

Medizinische Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Ursachen der wiederholten Ruptur des vorderen Kreuzbandes – Klinische Daten und
histochemische Analyse des Musculus quadriceps**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin (Dr.med.)

von Sandra Janina Liebhart, geb. Maciag
geboren am 21.08.1995 in Halle/Saale

Betreuer:

Prof. Dr. med. habil. Karl-Stefan Delank und apl. Prof. Dr. habil. René Schwesig

Gutachter:

1. Prof. Dr. Thomas Pufe, Aachen

2. Prof. Dr. Bodo Kurz, Kiel

02.03.2021

25.11.2021

In Dankbarkeit
meiner Familie
gewidmet.

Referat

Ziel dieser Arbeit war es, Muskelproben aus der Oberschenkelmuskulatur (Mm. vasti medialis und lateralis) von Patienten mit wiederholter Kreuzbandruptur histochemisch zu untersuchen. Für diese Untersuchung wurden 40 männliche Patienten der Sportklinik Halle ausgewählt. Die Muskelproben wurden intraoperativ während einer VKB-Rekonstruktion mit einem Quadriceps-Sehnen-Transplantat gewonnen und im Muskellabor des Departments für Orthopädie, Unfall- und Wiederherstellungschirurgie Halle-Kröllwitz histochemisch aufgearbeitet. Zur histochemischen Analyse wurden die HE-, mATPase pH 4,6-/9,4-, NADH-, PAS-, COX/SDH- und van Gieson-Färbung genutzt. Die hergestellten Präparate wurden mithilfe des Mikroskops Axioplan und des Programms AxioVision der Firma Zeiss GmbH untersucht. Die Ergebnisse wurden mittels SPSS 25.0 (SPSS, IBM, Armonk, NY, USA) statistisch ausgewertet. Die Patienten waren bei der ersten VKB-Ruptur durchschnittlich 23, bei der zweiten 27 Jahre alt. In 75% der Fälle ereigneten sich die Kreuzbandverletzungen während einer sportlichen Aktivität. Im Durchschnitt beinhalteten die gewonnenen Muskelproben vorrangig Typ II bzw. fast twitch Fasern (M. vastus lateralis durchschnittlich 61–62%, M. vastus medialis 61–63% in den mATPase-Färbungen) und wiesen in größeren Anteilen einen glykolytischen Metabolismus (durchschnittlich 54% bzw. 53% in der PAS-Färbung) auf. Die übrigen Muskelfasern arbeiteten nachweislich oxidativ (M. vastus lateralis 43% in der NADH- und 42% in der COX/SDH-Färbung, M. vastus medialis 46% in der NADH- und 44% in der COX/SDH-Färbung). Damit konnten keine eindeutigen Unterschiede zu Literaturangaben nachgewiesen werden. Die zusätzlich bestimmten Muskelfaserdurchmesser lagen im zu erwartenden Bereich zwischen 47 und 82 μm , dabei ergaben sich Hinweise auf eine selektive Hypotrophie der Typ II Fasern. Die bestimmten Bindegewebsanteile an den Muskelproben wiesen eine große Streuung (1-18%) auf, wobei für den M. vastus lateralis und M. vastus medialis durchschnittlich 7% ermittelt wurden. In der korrekten Bestimmung der Muskelfaserzusammensetzung ist die Biopsie der Goldstandard. Der Vergleich mit der Gegenseite ist inhaltlich sinnvoll und indiziert, mittels Biopsie aber ethisch nicht vertretbar. Deshalb bedarf es nicht-invasiver, validierter Assessments (z.B. EMG), um dieses Erkenntnisdefizit zu beseitigen.

Liebhart, Sandra Janina: Ursachen der wiederholten Ruptur des vorderen Kreuzbandes – Klinische Daten und histochemische Analyse des Musculus quadriceps, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 60 Seiten, 2021

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung – Klinischer Hintergrund der Studie	1
1.1	Muskelfaserspektrum des Menschen	1
1.2	Histochemische Differenzierung der Muskelfasertypen.....	7
1.3	Ruptur des vorderen Kreuzbandes	9
1.3.1	Anatomie des Kniegelenks.....	9
1.3.2	Verletzungsmechanismus und Diagnostik.....	10
1.3.3	Konservative Therapie	11
1.3.4	Operative Therapie	12
1.3.5	Nachsorge und Rehabilitation	15
1.4	Muskuläre Besonderheiten bei Patienten mit VKB-Ruptur	16
1.5	Forschungsdefizite	17
2	Zielstellung und Hypothesen	18
3	Material und Methodik.....	19
3.1	Untersuchungstichprobe	19
3.2	Untersuchungsablauf	19
3.3	Entnahme und Aufarbeitung der Muskelbiopsien.....	20
3.4	Histochemische Färbung.....	21
3.5	Auswertungssoftware	29
3.6	Statistik.....	32
4	Ergebnisse.....	33
4.1	Klinische Darstellung der Patienten	33
4.1.1	Personenspezifische Daten.....	33
4.1.2	Verletzungsspezifische Daten.....	36
4.2	Analyse der histochemischen Färbung	40
5	Diskussion	48
5.1	Ergebnisdiskussion	48
5.2	Limitationen/Methodendiskussion.....	56
6	Zusammenfassung.....	59
7	Literaturverzeichnis	61
8	Thesen	66
9	Anhang.....	67

