulären Matrix sowie bei der Befestigung der Makromoleküle der extrazellulären Matrix untereinander (Baldock et al. 2003, Bray et al. 1993). Dementsprechend zeigte sich ein dem Kollagen-Typ I vergleichbares Verteilungsmuster.

Insgesamt ergibt sich durch die abgegrenzten Markierungen von Kollagen-Typ I in Band und Enthesis und Kollagen-Typ II in der Enthesis eine zonale Gliederung, die der morphologischen Einteilung der Faserknorpelzone entspricht. Im Vergleich der untersuchten Anheftungszonen untereinander ist ein Größenunterschied aufgefallen mit einer Größenabnahme der Kollagen-Typ II positiven Zone von der proximalen Enthesis des M. flexor carpi ulnaris zu den distalen Anheftungszonen des Lig. pisohamatum und des Lig. pisometacarpale, der an späterer Stelle diskutiert wird.

Glykosaminoglykane sind lineare Polysaccharide aus repetitiven Disaccharideinheiten, die immer mindestens eine anionische Gruppe in Form eines Carboxylrestes oder in Form eines an den Zucker gebundenen Sulfatrestes besitzen. Sie sind daher stark sauer und haben dementsprechend die Eigenschaft, basische Stoffe (z.B. Farbstoffe) zu binden (Drenckhahn 2003). Die hohe negative Ladungsdichte führt im Gewebe zu einer Einlagerung von Kationen, wie Natrium, Kalium Kalzium und Wasser (Stryer 1994). Dadurch wird dem Gewebe die mechanische Eigenschaft der Druckresistenz verliehen. Die Zusammensetzung der extrazellulären Matrix im Hinblick auf die Verteilung der Glykosaminoglykane ist abhängig von der mechanischen Stimulation eines Gewebes (Gillard et al. 1979, Vogel & Koob. 1989, Flint et al. 1984). So kommen Dermatansulfat und Keratansulfat bereits in nur auf Zug beanspruchten Geweben vor, während Chondroitin-4-sulfat in bereits geringfügig druckbeanspruchten Geweben zu finden ist. Chondroitin-6-sulfat ist charakteristisch für deutlicher druckbeanspruchte Gewebezonen und markiert bereits einen faserknorpeligen Gewebsphänotyp (Milz et al. 2005).

Diese Aussagen decken sich weitgehend mit den vorliegenden Befunden und den Vorstellungen von der Beanspruchung der entsprechenden Gewebepartien. Chondroitin-6-sulfat zeigte hier im hauptsächlich zugbelasteten Bereich der Sehnen /

Diskussion

Bänder nur ein geringes Vorkommen, dagegen in den Anheftungszone ein deutlich gehäuftes Vorkommen. Dies ist ein zuverlässiges Zeichen, dass in diesen Zonen lokale Scher- und Druckbelastungen auf das Gewebe einwirken.

Die gleichmäßige Markierung für Chondroitin-4-sulfat in allen untersuchten Abschnitten von Sehnen, Bändern und Anheftungszone kann als Indiz für eine allgemeine geringfügige Druck- und eher vorliegende Zugbeanspruchung des Gewebes angesehen werden.

Chondroitin-4-, Dermatan- und Keratansulfat zeigen in den zugbelasteten Sehnen-Bandabschnitten eine gleichmäßige Verteilung, dagegen im Enthesisbereich ein unregelmäßiges Verteilungsmuster. Dies kann als ein weiterer Hinweis auf die unterschiedliche mechanische Beanspruchung des Gewebes gewertet werden und spiegelt letztlich den aus dieser Beanspruchung resultierenden Gewebsphänotyp wieder.

Proteoglykane sind ebenfalls Moleküle der extrazellulären Matrix, die aufgrund ihres anionischen Charakters kationische Farbstoffe binden können (Drenkhahn 2003). Sie kommen in praktisch allen faserreichen Bindegeweben vor. Ein wichtiger Vertreter dieser Stoffgruppe ist das Aggrecan, welches charakteristischerweise im Gelenkknorpel sowie in Zonen mit intermittierend einwirkenden Druckbelastungen gefunden wird (Evanko & Vogel 1993, Robbins et al. 1997).

Aggrecan und sein assoziiertes Link-Protein gelten als typisch für Faserknorpelgewebe (Boszczyk et al. 2003). Beide Moleküle werden darüber hinaus mit der rheumatoiden Arthritis in Verbindung gebracht (Zhang et al. 1998).

In den hier untersuchten Sehnen- und Bandansätzen fanden sich bei allen Präparaten Aggrecan und Link-Protein im Bereich der Anheftungszone. Zudem fand sich Aggrecan in zwei der untersuchten Ligg. pisohamata und in einem Lig. pisometacarpale ebenfalls im Bereich der Bandmitte. Das Vorkommen dieser Moleküle in Verbindung mit Kollagen-Typ II unterstreicht den faserknorpeligen Charakter dieser Gewebe. Link-Protein fand sich in Sehnen- / Bandmitte in einem Präparat in der Sehne des M. flexor carpi ulnaris und im Lig. pisometacarpale, ebenfalls in Zonen welche positiv für Kollagen-Typ II markierten.

Versican und Tenascin sind Proteoglykane mit ubiquitärem Vorkommen in der extrazellulären Matrix von faserreichen Bindegeweben (Drenkhahn 2003). Beide Moleküle sind kleiner als Aggrecan und können weniger Wasser binden. In den untersuchten Strukturen zeigte sich in allen Präparaten ein Vorkommen sowohl in

Diskussion

Sehne/ Band und Enthesis, wobei jedoch des Vorkommen im Bereich der Kollagen-Typ I- freien Zone unregelmäßig erschien. In den knöchernen Teilen der Anheftungszonen zeigen sich die Osteozyten sowohl für Versican als auch für Tenascin positiv.

Das Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP) ist ein in Knorpel, Sehnen und Bändern vorkommendes Glykoprotein (Hedbom et al. 1992, DiCesare et al. 1994) Es kommt keineswegs nur in hyalinem Knorpel vor, sondern ist bereits bei geringfügiger Ausprägung eines (faser-)knorpeligen Gewebephänotyps vorhanden. COMP besitzt einen fünfarmigen Aufbau (Mörgelin et al. 1992) und hat die Eigenschaft an Kollagene vom Typ I und II zu binden (Smith et al. 2002, Södersten et al. 2005). Als Funktion wird die Beteiligung an der suprafibrillären Organisation der Kollagenfibrillen diskutiert (Smith et al. 2002). Seine Bildung wird durch Zug und Druck stimuliert. Es tritt vor allem in sog. Energiespeichersehnen auf und zeigt eine altersabhängige Verteilung im Gewebe (Smith et al. 2002, Södersten et al. 2005). Es wird als eines der möglichen Autoantigene der rheumatoiden Arthritis diskutiert (Andersson et al. 2006)

In der vorliegenden Untersuchung fand sich COMP in den untersuchten Sehnen/ Bändern sowie in deren Anheftungszonen, jedoch mit unregelmäßigerer Verteilung im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone. In den Knochenfragmenten zeigte sich keine positive Markierung für COMP. Dies deckt sich mit den in der Literatur beschriebenen Eigenschaften, da die Sehne des M. flexor carpi ulnaris zu den energiespeichernden Sehnen gerechnet wird.