Verzeichnis der Abkürzungen und Symbole

a	Jahr
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
COX	Cyclooxygenase
dest.	destilliert
EMG	Elektromyografie
g	Gramm
HE	Hämatoxylin-Eosin
ICC	Intra-Klassen-Korrelation
IGF	Insulin-like Growth Factor
kg	Kilogramm
kg/m ²	Kilogramm pro Quadratmeter
m	Meter
M	Mol
M.	Musculus
mATPase	myofibrilläre Adenosintriphosphatase
Max.	Maximum
MHC	Myosin Heavy Chain
Min.	Minimum
ml	Milliliter
mM	Millimol
MW	Mittelwert
μl	Mikroliter
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NBT	Nitroblautetrazoliumchlorid
PAS	Periodic acid-Schiff
r _s	Rangkorrelatinskoeffizient
SD	Standardabweichung
SDH	Succinatdehydrogenase
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
Sek.	Sekunde
Tab.	Tabelle
VKB/HKB	vorderes Kreuzband/ hinteres Kreuzband

1 Einleitung – Klinischer Hintergrund der Studie

1.1 Muskelfaserspektrum des Menschen

Das Muskelgewebe des Menschen wird in drei Arten unterschieden: quergestreifte Skelettmuskulatur, quergestreifte Herzmuskulatur und glatte Muskulatur. Die Bezeichnung „Querstreifung“ beruht auf der licht- und elektronenmikroskopisch sichtbaren strengen Anordnung von Aktin- und Myosinfilamenten, den kontraktilelementen. Aus funktioneller Sichtweise ist hervorzuheben, dass lediglich die Skelettmuskulatur willkürlich gesteuert werden kann, die Herzmuskulatur und die glatte Muskulatur, welche in den Wänden der Hohlorgane zu finden ist, unterliegen dem autonomen Nervensystem (Aumüller, 2014). Im Folgenden soll die Skelettmuskulatur im Mittelpunkt der Betrachtung stehen.

Die Muskelzellen bilden physiologisch Fibrillen aus parallel angeordneten Muskelfilamenten. In der quergestreiften Muskulatur (Abb. 1) bilden die vielkernigen Riesenzellen Muskelfasern, welche bis zu 20 cm lang werden können und einen Durchmesser von ca. 50 bis 100 μm besitzen. Die kleinste Organisationseinheit, die für die eigentliche Muskelkontraktion verantwortlich ist, ist das Sarkomer. In diesem 2,5 bis 3 μm langen Abschnitt findet man die regelmäßig angeordneten Aktin- und Myosinfilamente, deren ATP-abhängige zyklische Interaktion zur Verkürzung der Muskelfaser führt (Aumüller, 2014).

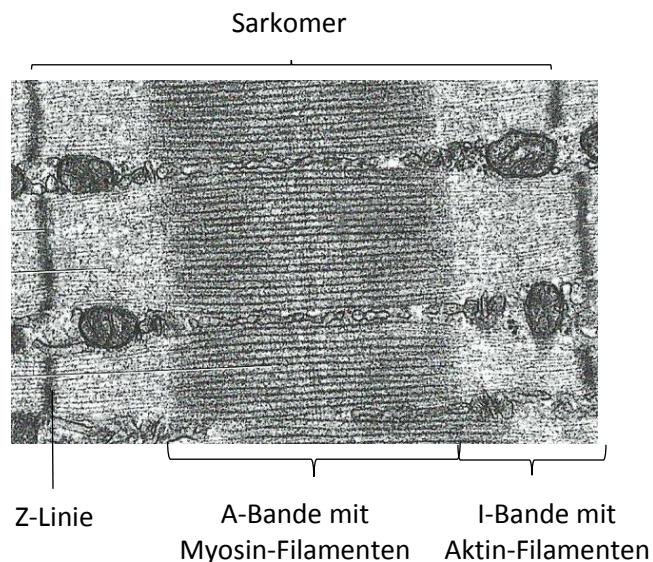


Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme der quergestreiften Skelettmuskulatur (Kühnel 2008, S.167)

Das somatische Nervensystem ermöglicht die willkürliche Aktivierung der Skelettmuskelfasern. Ein efferenter motorischer Nerv, der sich terminal verzweigt und in mehreren motorischen Endplatten endet, stimuliert die Muskulatur durch die Ausschüttung von Acetylcholin, welches

an nikotinerger Rezeptoren wirkt. Die Gesamtheit von motorischem Nerv und die durch diese gesteuerten Muskelfasern bezeichnet man als motorische Einheit. Je nach Präzision, die von einer Muskelgruppe verlangt wird, besteht die motorische Einheit entweder aus wenigen einzelnen (Feinmotorik) oder bis zu tausend (Grobmotorik) Muskelfasern (Aumüller, 2014).

Die Skelettmuskulatur des Menschen ist lokal unterschiedlich zusammengesetzt, was eine Vielfalt von Bewegungen und Funktionen ermöglicht (Staron, 1997). Grundsätzlich lässt sich eine Einteilung in langsam (slow twitch bzw. Typ I Fasern) und schnell (fast twitch bzw. Typ II Fasern) kontrahierende Muskelfasern vornehmen, die auch morphologische Aspekte berücksichtigt (Scott et al., 2001). So erscheinen erstere aufgrund ihres hohen Myoglobingehalts makroskopisch rot und sind gut kapillarisiert. Sie arbeiten vorwiegend oxidativ und sind für ausdauernde Bewegungen sowie posturale Reaktionen von Bedeutung. Muskelfasern vom Typ II enthalten wegen ihres glykolytischen Metabolismus weniger Myoglobin und erscheinen makroskopisch weißlich. Zu ihren Funktionen zählen die Ausführung ballistischer Bewegungen und das Erreichen hoher Kraftniveaus (Laube und Anders, 2009). Diese schnell kontrahierenden Fasern werden beim Menschen zusätzlich in die Unterklassen IIX, die schnell und ermüdungsanfällig (fast fatigue), und IIA, welche schnell und ermüdungsresistent (FR, fast resistant) arbeiten, unterteilt (Pette und Staron, 1997; Pette et al., 1999). Letztere stellen funktionell gesehen eine Intermediärform zwischen den Typen I und IIX dar. Der menschliche Muskelfasertyp IIX (auch als IID bezeichnet) ähnelt dem Typ IIB, der allerdings nur bei Nagetieren zu finden ist, und wurde früher daher mit diesem gleichgesetzt. Die korrekte Bezeichnung ist heutzutage allerdings möglich und sollte aufgrund einiger morphologisch-funktioneller Differenzen eingehalten werden (Pette, 2002). In der menschlichen Skelettmuskulatur finden sich zusätzlich zu den aufgeführten reinen Muskelfasertypen auch Hybridformen, die sich aus zwei oder mehr Isoformen zusammensetzen (Pette und Staron, 1990). Die wichtigsten Eigenschaften der verschiedenen Muskelfasertypen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tab. 1: Eigenschaften der Muskelfasertypen des Menschen (nach Steinacker et al., 2002; Laube und Anders, 2009)

strukturelle und funktionelle Eigenschaften	Slow Twitch (ST) Fasern	Fast Twitch (FT) Fasern	
	Typ I Fasern	Typ IIa Fasern	Typ IIx Fasern
Kontraktionszeiten	langsam (60-120 ms)	schnell (20-65 ms)	
MHC-Isoform	I	IIa	IIx
mATPase-Aktivität	gering	relativ hoch	sehr hoch
Entladungsrate	20-30/ s	70-90/ s	120-150/ s
Stoffwechsel	aerob oxidative Enzyme	aerob-anaerob	anaerob glykolytische Enzyme
Myoglobingehalt	hoch	gering	sehr gering
Kapillarisierung	ausgeprägt	relativ gut	gering
Ermüdbarkeit	niedrig	mittel	hoch