Matrilin-1 gilt als das Hauptprotein der Gruppe der sog „Cartilage Matrix Proteins“ (CMP). Es kommt in unterschiedlichen Knorpelgewebeformen, unter anderem auch in verkalktem Knorpel vor (Paulsson & Heinegard 1981, Wagener et al. 2005). Generell wird Matrilin-1 als Marker für postmitotische Chondrozyten angesehen, da es in den Epiphysenfugen nur in der Reifungszone sowie in der Zone der hypertrophen Chondrozyten vorkommt (Mundlos & Zabel 1994, Chen et al. 1995). Matrilin-1 ist im Gegensatz zu Matrilin-3 sowohl im fetalen als auch im adulten Knorpelgewebe zu finden (Klatt et al. 2002). Interessanterweise wurde Matrilin-1 in Extrakten von hyalinem Gelenknorpel, von Anulus fibrosus und Nucleus pulposus nicht nachgewiesen, wohl aber in Extrakten von Tracheal-, Nasenseptum-, Ohr- und Sternalknorpel (Paulsson & Heinegard 1982). Im transgenen Mausmodell lässt sich ein Signal- Transduktions- Weg des Matrilin-1 Gens nachweisen, der dem des

Diskussion

Kollagen-Typ XI- Gens (col11a2) sehr ähnelt (Karcagi et al. 2004). Kollagen Typ XI spielt wie COMP eine Rolle bei der Organisation von Kollagenfibrillen (Bridgwater et al. 1998). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten darüber hinaus, dass Komplexe aus Biglycan/Matrilin-1 oder Decorin/Matrilin-1 Kollagen Typ VI Mikrofibrillen an Kollagen-Typ II- Fibrillen oder alternativ an Aggrecan binden (Wieberg et al. 2003). Als Funktion für Matrilin-1 wird die Zell- Matrix- Interaktion diskutiert (Wagener et al. 2005). Jedoch ließ sich im Knock- out- Versuch keine gravierende Phänotypveränderung finden, was möglicherweise darauf hindeutet, dass andere Matrixbestandteile dessen Funktion übernehmen können (Aszodi et al. 1999). Klinisch spielen Autoantikörper gegen Matrilin-1 in der rezidivierenden Polychondritis eine Rolle (Bruckner et al. 2000, Gergely & Poor 2004). In rheumatoid verändertem Knorpelgewebe ließ sich ebenfalls ein erhöhtes Vorkommen von Matrilin-1 nachweisen (Wagener et al. 2005).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bezüglich der Verteilung von CMP entsprechen den in der Literatur gefundenen Angaben. Es zeigte sich ein unterschiedlich stark markiertes Vorkommen von CMP in allen untersuchten Bereichen der Sehnen/ Bänder, wobei jedoch die im Vergleich zu den anderen Abschnitten sehr viel kräftigere Markierung im Bereich der verkalkten Faserknorpelzone auffällt. Dies korreliert mit dem zuvor beschriebenen Vorkommen von Kollagen Typ II und Aggrecan in diesen Bereichen und der Interaktion von Matrilin-1 mit diesen Molekülen. Die Zellen des verkalkten Knorpels werden allgemein als postmitotische Zellen klassifiziert. Somit entspricht deren Markierung den Befunden am wachsenden Knorpel der Epiphysenfugen (Mundlos & Zabel 1994, Chen et al. 1995).

Fibromodulin gehört in die Klasse der kleinmolekularen leucinreichen Proteoglykane. Es kommt in der extrazellulären Matrix verschiedener Bindegewebe vor. Es besitzt die Eigenschaft, sowohl an Kollagen-Typ I wie an Typ II zu binden (Hedbom & Heinegard 1993). Immunhistochemische Untersuchungen am Periodontium von Ratten zeigten ein Vorkommen vor allem am Übergang vom Weichgewebe (straffes Bindegewebe) zum Hartgewebe (Knochen und Zement). Basierend auf diesen Ergebnissen wird diskutiert, ob es an der Befestigung von weichem an hartem Gewebe beteiligt ist (Qian et al. 2004). Eine weitere Untersuchung zeigte die Verteilung von Fibromodulin im Bereich der Kapsel des temporo-mandibulären-

Gelenkes, und hier vor allem im Discus articularis (Wadhwa et al. 2005). Aufgrund seiner Eigenschaft, an fibrilläres Kollagen zu binden, wird es mit einer Funktion in der Fibrillogene in Verbindung gebracht (Vogel et al. 1984, Hedbom & Heinegard 1989). Diese These wird gestützt durch eine Untersuchung der Achillessehne einer Fibromodulin-knock-out- Maus, in der eine ungewöhnliche Kollagenfibrillenordnung beschrieben wurde (Chakravarti 2003). In entzündlich verändertem Gewebe kommt es zu einer vermehrten Expression von Fibromodulin (Venkatesan et al. 2000, Qian et al. 2004). Hintergrund dieser Beobachtung könnte die Interaktion von Fibromodulin mit Teilen des Komplementsystems sein (Sjöberg et al. 2005).

Das hier aufgetretene Färbemuster des fibromodulinspezifischen Antikörpers deutet auf eine Verteilung von Fibromodulin im Bereich der Anheftungs zonen aller Sehnen/ Bänder hin, hier vor allem im Bereich der Tidemark sowie der Zementlinie. Damit wird die Hypothese, dass Fibromodulin an der Verbindung von weichen und harten Geweben beteiligt ist, gestützt. Darüber hinaus wirft das Markierungsmuster der Tidemark zwischen verkalktem und unverkalktem Faserknorpel der Enthese die Frage auf, ob Fibromodulin an der Vermittlung der mechanischen Verbindung von Kollagen Typ I und Kollagen Typ II beteiligt sein könnte.

4.2.2 Morphometrische Ergebnisse

Alle untersuchten Sehnen- / Bandansätze zeigten einen deutlichen faserknorpeligen Aufbau. Dieser ist gekennzeichnet durch das Vorhandensein von Kollagen-Typ II, sowie von Aggrecan in der extrazellulären Matrix (Benjamin et al. 1998), welche sich in nahezu allen untersuchten Anheftungs zonen in unterschiedlicher Ausdehnung finden ließen. Darüber hinaus findet sich in Kollagen-Typ II positiven Bereichen teilweise keine Markierung für Kollagen-Typ I (Gap phänomen).

Es gibt in der Literatur zahlreiche Arbeiten, die sich mit der Zusammensetzung der extrazellulären Matrix von Geweben unter dem Gesichtspunkt der einwirkenden mechanischen Kräfte beschäftigt haben. Dabei wurden für verschiedene mechanische Stimuli charakteristische Verteilungsmuster beschrieben (Gillard et al. 1979, Benjamin & Evans 1990, Vogel 1995, Milz et al. 2005). Die Anheftung einer Sehne / eines Bandes am Knochen über eine faserknorpelige Enthese wird schon seit geraumer Zeit mit dem Einwirken von lokalen Scher- und Druckkräften in

Verbindung gebracht. Solche Bedingungen ergeben sich unter anderem bei Winkeländerungen der Zugrichtung der angreifenden Sehne bei Gelenkbewegung (Schneider 1956, Benjamin & Ralphs 1998, Milz et al. 2005). Der faserknorpelige Teil der Enthese lässt sich meist in einen nicht mineralisierten und in einen mineralisierten Abschnitt unterteilen. In beiden Zonen fand sich das für den Faserknorpel charakteristische Kollagen-Typ II und verdrängte teilweise das ansonsten gleichermaßen vorkommende Kollagen-Typ I.