Zusätzlich zu genetischen Einflüssen auf die Muskelfaserkomposition ist eine gewisse Plastizität nachweisbar (Sciote et al., 2013). Mit zunehmendem Alter steigt der Anteil der Typ I Fasern, wohingegen der Anteil der Typ IIx Fasern sinkt. Die altersabhängige Atrophie lässt sich aber durch regelmäßigen Ausdauersport verlangsamen (Gollnick et al., 1972; Melichna et al., 1990). Man findet auch Hinweise, dass die prozentuale Verteilung bei gleichbleibender körperlicher Belastung konstant bleibt (Bell et al., 1980). Außerdem beeinflussen Hormone wie Thyroxin, Cortisol, Testosteron, Wachstumshormon und der Insulin-like-Growth-Factor (IGF) die Genexpression. Überdies können auch Veränderungen des pH-Wertes sowie die verfügbaren Energiereserven den Stoffwechsel der Muskulatur verändern (Steinacker et al., 2002). Ebenso führen Abweichungen in der funktionellen Beanspruchung zur Adaptation des Gewebes. Ein Beispiel dafür ist die Forschung zur niederfrequenten Stimulation, bei der durch chronische Stimulation mit niedrigen Aktionspotentialfrequenzen eine Veränderung des Muskelfaserspektrums von Typ II zu überwiegend Typ I Fasern erfolgt (Martins et al., 2006). Diese Beobachtung beruht auf der Tatsache, dass langsam kontrahierende Muskelfasern von ihrem jeweiligen Motoneuron mit geringen Aktionspotentialfrequenzen erregt und zur Kontraktion gebracht werden (Pette und Vrbova, 1992; Martins et al., 2006). Dadurch ergibt sich eine weitere Variante zur funktionellen Unterscheidung der Muskelfasertypen. Alpha-

Motoneurone, die slow twitch Fasern ansteuern, haben eine Entladungsfrequenz von 20 bis 30 pro Sekunde (Tab. 1). Für FT Fasern wurden hingegen Werte im Bereich von 70 bis 90 pro Sekunde für den Typ IIa und 120 bis 150 pro Sekunde für den Typ IIx ermittelt. Diese Daten zeigen auf, dass ST Fasern eine niedrigere Aktivierungsschwelle als FT Fasern haben (Laube und Anders, 2009; Kupa et al., 1995; Wakeling und Syme, 2002).

Einen großen Effekt auf die Muskelfaserkomposition hat das körperliche Training. Grundsätzlich führt Ausdauertraining zu einer prozentualen Zunahme der ermüdungsresistenten, langsam kontrahierenden Muskulatur. Dahingegen führen Kraft- und Schnelligkeitstraining insbesondere zu einem höheren Anteil an Typ IIa Fasern (Andersen et al., 1994). Letzteres basiert jedoch vor allem auf einer Verschiebung des Spektrums innerhalb der schnell kontrahierenden Fasern, sodass zeitgleich eine Abnahme von Typ IIx Fasern nachgewiesen werden kann (Hakkinen et al., 1998). Die sogenannte schnell-zu-langsam-Transformation – also sowohl die Umwandlung von Typ II in Typ I, als auch von Typ IIx in Typ IIa Fasern – ist in der Literatur beschrieben worden (Steinacker et al., 2002). Ebenso konnte die Umwandlung von langsamen in schnelle Muskelfasern nachgewiesen werden (Steinacker et al., 2002). Dies geschah beispielsweise durch ein kombiniertes Krafttraining der Arme mit maximalen Kontraktionen, ballistischen Bewegungen und Dehnungs-Verkürzungszyklen. Alle Veränderungen der Muskelfaserkomposition traten erst nach lang anhaltender bzw. wiederholter Belastung auf (Steinacker et al., 2002).

Speziell auf die Muskulatur des menschlichen Oberschenkels bezogen, ist ein Überwiegen der slow twitch Muskulatur beim durchschnittlich aktiven Menschen aufgrund von Halte- und Stützfunktionen nachvollziehbar. Für den M. quadriceps femoris beträgt der Anteil ca. 60% Typ I, 25% Typ IIa und 15% Typ IIx. Für den antagonistisch arbeitenden M. biceps femoris liegen folgende Werte vor: ca. 75% Typ I, 10% Typ IIa und 15% Typ IIx Fasern (Tirrell et al., 2012). Eine andere Untersuchung (Staron et al., 2000) verglich die Zusammensetzung des M. vastus lateralis von 55 Frauen und 95 Männern, die freiwillig einer Biopsie zustimmten. Dabei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Im Mittel bestanden die Proben zu 41% aus Typ I, 31% Typ IIa und 20% Typ IIx Fasern. Die einzige gravierende Differenz ergab die Bestimmung der Fasergröße. Bei den Männern hatten die Typ IIa-Fasern, bei Frauen die Typ I-Fasern den größten Durchmesser (Loughlin, 1993; Staron et al., 2000). So führte stetiges Training, vor allem im Bereich der Kraft und Kraftausdauer, bei Männern zu einer selektiven Hypertrophie der Typ II Muskulatur, wohingegen Frauen eine gleichmäßige Hypertrophie aller Muskelfasertypen erzielten (Bell und Jacobs, 1990).

Der Einfluss von spezifischem Training auf die Zusammensetzung der Oberschenkelmuskulatur wurde in zahlreichen Studien durch den Nachweis von MHC-Isoformen untersucht (Beck et al., 2007; Beck et al., 2009). Untersuchungen an jugendlichen (11 bis 15 Jahre) Fußballspielern zeigten beispielsweise, dass bereits in diesem Alter höhere Kumulativtrainingszeiten signifikante Differenzen in der Muskelfaserdekomposition herbeiführen. Dies spiegelt sich vor allem in der Zunahme der Kraft-Ausdauer-spezifischen Typ IIa Fasern wider. Damit verknüpft sind folglich höhere Kraftniveaus und eine höhere anaerobe Schwelle (Metaxas et al., 2014). Sogar innerhalb einer Saison konnten bei professionellen Eishockeyspielern ähnliche Veränderungen nachgewiesen werden. Bei einem konstanten Anteil von Typ I Fasern wurde eine deutliche prozentuale Vermehrung der Typ IIa zuungunsten der IIx Fasern nachgewiesen. Dies ist vermutlich aufgrund der geringeren Ermüdbarkeit der IIa Fasern erklärbar, die für eine andauernde Ausdauerbelastung während der Saison besser geeignet sind (Green et al., 1979). Eine andere Untersuchung zeigt, dass sportlich inaktive Menschen einen Typ II Anteil von ca. 44% haben, was zwischen den Werten von Ausdauer- und Kraftsportlern liegt (Bagley et al., 2016).

Um die Morphometrie der Muskelfaserzusammensetzung möglichst genau zu beschreiben, ist es notwendig, sowohl die prozentualen Anteile der Muskelfasertypen, als auch den jeweiligen Faserdurchmesser differenziert zu betrachten.

In Tabelle 2 liefert einen Überblick über die Zusammensetzung der Oberschenkelmuskulatur. Dabei wiesen die genannten Autoren darauf hin, dass die Entnahmestelle möglichst identisch sein sollte, um vergleichbare Werte zu erzielen, da sich oberflächliche und tiefe Muskelanteile erheblich unterscheiden können (Johnson et al., 1973).

Tab. 2: Prozentuale Muskelfaserzusammensetzung ausgewählter Oberschenkelmuskeln (Johnson et al., 1973; Staron et al., 2000; Tirell et al., 2012).

Muskel	Typ I Fasern [%]	Typ IIa Fasern [%]	Typ IIx Fasern [%]
M. quadriceps femoris (Tirrell et al., 2012)	60	25	15
M. vastus lateralis (Staron et al., 2000)	43	34	23
M. vastus lateralis, oberflächlich (Johnson et al., 1973)	38	62	
M. vastus lateralis, tief (Johnson et al., 1973)	47	53	
M. vastus medialis, oberflächlich (Johnson et al., 1973)	44	56	
M. vastus medialis, tief (Johnson et al., 1973)	62	38	

Von einer Prädominanz eines Typs würde man sprechen, wenn in einem Muskel mehr als 55% Typ I oder mehr als 80% Typ II Fasern vorliegen (Loughlin, 1993).

Der Faserdurchmesser ist neben den oben genannten geschlechtsspezifischen Besonderheiten auch vom Alter und der körperlichen Belastung abhängig. Im Laufe der Kindheit und Pubertät nimmt der Durchmesser stetig zu, bis er in der Adoleszenz ein Plateau erreicht und mit zunehmendem Alter wieder geringer wird. So wurden bei Neugeborenen Werte zwischen acht und 16 μm , bei Sechsjährigen durchschnittlich 33 μm und im Erwachsenenalter im Bereich von 45 bis 60 μm gemessen (Bell und Conen, 1967) (Durchschnittswerte erwachsener Männer vgl. Tab 3).

Tab. 3: Muskelfaserdurchmesser ausgewählter Oberschenkelmuskeln (Loughlin, 1993)

Muskel	Typ I Durchmesser Range (Mittelwert) [μm]	Typ II Durchmesser Range (Mittelwert) [μm]
M. vastus lateralis, oberflächlich	40-87 (63)	48-78 (63)
M. vastus lateralis, tief	44-85 (64)	58-70 (64)
M. vastus medialis, oberflächlich	50-73 (62)	55-74 (65)
M. vastus medialis, tief	47-77 (62)	50-81 (66)

1.2 Histochemische Differenzierung der Muskelfasertypen

Zur histochemischen Aufarbeitung ist nach der Entnahme einer Muskelbiopsie gegebenenfalls eine adäquate Fixierung (Formalinlösung) notwendig. Die fixierten Präparate können entweder in einen Paraffinblock gegossen und mithilfe eines Mikrotoms in 5 µm dicke Scheiben geschnitten werden. Andernfalls folgt im Anschluss an die Biopsierung bei nicht zu fixierenden Präparaten ein gekühlter und verzögerungsfreier Transport in das Labor, wo aus dem Gewebe entweder direkt (z.B. im Rahmen der intraoperativen Schnellschnittdiagnostik) oder nach Lagerung bei -80°C mithilfe eines Kryostaten fünf bis sieben µm dicke Gefrierschnitte gefertigt werden (Riede, 2004). Diese werden luftgetrocknet, gefärbt und ggf. zur dauerhaften Aufbewahrung fixiert.