Auffallend war, dass bei gleichem Durchmesser der Bänder (Lig. pisohamatum und Lig. pisometacarpale) die Ausdehnung der Kollagen-Typ II-positiven Markierung in den verschiedenen Anheftungszonen sich unterschiedlich groß zeigte. Zur Quantifizierung dieses Unterschiedes wurde die Größenausdehnung der verkalkten Zonen der Enthese morphometrisch bestimmt. Es muss jedoch bei der Interpretation der vorliegenden Daten berücksichtigt werden, dass nur die Präparate zur Flächenmessung herangezogen wurden, bei denen sicher war, dass sich die Schnittebene der jeweiligen Schnitte im zentralen Bereich der jeweiligen Enthese befand und deswegen nur eine Zahl von $n=5$ Präparaten vermessen werden konnte. Wie aus Diagramm 1 hervorgeht, war die flächig größte Ausdehnung der Kollagen-Typ II-positiven Zone der untersuchten Enthesen in allen Präparaten am Ansatz des M. flexor carpi ulnaris zu finden. Die kleinste Ausdehnung dagegen fand sich bei allen untersuchten Präparaten an der distalen Enthese des Lig. pisometacarpale an der Basis des Os metacarpale V.

Betrachtet man die biomechanische Situation der Handbewegung, so folgt das Os pisiforme, bedingt durch seine ligamentäre Führung über das Lig. carpale und die Retinacula flexorum und extensorum (Pevny et al. 1995) weitgehend den Bewegungen des sog. karpalen Blocks.

Beckers et al. (1996) sowie Moojen et al. (2001) haben die Positionsverschiebungen des Os pisiforme bei passiver und aktiver Bewegung der Hand beschrieben. Beckers et al. (1996) beschrieben bei einer passiven Bewegung der Hand um die transversale Achse (Flexion/ Extension) von jeweils 85° eine Winkeländerung der Längsachse des Os pisiforme zum Unterarm von 35° bei Flexion und 75° bei Extension.

Moojen et al. (2001) beschrieben bei einer aktiven Flexion/ Extension des Carpus von jeweils 60° eine Folgebewegung des Os pisiforme von 33° bei Flexion und 46° bei Extension.

Diskussion

Somit beträgt bei einem passiven Bewegungsumfang des Carpus von 170° die auftretende Winkeländerung des Os pisiforme 110° und bei einem aktiven Bewegungsumfang des Carpus von 120° die Winkeländerung des Os pisiforme 79° . Diese Zahlen gelten auch für die von der Enthese des M. flexor carpi ulnaris zu ertragende Winkelveränderung, da die Verlaufsrichtung der Sehne weitgehend konstant bleibt.

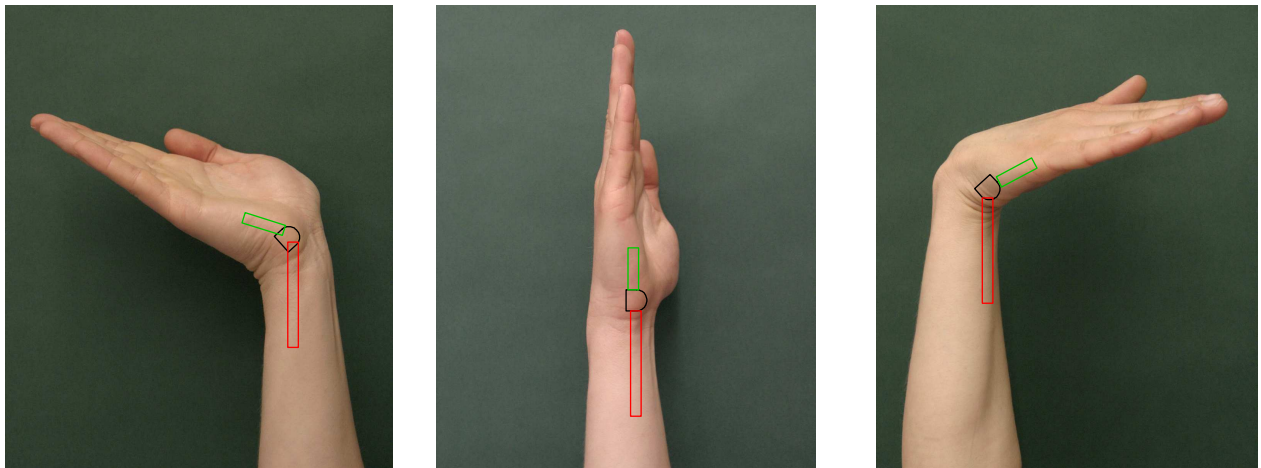


Abbildung 50: Schematische Darstellung der Enthesissituation am Os pisiforme während Flexion und Extension. rot= FCU, schwarz= Os pisiforme, grün= LPM und LPH

Für die weiter distal gelegenen Anheftungen des Pisiforme-Komplexes verbleibt somit letztlich eine Winkeländerung von 60° im Bezug auf die Messwerte der passiven Bewegung bzw. 41° Grad im Bezug auf die Messwerte der aktiven Bewegung. Diese zu erbringende Winkeländerung ist somit deutlich kleiner als bei der Anheftung des M. flexor carpi ulnaris und verteilt sich darüber hinaus je auf eine proximale und eine distale Enthese (Abbildung 50).

Somit untermauern diese Angaben aus der Literatur, dass bei Flexion/ Extension der Hand der größte Teil der Abknickung und dadurch bedingt das größte Auftreten von Scherkräften bzw. lokaler Kompression innerhalb des beschriebenen Systems in der Enthese des M. flexor carpi ulnaris auftritt und die von den Anheftungsstellen zu verarbeitende Winkeländerung nach distal abnimmt. Wir sehen das als Erklärung dafür an, warum sich hier die größte flächige Ausdehnung der Kollagen-Typ II-positiven Zone finden ließ und die Flächengrößen dieser Zonen nach distal hin abnehmen.

Diskussion

Zwei weitere Ergebnisse der morphometrischen Messung im Bezug auf das Lig. pisohamatum und Lig. pisometacarpale waren auffällig. Zum einen, dass bei beiden Bändern jeweils die Kollagen-Typ II- positive Zone an der jeweiligen Enthese am Os pisiforme eine größere Fläche aufwies als am entsprechendem distalen Ansatz und zum anderen, dass ein Größenunterschied in der Kollagen-Typ II- positiven Zone zwischen den distalen Anheftungen beider Bänder bestand.

Es soll zunächst auf die am Os pisiforme größere Kollagen-Typ II- positive Fläche eingegangen werden.

Betrachtet man die Bewegung der Hand um die sagittale Achse (Radial- und Ulnarduktion), so kommt diese dadurch zustande, dass sich die Knochen der Handwurzel gegeneinander verdrehen (Moriggl et al. 1999, Schmitt 2006). Für das Os pisiforme heißt das, dass bei einer passiven Radialduktion der Hand um 35° das Os pisiforme mit einer Winkeländerung gegenüber dem Radius von 15° folgt und bei einer passiven Ulnarduktion um 45° nur eine Winkeländerung von 5° zeigt (Beckers et al. 1996). Bei aktiver Bewegung der Hand nach radial um 20° folgt das Os pisiforme mit einer Winkeländerung von $11,6^\circ$ und bei einer aktiven Bewegung der Hand nach ulnar um 20° mit einer Bewegung von $5,6^\circ$ (Moojen et al. 2001).