Anschließend wird in den meisten Fällen eine Routine-HE-Färbung durchgeführt, welche dem Untersucher einen Überblick über das Präparat verschaffen soll. Die wichtigsten Strukturen, Atrophien, Hypo- oder Hypertrophien, entzündliche Infiltrate und Umbauprozesse des Gewebes können schnell sichtbar gemacht werden. In der HE (Hämatoxylin-Eosin)-Färbung stellen sich die basophilen Zellkerne blau und das acidophile Zytoplasma rot dar. Eine weitere Standardfärbung nach van Gieson ermöglicht die Differenzierung von Zellkernen, Zytoplasma einschließlich der Muskulatur (gelb) und Kollagenfasern (rot) (Lüllmann-Rauch und Asan, 2015).

Die PAS-Färbung, welche zur gezielten Lokalisation von Polysacchariden (z.B. Glykogen), Glykoproteinen und -lipiden sowie Muzinen im Präparat dient, beruht auf dem Vorhandensein von zahlreichen Kohlenhydratgruppen mit 1,2-Glykolgruppen (-HCOH-HCOH-) in diesen Makromolekülen. Durch Oxydierung der OH-Gruppen in Aldehyde, reagieren sie mit dem Schiff-Reagenz und erzeugen eine purpurrote Färbung. Die Enzymhistochemie hingegen macht das Vorhandensein von unterschiedlichen Enzymen mikroskopisch sichtbar. Prinzipiell werden die Gewebeschnitte dazu mit einem für das Enzym spezifischen Substrat unter exakt definierten Bedingungen (u.a. pH-Wert, Ionenkonzentration) inkubiert. Das entstehende Reaktionsprodukt wird am Ort der Enzymaktivität in eine unlösliche, farbige Verbindung überführt. Beispiele für diese Methode sind die Anfärbungen der Enzyme (NADH), myofibrilläre ATPase (u.a. bei den pH-Werten 4,6 und 9,4), Succinat-Dehydrogenase (SDH) und Cyclooxygenase (COX). Die genannten Färbemethoden sind bereits seit Beginn des 20. Jahrhunderts bekannt. (Lüllmann-Rauch und Asan, 2015).

Eine sehr exakte Differenzierung der Muskelfaser-Isotypen kann durch die Analyse des Vorliegens unterschiedlicher, schwerer Myosinketten (MHC, myosin heavy chain) erfolgen. Die Einteilung dieser beruht auf der jeweiligen MHC-Isoform MHC I, IIa oder IIx. Dies kann einerseits

durch eine Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE) mit anschließender Silberfärbung erfolgen, bei der einzelne Muskelfasern nach Vorinkubation unter definierten Bedingungen so aufgearbeitet werden, dass die MHC-Isotypen aufgetrennt werden können (Pette, 2002; Miller et al., 2010). Andererseits ist eine immunohistochemische Differenzierung möglich. Bei dieser Methode werden Gefrierschnitte luftgetrocknet und anschließend mit Pufferlösung und monoklonalen Antikörpern gegen die MHC-Isoformen inkubiert. Die Antikörper binden spezifisch, wodurch eine Abgrenzung der Muskelfasertypen am Mikroskop erfolgen kann (Metaxas et al., 2014).

Funktionell unterscheiden sich die Muskelfasertypen bzw. ihre jeweiligen MHC-Typen durch das Vorhandensein verschiedener Isozyme der myofibrillären ATPase (mATPase). Die Funktion der ATPase besteht in der Hydrolyse des Myosin-gebundenen Adenosintriphosphats im Querbrückenzyklus. Durch diesen Schritt wird die Verkürzung des Sarkomers, der kleinsten Funktionseinheit eines jeden Skelettmuskels, eingeleitet. Makroskopisch äußert sich dies als Muskelkontraktion. Folglich bestimmt die Aktivität dieses Enzyms die Geschwindigkeit der Kontraktion (Scott et al., 2001). Moderne Labortechniken erlauben die Einteilung in bis zu sieben verschiedene Muskelfasertypen anhand der vorliegenden mATPase-Isoform, wobei die Unterteilung in die oben genannten drei Grundtypen I, IIa und IIx für die menschliche Muskulatur entscheidend ist (Scott et al., 2001).