Aus diesen Zahlen geht somit hervor, dass das Os pisiforme bei einer Bewegung der Hand um die sagittale Achse zwischen den Extremstellungen gegenüber seiner Umgebung ein „Rotationsdefizit“ von 60° für die Werte der passiven Bewegung und $22,8^\circ$ für die Werte der aktiven Bewegung aufweist.

Aufgrund der anatomischen Situation des Os pisiforme mit seinen radiär verlaufenden ligamentären Anheftungen die Paley et al. (1987) mit einer Radnabe verglichen hat, entsteht aus dieser Rotationsdifferenz die Situation, dass sich die Bänder um das Os pisiforme wickeln (sog. „Bandltanz-Effekt“) und somit der größere Teil der bei Radial- und Ulnarduktion zu verarbeitenden Winkelveränderung von den am Os pisiforme gelegenen Anheftungsstellen geleistet wird.

Diese mechanische Situation ist eine Erklärung für die größeren flächigen Ausdehnungen der Kollagen-Typ II- positiven Zonen der am Os pisiforme gelegenen Anheftungsstellen beider Bänder (d.h. des Lig. pisometacarpale und des Lig. pisohamatum), da aufgrund des „Bandltanz- Effektes“ generell an der jeweiligen Enthese des Os pisiforme größere Kompressionskräfte auftreten.

Diskussion

Ebenfalls auffällig ist, dass die vorliegenden Messungen größere Kollagen-Typ II-positive Flächen für die Anheftungszone des Lig. pisohamatum im Vergleich zu den Anheftungszone des Lig. pisometacarpale ergeben haben.

In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, dass Pevny et al. (1995) das Lig. pisohamatum mit einem etwas größeren Durchmesser beschreiben als das Lig. metacarpale, was auf eine größere Kraftübertragung über diesen Schenkel hindeuten und somit alleine schon eine größere Enthesisfläche rechtfertigen würde. Diese Aussage steht jedoch im Widerspruch zu den Befunden von Yamaguchi et al. (1998), wonach kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Strukturen besteht. Demzufolge müsste man von einer gleichmäßigen Übertragung der Zugkräfte des M. flexor carpi ulnaris auf beide ligamentären Strukturen ausgehen. Bei den für die vorliegende Arbeit untersuchten Bändern konnte makroskopisch kein Durchmesserunterschied von Lig. pisometacarpale und Lig. pisohamatum festgestellt werden. Dies erlaubt es, für die folgenden Ausführungen von einer gleichmäßigen Verteilung der Muskelkraft auf beide Bandzüge auszugehen.

In Neutralstellung der Hand ist das Lig. pisometacarpale weitgehend in Richtung der Zugwirkung des M. flexor carpi ulnaris ausgerichtet. Das Lig. pisohamatum dagegen bildet mit seinem Verlauf einen Winkel von 45° zur Zugrichtung des Muskels (Pevny et al. 1995, Yamaguchi et al. 1998). Bedingt durch die, zur Zugrichtung des Muskels schräge Verlaufsrichtung des Bandes lässt sich im Bezug auf die Flexion/ Extension der Hand in Neutralstellung ein Vorhandensein größerer Scherkräfte bzw. lokaler Kompression im Bereich der Anheftungszone des Lig. pisohamatum (im Vergleich zum Lig. pisometacarpale) ableiten. Das Lig. pisometacarpale mit seinem Verlauf in Zugrichtung des Muskels entspräche in Neutralstellung eher einer idealisierten Zugsehne.

Jedoch finden Flexion und Extension der Hand im täglichen Leben nicht nur in Neutralstellung im Bezug auf die sagittale Achse statt. Vielmehr wird die menschliche Hand im alltäglichen Leben in allen nur möglichen Situationen im Sinne einer Zirkumduktion belastet. Über das gesamte Leben hinweg kann von einer weitgehend gleichmäßigen Verteilung dieser Belastung ausgegangen werden.

Das biomechanische Korrelat für den Größenunterschied der Kollagen-Typ II-positiven Flächen zugunsten des Lig. pisohamatum findet sich zum einen im anatomischen Verhalten des Os pisiforme während der Radial- und Ulnardeviation der

Diskussion

Hand, zum anderen auch im Verhalten der jeweils distalen Partner, des Os hamatum mit seinem Hamulus und des Os metacarpale V.

Gemäß der von Moojen et al. (2001) beschriebenen Kinematik wandert das Os pisiforme bei der Ulnarduktion mit nach ulnar aus. Es bewegt sich so in Richtung der angreifenden Kraft des M. flexor carpi ulnaris und wirkt somit einer Vergrößerung des Insertionswinkels des Lig. pisometacarpale an seiner Enthese an der Basis des Os metacarpale V entgegen. Das Os hamatum als distaler Insertionspunkt des Lig. pisohamatum rotiert bei einer Ulnarduktion der Hand um 30° im Bezug auf eine sagittale Achse (d.h. auf eine Achse, welche senkrecht auf der Handfläche steht) um $30,7^\circ$ (Kobayashi et al. 1997). Die Rotation im Os pisiforme um dieselbe Achse beträgt bei einer Ulnarduktion der Hand von 20° lediglich $5,6^\circ$ in ulnarer Richtung. Der Rotationsumfang des Os pisiforme ist somit geringer als der des Os hamatum. Dieses unterschiedliche Teilnehmen an der Rotation der beiden Knochen schlägt sich in einer Verdrehung, bzw. in einem „Über- Eck- ziehen“ des Lig. pisohamatum nieder. Letztlich kommt es dadurch zu größeren Scherkräften im Bereich der Anheftungszone.

Zugleich nimmt aber auch der Abstand zwischen Hamulusstiel und Os pisiforme ab, so dass das dazwischen gespannte Lig. pisohamatum erschlafft und abgeknickt wird. Vergleicht man nun die beiden distalen Anheftungszone des pisiformen Komplexes, so wird im Rahmen einer Ulnarduktion ersichtlich, dass an der Enthese des Lig. pisohamatum am Hamulus eine größere Scherbeanspruchung auftritt als an der Enthese des Lig. pisometacarpale an der Basis des Os metacarpale V.

Bei der Gegenbewegung der Radialduktion wiederum findet eine geringere ausgleichende Translationsbewegung des Os pisiforme in radialer Richtung statt ($1,6$ mm bei einer Radialduktion der Hand von 20° nach Moojen et al. 2001). Bei einer Radialduktion der Hand von 15° um die sagittale Achse beträgt die Rotation des Os hamatum $14,6^\circ$ in radialer Richtung (Kobayashi et al. 1997). Das Os pisiforme dagegen rotiert bei einer Radialduktion der Hand von 20° mit $11,3^\circ$ um die sagittale Achse. Es folgt somit bei der Radialduktion eher dem Os hamatum was sich in einer geringeren Verdrehung des Lig. pisohamatum niederschlägt. Bei der Ulnarduktion dagegen bewegt sich das Os pisiforme eher im entgegengesetzten Sinne zum Os hamatum, was zu einer Verdrehung des Lig. pisohamatum führt. Das Lig. pisometacarpale dagegen wird weniger auf Scherkräfte beansprucht, da das

Diskussion

Belastungsmuster in diesem Band sowohl bei der Radialduktion als auch der Ulnarduktion eher dem einer Zugsehne entspricht (Abbildung 51).

Geht man nun von einer gleichmäßigen Verteilung der Bewegungsmuster der Hand im Sinne einer Zirkumduktion über ein gesamtes Leben aus, so bleibt Summa summarum für die Enthese des Lig. pisohamatum am Os hamatum eine höhere Scherkraftbelastung als für die Enthese des Lig. pisometacarpale an der Basis des Os metacarpale V. Diese insgesamt höhere Scherbeanspruchung spiegelt sich in der größeren Fläche der Kollagen-Typ II positiven Zonen der proximalen und distalen Enthese des Lig. pisohamatum wieder.

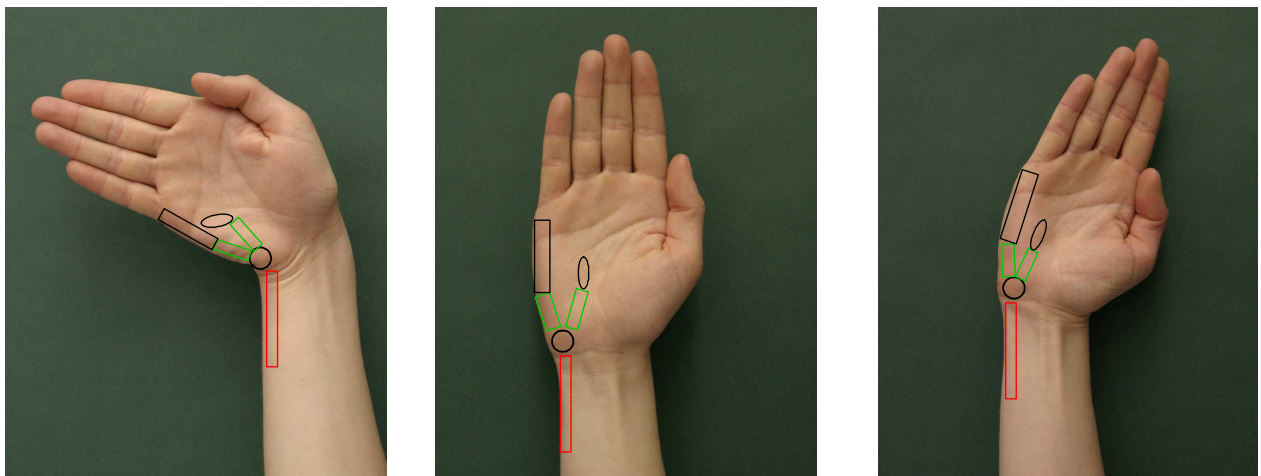


Abbildung 51: Darstellung der Enthesissituation am Os pisiforme während Ulnar- und Radialduktion. rot= FCU, schwarz= Os pisiforme, Os metacarpale V und Hamulus ossis hamati, grün= LPM und LPH

Aus den zuvor diskutierten biomechanischen Zusammenhängen ergibt sich somit die Frage, ob zu den beschriebenen Funktionen des Os pisiforme als einem Sesambein zur Hebelarmverbesserung dienenden Sesambeines (Lanz & Wachsmuth 1959, Carroll et al. 1985, Lanz & Schmidt 1992, Pevny et al. 1995) bzw. als Leit- und Stabilisierungsstruktur für das Os triquetrum und damit für den gesamten Carpus (Beckers et al. 1996, Moojen et al. 2001) auch noch die allgemeine Funktion des „Stressreduzieres“ bezüglich der Scherkrafteinwirkung auf die jeweiligen Enthese Regionen hinzu kommt.

4.3 Diskussion der klinischen Relevanz

Das Os pisiforme ist eine anatomische Struktur welche unter anderem mit der Manifestation ulnarseitiger Schmerzen im Carpus in Zusammenhang gebracht wird. Die häufigste Ursache für derartige Schmerzzustände sind direkte, traumatisch bedingte Läsionen und deren Folgen (Caroll & Coyle 1985, Paley et al. 1987). An zweiter Stelle stehen Enthesopathien des M. flexor carpi ulnaris am Os pisiforme (Paley et al. 1987). Rheumatoide Entzündungen betreffen ebenfalls das Os pisiforme (Caroll & Coyle 1985, Tubiana 1986, Takami et al. 1991). In der Ätiologie von Ulnartunnel-Syndromen ist der Knochen ebenfalls entscheidend beteiligt (Grundberg 1984, Bozkurt et al. 2005) sowie bei Überbelastungserscheinungen, z. B. verursacht durch sog. „racquet sports“ oder durch Arbeiten mit stark vibrierenden Werkzeugen (Buterbaugh et al. 1998, Osterman et al. 1988).

Benjamin et al. (2002) beschreibt im Zusammenhang mit dem Begriff „overuse-injuries“ den Faserknorpel und noch genauer die Zone des verkalkten Faserknorpels einer faserknorpeligen Enthese als direkt geschädigte Region. Dabei kommt es zu Mikroläsionen. Benjamin et al. (2007) konnte desweiteren für die eigentlich avaskuläre Zone des verkalkten Faserknorpels der Enthese im Falle einer vorliegenden Mikroläsionen Gefäße beschreiben. In dieser Arbeit konnten nun die am Os pisiforme vorliegenden Sehnen- / Bandansätze als faserknorpelig beschrieben werden. Eine Übertragung des Erklärungsansatzes nach Benjamin liegt in sofern nahe.

Als therapeutische Behandlungsmöglichkeit für Enthesopathien dieser Art, wird in der Literatur die Behandlung mit extrakorporalen Stoßwellen diskutiert. (Maier et al. 2000, Rompe et al. 1996) wobei unter anderem die nocizeptiven Nervenfasern der Region reversibel beeinträchtigt werden (Hausdorf et al. 2008).

Auch werden faserknorpeltypische Bestandteile, wie Kollagen-II, Aggrecan und Link-Protein als antigene Ziele von Autoimmunreaktionen wie z. B. der juvenilen sowie der adulten Form der rheumatoiden Arthritis diskutiert (Kim et al. 1999, Boszczyk et al. 2003, Milz et al. 2005). Benjamin et al. (2007) beschreibt bei vorliegender spondyler Arthritis nicht nur eine Beschädigung des Enthesefaserknorpels, sondern auch der darunter liegenden kortikalen, sowie trabekulären Strukturen. Die Beschreibung

Diskussion

dieser Proteine in den Enthesen des Os pisiforme steht im Einklang mit den oben genannten rheumatoiden Erkrankungen der Region.

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Untersuchung hat gezeigt, dass alle untersuchten Anheftungsstellen den charakteristischen Aufbau einer faserknorpeligen Enthese aufweisen. Es ließ sich in allen Anheftungsstellen die Aufteilung in die vier Zonen Sehne / Band, unverkalkter Faserknorpel, verkalkter Faserknorpel und Knochen beschreiben. Die in der Literatur für das Os pisiforme und seine Sehnen / Bänder beschriebenen mechanischen Gegebenheiten ermöglichen es, das Auftreten solcher faserknorpeliger Anheftungsstellen als Anpassung des Gewebes an die mechanische Funktion zu erklären.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde erstmalig versucht, einen direkten Zusammenhang zwischen mechanischer Situation und Ausdehnung der Faserknorpelzone herzustellen. Günstig für dieses Vorhaben ist, dass sich die Kraft, welche von der Sehne des M. flexor carpi ulnaris übertragen wird, je etwa zur Hälfte auf beide Bänder verteilt. Es hat sich unter diesen Bedingungen gezeigt, dass die größte Ausdehnung der kollagen-II-positiven Faserknorpelzone sich in der Enthese findet, welche die größte Winkeländerung zu verarbeiten hat. Die kleinste Ausdehnung der Faserknorpelzone dagegen tritt in der Enthese auf, welche die geringste Winkeländerung verarbeiten muss. Dies bedeutet, dass bei gleicher Zugkraft die Größe der faserknorpeligen Zone der Enthese von der zu verarbeitenden Winkeländerung der angreifenden Sehnen und der daraus resultierenden lokalen Druck- und Scherbeanspruchung abhängt.