1.3 Ruptur des vorderen Kreuzbandes

1.3.1 Anatomie des Kniegelenks

Das Kniegelenk ist ein Scharniergelenk mit zusätzlicher Gleitachse und erlaubt in der Beugstellung außerdem eine Drehbewegung, weshalb es auch als Dreh-Scharnier-Gelenk (Trochoginglymus) bezeichnet wird. Als Richtwerte für die Bewegungsausmaße des Gelenks können 10° für die Extension, 140° für die aktive bzw. 160° für die passive Flexion, sowie 40° für die Außen- und 10° für die Innenrotation (jeweils in leichter Beugung) angenommen werden (Müller, 2016).

Die intraartikulär gelegenen Menisken gleichen die Inkongruenzen der Gelenkflächen von Femurkondylen und Tibiaplateau aus. Der laterale Meniskus ist kreisförmig, der mediale halbmondförmig und am medialen Seitenband fixiert. Bei Affektionen der Menisken kann ein Schmerz durch die Kompression des Gelenkspalts provoziert werden. Dazu eignen sich z.B. die klinischen Meniskus-Zeichen nach Steinmann (I/II), Böhler und Payr. Die Kollateral- oder Seitenbänder stabilisieren das Kniegelenk in der Frontalebene, indem sie bei intaktem Zustand die mediale (Lig. collaterale tibiale) und laterale (Lig. collaterale fibulare) Aufklappbarkeit verhindern. Dementsprechend werden sie durch die Ausübung von Valgus- bzw. Varus-Stress klinisch getestet. Die beiden Kreuzbänder sorgen für eine Stabilisation in der Sagittalebene (Niethard et al., 2014).

1.3.2 Verletzungsmechanismus und Diagnostik

Jedes Jahr treten allein in Deutschland mehr als 25.000 Kreuzbandrupturen auf (Inzidenz 32/100.000 Einwohner pro Jahr), wobei am häufigsten das VKB betroffen ist (Niethard et al., 2014). Als klassischer Verletzungsmechanismus gilt das Rotationstrauma in Kombination mit einer Valgusbelastung. Ebenso können Abduktions-, Adduktions- und Luxationsverletzungen ursächlich für eine Schädigung des Bandes sein. Prädisponierend sind demnach Sportarten wie Skifahren und Kontaktsportarten (z.B. Fußball und Handball). Sowohl in der Akutsituation als auch bei nicht-therapierter chronischer Verletzung kann der Patient unter einer schmerzhaften Bewegungseinschränkung, Weichteilschwellung und einem Instabilitätsgefühl („Giving-way-Symptomatik“) leiden. Des Weiteren ist neben der Anamnese die klinische Untersuchung unbedingt notwendig. In dieser können neben einem Erguss bzw. Hämarthros vor allem die Schubladenphänomene festgestellt werden. Dafür wird in 60° bis 90°-Beugstellung (bzw. in 20°-Beugstellung als Lachmann-Test) durch Zug am Unterschenkel nach ventral versucht, eine vordere Schublade bei Ruptur des VKB auszulösen. Für die Untersuchung auf eine HKB-Verletzung wird dementsprechend durch Druck auf den Unterschenkel nach dorsal auf eine hintere Schublade geachtet. Als pathologisch wird eine Verschieblichkeit um drei bis fünf Millimeter angesehen. Besonders ausgeprägt ist diese bei einer Mitverletzung der Seitenbänder (z.B. im Rahmen der „Unhappy Triad“). Außerdem können bei einer VKB-Ruptur der Pivot-Shift-Test positiv sein und eine Rotationsinstabilität bestehen. Neben diesen Methoden der körperlichen Untersuchung sollte das Kniegelenk in mindestens zwei Ebenen geröntgt werden, um eine Beteiligung des knöchernen Apparates auszuschließen. Eine Magnetresonanztomographie kann zur bildmorphologischen Darstellung der Bandaffektion und möglicher Begleitverletzungen dienen. Die Punktion des Kniegelenks stellt zum einen eine Entlastung dar, zum anderen lassen Blut und Fettaggen im Punktat auf mögliche Mikroläsionen von Knorpel und Knochen schließen. In der Arthroskopie können bei uneindeutiger nicht-invasiver Diagnostik Band-, Knorpel- und Kapsel-Strukturen beurteilt und bei Bedarf direkt operativ versorgt werden (Niethard et al., 2014; Müller, 2016).

1.3.3 Konservative Therapie

Allgemeine Maßnahmen nach einer traumatischen VKB-Verletzung betreffen die Schonung und Hochlagerung der Extremität, lokale Kühlung, Analgesie bei Bedarf und eine Thromboseprophylaxe. Sollte der Patient keine Instabilität verspüren und nur minimale Schubladenphänomene oder kein Pivot-Shift ausgelöst werden können, besteht die Möglichkeit einer konservativen Therapie. Dieser Ansatz sollte bei Vorliegen einer isolierten Kreuzbandverletzung, eines geringen sportlichen Aktivitätsniveaus bzw. wenig kniebelastender Sportarten sowie eines hohen Alters oder einer vorbestehenden Arthrose präferiert werden. Häufig entsteht im Laufe der Zeit eine narbige Verwachsung des vorderen auf das hintere Kreuzband (Lambda-Läsion). Die dabei entstehende partielle Stabilität ist für die Alltagsbelastung vieler Patienten ausreichend (Niethard et al., 2014).