Die Befunde gewinnen klinische Relevanz, da die Beschreibung der molekularen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix der Anheftungsstellen des Os pisiforme das Vorkommen von potentiellen Antigenen bestätigt, welche bei Erkrankungen, wie der rheumatoiden Arthritis mit der lokal entzündlichen Manifestation in Zusammenhang gebracht werden können.

6 Literaturverzeichnis

1. Aszodi A, Bateman J, Hirsch E, Barany M, Hunziker E, Hauser N, Bösze Z, Fässler R; Normal skeletal development of mice lacking matrilin 1: Redundant function of matrilins in cartilage. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 7841-7845
2. Andersson ML, Petersson IF, Karlsson K, Jonsson NE, Mansson B, Heinegard D, Saxne T; Diurnal variation in serum levels of cartilage oligomeric protein (comp) in individuals with knee osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 17
3. Asher RA, Perides G, Vanderhaeghen JJ, Bignami A. Extracellular matrix of central nervous system white matter: demonstration of an hyaluronate-protein complex. *J Neurosci Res.* 28: 410-21, 1991
4. Baldock C, Sherratt MJ, Shuttleworth CA, Kielty CM; The Supramolecular Organization of Collagen VI Microfibrils. *J Mol Biol* 2003; 330: 297- 307
5. Beckers AG, Bade H, Koebeke J; Bewegungen der Ossa pisiforme und triquetrum und ihre Bedeutung für die Kinematik des ulnaren Karpus. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 1996; 30: 10- 14
6. Benjamin M, Evans EJ; Fibrocartilage. *J Anat* 1990;171:1- 15
7. Benjamin M, Tourni H, Suzuki D, Redman S, Emery P, McGonagle D; Microdamage and Altered Vascularity at the Enthesis–Bone Interface Provides an Anatomic Explanation for Bone Involvement in the HLA–B27–Associated Spondylarthritides and Allied Disorders. *Arth. & Rheum* 2007; 56: 224–233
8. Benjamin M, Qin S, Ralphs JR; Fibrocartilage associated with human tendons and their pulleys. *J Anat* 1995; 187:625- 633

9. Benjamin M, Ralphs JR; Tendons and ligaments- an overview. *Histol Histopathol* 1997; 12: 1135- 1144
10. Benjamin M, Ralphs JR; Fibrocartilage in tendons and ligaments – an adaptation to compressive load. *J Anat* 1998; 193:481- 494
11. Benjamin M, McGonagle D; The anatomical basis for disease localisation in seronegative spondyloarthropathy at entheses and related sites. *J Anat* 2001;199:503- 526
12. Benjamin M, Kumai T, Milz S, Boszczyk BM, Boszczyk AA, Ralphs JR; The skeletal attachment of tendons- tendon ` entheses`. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol Part A* 2002; 133: 931- 945
13. Berenson MC, Blevins FT, Plaas AH, Vogel KG; Proteoglycans of human rotator cuff tendons. *J Orthop Res* 1996; 14: 518-525
14. Boszczyk AA, Boszczyk BM, Putz R, Benjamin M, Milz S; Expression of a wide range of fibrocartilage molecules at the entheses of the alar ligaments – possible antigenic targets for rheumatoid arthritis?. *J Rheumat* 2003; 30: 1420- 1425
15. Bozkurt M, Tagli S, Özcakar L, Ersoy M, Tekdemir I; Anatomical Variations as Potential Risk Factors for Ulnar Tunnel Syndrom: A Cadaveric Study. *Clin Anat* 2005; 18: 274- 280
16. Bray DF, Bray RC, Frank CB; Ultrastructural immunolocalization of type-VI collagen and chondroitin sulphate in ligament. *J Orthop Res* 1993; 11:677- 685
17. Bridgewater L, Lefebvres V, Crombrughe B; Chondrocytes-specific Enhancer Elements in the Col11a2 Gene Resemble the Col2a1 Tissue-specific Enhancer. *J Biol Chem* 1998; 273: 14998- 15006

18. Bruckner J, Wu J, Reife R, Terato K, Eyre D; Autoreactivity against matrilin-1 in a patient with relapsing polycondritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 939- 943
19. Buterbaugh GA, Brown TR, Horn PC; Ulnar- side wrist pain in athletes. *Clin Sports Med* 1998; 17: 567- 583
20. Carroll R, Coyle M; Dysfunktion of the pisotriquetral joint: Treatment by excision of the pisiform. *J Hand Surg (Am)* 1985; 10: 703- 707
21. Caterson B, Christner JE, Baker JR, Couchman JR; Production and characterization of monoclonal antibodies directed against connective tissue proteoglycans. *Fed Proc.* 1985 Feb; 44(2):386-93. Review.
22. Chakravarti S; Functions of lumican and fibromodulin: Lessons from knockout mice. *Glycoconjugate J* 2003; 19: 287- 293
23. Chen Q, Johnson DM, Haudenschild DR, Goetinck PF, Progression and recapitulation of the chondrocyte differentiation program: cartilage matrix protein is a marker for cartilage maturation. *Dev Biol* 1995; 172: 293- 306
24. DiCesare P, Hauser N, Lehman D, Pasumarti S, Paulsson M; Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is an abundant component of tendon. *FEBS Lett.* 1994; 354: 237- 240
25. Drenckhahn D; Allgemeine Gewebelehre. In: Benninghoff, Drenckhahn (Hrsg.) *Anatomie Band 1.* Urban & Fischer München, 2003; 94- 105
26. Evanko SP, Vogel KG; Proteoglycan synthesis in fetal tendon is differentially regulated by cyclic compression in vitro. *Arch Biochem Biophys* 1993; 307:153- 164

27. Flint MT, Craig AS, Reilly HC, Gillard GC, Parry DA; Collagen fibril diameters and glycosaminoglycan content of skins – indices of tissue maturity and function. *Connect Tissue Res* 1984; 13:69- 81
28. Gergely P, Poor G; Relapsing polychondritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2004; 18: 723- 738
29. Gillard GC, Reilly HC, Bell-Booth PG, Flint MH; The influence of mechanical forces on the glycosaminoglycan content of the rabbit flexor digitorum profundus tendon. *Connect Tissue Res* 1979; 7:37- 46
30. Grundberg AB, Ulnar tunnel syndrome, *J Hand Surg (Br)* 1984; 9:72- 74
31. Harris HA; The pisiform bone. *Nature* 1944; 153: 715
32. Hausdorf J, Lemmens MA, Kaplan S, Marangoz C, Milz S, Odaci E, Korr H, Schmitz C, Maier M. Extracorporeal shockwave application to the distal femur. *Brain Res.* 2008 Mar 25; [Epub ahead of print]
33. Hedbom E, Heinegard D; Interaction of a 59-kDa Connective Tissue Matrix Protein with Collagen I and Collagen II. *J Biol Chem* 1989; 264: 6898- 6905
34. Hedbom E, Antonsson P, Hjerpe A, Aschlimann D, Paulsson M, Rosa-Pimentel E, Sommarin Y, Wendel M, Oldberg A, Heinegard D; Cartilage matrix proteins. An acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *J Biol Chem* 1992; 267: 6132- 6136
35. Hedbom E, Heinegard D; Binding of Fibromodulin and Decorin to Separate Sites on Fibrillar Collagens. *J Biol Chem* 1993; 263: 2730- 27312
36. Hesse H, Engvall E.; Type VI collagen. Studies on its localization, structure, and biosynthetic form with monoclonal antibodies. *J Biol Chem.* 1984 Mar 25;259(6):3955- 3961.

37. Holmdahl R, Rubin K, Klareskog L, Larsson E, Wigzell H; Characterization of the antibody response in mice with type II collagen-induced arthritis, using monoclonal anti-type II collagen antibodies. *Arthritis Rheum.* 1986 Mar;29(3):400- 410.
38. Karcagi I, Rauch T, Hiripi L, Rentsendorj O, Nagy A, Bosze Z, Kiss I; Functional analysis of the regulatory regions of the matrilin-1 gene in transgenic mice reveals modular arrangement of tissue-specific control elements. *Matrix Biol* 2004; 22(8): 605- 618.
39. Kielty CM, Shuttleworth CA; Synthesis and assembly of fibrillin by fibroblasts and smooth muscle cells. *J Cell Sci* 1993; 106:167- 73
40. Kiernan JA; *Histological und histochemical methods: theory and practice.* Butterworth-Heinemann; Oxford, Auckland, Boston; 1999; 390-418
41. Kim HY, Kim WU, Cho ML, Lee SK, Youn J, Kim SI et al; Enhanced T cell proliferative response to type II collagen and synthetic peptide CII in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2085- 2093
42. Klatt A, Paulsson M, Wegener R; Expression of matrilins during maturation of mouse skeletal tissues. *Matrix Biol* 2002; 21: 289- 296
43. Kobayashi M, Berger RA, Nagy L, Linscheid RL, Uchiyama S, Ritt M, An KN; Normal kinematics of carpal bones: a three-dimensional analysis of carpal bone motion relative to the radius. *J Biomech* 1997; 30(8): 787- 793.
44. Lang J, Wachsmuth W; *Bein und Statik.* Springer- Verlag; Berlin, Heidelberg, New York 1972, 255
45. Von Lanz T, Wachsmuth W; *Praktische Anatomie Arm.* Springer Verlag; Berlin, Göttingen, Heidelberg 1959; 226-240

46. Lanz U, Schmidt HM; Chirurgische Anatomie der Hand. Hippokrates Verlag Stuttgart 1992
47. Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM; Kohlenhydrate. In: Tschesche H (Hrsg.). Prinzipien der Biochemie. Spektrum Akademischer Verlag; Heidelberg, Berlin, Oxford; 1994; 345- 363
48. Maier M, Steinbom M, Schmitz C et al.; Extracorporeal shock wave application for chronic fasciitis associated with heel spurs: prediction of outcome by magnetic resonance imaging. J Rheumatol 2000; 27: 2455-2462
49. Mayne R.; Preparation and applications of monoclonal antibodies to different collagen types. Clin Biochem. 1988 Apr; 21(2):111- 115. Review.
50. Michelson N; Studies in the physical development. The ossification of the os pisiforme. Human Biol 1945; 17: 142- 146
51. Milz S, McNeilly C, Putz R, Ralphs JR, Benjamin M; Fibrocartilages in the extensor tendons of the Interphalangeal Joints of Human Toes. Anat Rec 1998; 252: 264- 270,
52. Milz S, Putz R, Ralphs JR, Benjamin M; Fibrocartilage in the extensor tendons of the human metacarpal joints. Anat Rec 1999; 256: 139- 145
53. Milz S, Schlüter T, Putz R, Moriggl B, Ralphs JR, Benjamin M; Fibrocartilage in the transverse ligament of the human atlas. Spine 2001; 21: 1765- 1771
54. Milz S; Molekulare Parameter der mechanischen Beanspruchung des faserreichen Bindegewebes. Habilitationsschrift München 2002
55. Milz S, Benjamin M, Putz R; Molecular Parameters Indicating Adaptation to Mechanical Stress in Fibrous Connective Tissue. Springer, Adv Anat Embryol Cell Biol, 2005

56. Mörgelin M, Heinegard D, Engel J, Paulsson M; Electron microscopy of native Cartilage Oligomeric Matrix Protein Purified from the Swarm Rat Chondrosarcoma Reveals a Five- armed Structure. *J Biol Chem* 1992; 267: 6137- 6141
57. Moojen TM, Snel JG, Venema HW, den Heeten GJ, Bos KE; Pisiform kinetics in vivo. *J Hand Surg (Am)* 2001; 26: 901- 907
58. Moriggl B, Putz R; Der Carpus im Konflikt zwischen Stabilität und Mobilität. *Der Orthopäde* 1999; 28: 822- 832
59. Mundlos S, Zabel B, Developmental expression of human cartilage matrix protein. *Dev Dyn* 1994; 199: 241-52
60. Olbrich E; Patella emarginata- Patella partita. Sonderdruck aus: *Forschungen und Forscher der Tiroler Ärzteschule 1948/50 (II. Band)*
61. Oldberg A, et al. A collagen-binding 59-kd protein (fibromodulin) is structurally related to the small interstitial proteoglycans PG-S1 and PG-S2 (decorin). *EMBO J*; 1989; 8:2601-2604.
62. Olsen BR, Ninomiya Y, Collagens, In: Kreis T, Vale R, *Guidebook to the extracellular matrix and adhesion proteins*. Oxford Univ Press 1993; 32- 47
63. Osterman AL, Moskow L, Low DW; Soft- tissue injuries of the hand and wrist in racquet sports. *Clin Sports Med* 1988; 7:329- 348
64. Paley D, McMurtry RY, Cruickshank B; Pathologic conditions of the pisiform and pisotriquetral joint. *J Hand Surg* 1987; 20A: 110- 119
65. Paulsson M, Heinegard D; Purification and structural characterisation of a cartilage matrix protein. *Biochem J* 1981; 197: 367- 375

66. Paulsson M, Heinegard D, Radioimmunoassay of the 148-kilodalton cartilage protein. *Biochem J* 1982; 207: 207- 213.
67. Pauwels F, Eine neue Theorie über den Einfluß mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe (X. Beitrag zur funktionellen Anatomie und kausalen Morphologie des Stützgewebes). *Z Anat Entw Gesch* 1960; 121:478–515
68. Pevny T, Rayan GM, Egle D; Ligamentous and tendinous support of the Pisiform, Anatomic and Biomechanical Study. *J Hand Surg (AM)* 1995; 20: 299-304
69. Qian H, Xiao Y, Bartold PM; Immunohistochemical localisation and expression of fibromodulin in adult rat periodontium and inflamed human gingival. *Oral Dis* 2004; 10: 233- 239
70. Robbins JR, Evanko SP, Vogel KG; Mechanical loading and TGF-beta regulate proteoglycan synthesis in tendons. *Arch Biochem Biophys* 1997; 342: 203- 211
71. Rompe J, Hopf C, Kullmer K, Heine J, Burger R, Nafe B; Low-energy extracorporeal shock wave therapy for persistent tennis elbow. *Int Orthop* 1996; 20: 23- 27
72. Schmidt HM; Surgical anatomy of the carpal tunnel. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 2006; 38(5): 283- 295.
73. Schmidt HM, Lanz U; *Chirurgische Anatomie der Hand*. Hippokrates Verlag Stuttgart, 1992; Seite 49
74. Sjöberg A, Önnerfjord P, Mörgelin M, Heinegard D, Blom A; The extracellular Matrix and Inflammation, fibromodulin activates the classical pathway of complement by directly binding C1q. *J Biol Chem* 2005; 283: 32301- 32308

75. Södersten F, Ekman S, Eloranta M, Heinegard D, Dudhia J, Hultenby K; Ultrastructural immunolocalization of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in relation to collagen fibrils in the equine tendon. *Matrix Biology* 2005; 24: 376- 385
76. Smith R, Birch H, Goodman S, Heinegard D, Goodship A; The influence of ageing and exercise on tendon growth and degeneration- hypotheses for the initiation and prevention of strain- induced tendinopathies. *Comp Biochem Physiol* 2002; 133: 1039- 1050
77. Stryer L;. *Biochemie*. Spektrum Akad. Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford, 1994;
78. Takami H, Takahashi S, Ando M, Kabata K; Rupture of the Flexor Tendon Secondary to Osteoarthritis of the Pisotriquetral Joint: Case Report. *J Trauma* 1991; 31: 1703- 1706
79. Taleisnik J; *The Wrist*. Churchill Livingstone; New York, Edinburgh, London and Melbourne, 1985; 7
80. Tischer T, Milz S, Maier M, Schieker M, Benjamin M; An immunohistochemical study of the rabbit suprapatella, a sesamoid fibrocartilage in the quadriceps tendon containing Aggrecan. *J Histochem Cytochem*. 2002; 50: 955- 960
81. Tubiana R; *Rheumatische Läsionen am Carpus*. *Orthopäde* 1986; 15: 135- 149
82. Venkatesan N, Ebihara T, Roughley PJ, Ludwig M; Alterations in large and small proteoglycans in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 2066- 2073

83. Verstraeten AA, Mackie EJ, Hageman PC, Hilgers J, Schol DJ, De Jongh GJ, Schalkwijk J. Tenascin expression in basal cell carcinoma. *Br. J. Dermatol.* 1992; 127: 571-4,
84. Vogel KG, Paulsen M, Heinegard D; Specific inhibition of Typ I and Typ II collagenfibrillogenesis by the small proteoglycans of tendon. *Biochem J* 1984; 223: 587- 597
85. Vogel KG, Koob TJ; Structural specialisation in tendons under compression. *Int Rev Cytol* 1989; 115: 267- 293,
86. Vogel KG; Fibrocartilage in tendon: A response to compressive load. In: Gordon SL, Blair SJ, Fine LJ. *Repetitive Motion Disorders of the Upper Extremity*, Rosemont: Am Acad Ortho Surg 1995; 205- 215
87. Wadhwa S, Embree M, Kilts T, Young M, Ameye L; Accelerated osteoarthritis in the temporomandibular joint of biglycan/fibromodulin double-deficient mice. *Osteoarthritis Cartilage* 2005; 13: 817- 827
88. Wagener R, Ehlen H, Ko Y, Kobbe B, Mann H, Sengle G, Paulsson M; The matrilins- adaptor proteins in the extracellular matrix. *FEBS Letters* 2005; 579: 3323- 3329
89. Welsch U. *Lehrbuch Histologie*. München, Jena, Urban und Fischer 2003; 106- 118
90. Wieberg C, Klatt A, Wagener R, Paulsson M, Bateman J, Heinegard D, Morgelin M; Complex of matrilin-1 and biglycan or decorin connect collagen VI microfibrils to both collagen II and Aggrecan. *J Biol Chem* 2003; 278: 37698- 37704

91. Wolff J, Das Gesetz der Transformation der inneren Architektur der Knochen bei pathologischen Veränderungen der äußeren Knochenform. Sitzungsber Preuss Akad Wiss. 1884; 22:179
92. Wolff J (1892) Das Gesetz der Transformation der Knochen. Berlin; Hirschwald 1892 / Nachdruck Schattauer; Stuttgart 1991
93. Wood JN, Anderton BH, Monoclonal antibodies to mammalian neurofilaments. Biosci Rep 1981; 1:263- 368
94. Yamaguchi S, Viegas S, Patterson R; Anatomic Study of the Pisotriquetral Joint: Ligament Anatomy and Cartilagenous Change. J Hand Surg (AM) 1998; 23: 600- 606
95. Zhang Y, Guerassimov A, Leroux JY, Cartman A, Webber C, Lalic R, de Miguel E, Rosenberg LC, Poole AR; Induction of arthritis in BALB/c mice by cartilage link protein: involvement of distinct regions recognized by T and B lymphocytes. Am J Pathol 1998; 153: 1283- 1291
96. Zschäbitz A; Anatomie und Verhalten von Sehnen und Bändern. Der Orthopäde 2005; 34: 516- 525

7 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Adamczyk, Christopher Julian Peter
Geburtsdatum: 26. 01. 1976
Geburtsort: München
Nationalität: Deutsch

Anstellung:

Seit 01/ 03/ 2008 Wissenschaftlicher Assistent an der Anatomische Anstalt der LMU
01/ 02/ 2007.- 31.01.2008 Assistent der Neurochirurgischen Klinik der LMU München/ Großhadern
01/ 08/ 2006 – 31/ 01/ 2007 Freier wissenschaftlicher Mitarbeiter der Anatomie
16/ 02/ 2004 – 31/ 07/ 2006 Wissenschaftlicher Assistent an der Anatomischen Anstalt der LMU München, Lehrstuhl I

Ausbildung:

05/ 1996 – 04/ 2003 Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians- Universität München
05/ 2003 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/ 2002 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
08/ 1999 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/ 1998 Ärztliche Vorprüfung

04/ 2002 – 03/ 2003 Praktisches Jahr

09/ 1995 – 04/ 1996 Studium der Physik an der Ludwig-Maximilians-Universität München

1982 – 1995 Besuch der Rudolph- Steiner- Schule München-Daglfing, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Priv. Doz. Dr. Steffan Milz für seine umfassende und stets zuverlässige Betreuung danken.

Großer Dank gilt auch Prof. Dr. Dr. h.c. Reinhard Putz für sein immer offenes Ohr gegenüber aufgetretenen Problemen, seine motivierenden Worte, sowie für die allgemeine Unterstützung meines beruflichen Werdegangs. Seiner Frau Renate Putz möchte ich sehr für ihre Korrekturarbeiten danken.

Dr. Thomas Tischer danke ich für seine mit Rat und Tat die Laborarbeit begleitende Unterstützung.

Meiner Mutter und meinen Brüdern danke ich für ihre Unterstützung außerhalb des Labors, sowie für die gesamte Zeit des Studiums.

Besonderer Dank gilt meiner Freundin Christina, die in der Zeit, in der dieser Arbeit entstand unseren Sohn Theodor zur Welt gebracht hat.