Neben den genannten Basismaßnahmen ist eine intensive Kräftigung der Beuge- und Streckmuskulatur vordergründig. Dabei sollte die „geschlossene Kette“ eingehalten werden, um das Kreuzband nicht weiter zu schädigen. Die Patienten werden zu schmerzadaptierter Belastung motiviert, dürfen frühzeitig normal gehen, Rad fahren und in der Kraulbewegung schwimmen. Eine Immobilisierung durch Gipsverbände oder fixierende Orthesen ist bei isolierten VKB-Rupturen nicht zu empfehlen. Lediglich bei zusätzlicher Seitenbandinstabilität bietet sich der temporäre Einsatz einer funktionellen Orthese an. Besondere Risiken der konservativen Therapie sind bleibende oder zunehmende Instabilitäten, Knorpel- oder Meniskusschäden sowie Bewegungseinschränkungen und Blockaden durch Fehlbelastungen (Lobenhoffer, 2014).

1.3.4 Operative Therapie

Bei komplexen Bandverletzungen, erheblichem Instabilitätsgefühl und bei sportlich aktiven Patienten ist eine Operation indiziert (Müller, 2016).

Diese kann bei frischen Bandverletzungen innerhalb der ersten 48 Stunden, bei schwerwiegenden Dislokationen und osteochondralen Frakturen akut, sowie nach Abklingen der Inflammationsphase stattfinden. Im letzten Fall sollte das Kniegelenk zum Zeitpunkt der OP aktiv frei streckbar und weitgehend beugbar sein.

Bei der isolierten Erstverletzung des VKB empfiehlt die S1-Leitlinie (2014) einen autologen Kreuzbandersatz mit einem freien mehrsträngigen Sehnenstransplantat aus der Pes-anserinus-Gruppe, wozu die Semitendinosus- und Gracilis-Sehne zählen. Früher wurden diese Sehnen nur zweifach gefaltet und vernäht. Aktuell werden die Sehnen vierfach gefaltet und stabil vernäht. Die OP sollte in arthroskopischer Technik erfolgen. Wenn zusätzlich der Außen- oder Innenbandkomplex betroffen ist, können diese entweder konservativ-funktionell therapiert oder ebenfalls mit einem autologen Transplantat versorgt werden. Als Alternativen – je nach Patientenwunsch oder im Falle einer Re-Ruptur – stehen des Weiteren als Grundlage für ein freies Transplantat das Ligamentum patellae und die Sehne des M. quadriceps femoris zu Verfügung. In seltenen Fällen kann akut eine transossäre Naht oder aber ein allogenes Bindegewebstransplantat zur Rekonstruktion genutzt werden (Lobenhoffer, 2014).

Für die Operation wird der Patient auf dem Rücken liegend gelagert, beide Knie sind rechtwinklig gebeugt. Am zu operierenden Bein wird eine Blutsperrung mit entsprechender Polsterung angebracht, die für bis zu zwei Stunden verbleibt. Anschließend wird das Bein im Beinhalter gelagert und das OP-Gebiet mehrfach desinfiziert und steril abgedeckt. Für die Entnahme einer Sehne des Musculus semitendinosus bzw. gracilis wird die ca. 3 cm lange Entnahmestelle im Bereich des Pes anserinus präpariert. Über diesen Zugang wird die Sehne mithilfe eines Sehnenstrippers entfernt, um anschließend als Transplantat aufgearbeitet zu werden. Dafür wird dieses Autograft vierfach übereinandergelegt und die Teilabschnitte stabil vernäht. Soll eine Patella- oder Quadriceps-Sehne genutzt werden, erfolgt ein ca. acht bis zehn Zentimeter langer Hautschnitt oberhalb dieser. Sie werden offen chirurgisch, ggf. unter Mitnahme von Knochen-Blöcken entnommen und ebenfalls aufgearbeitet. Letztendlich werden die Transplantate an beiden Enden mit Polyesterfäden versehen. Um dieses unter arthroskopischer Sicht einzusetzen, fertigt der Operateur einen tibialen und einen femoralen Bohrkanaal, die den späteren Verlauf der Kreuzbandplastik definieren (Abb. 2). Nach dem Einziehen des Transplantats können die Knochenblöcke entweder in „pressfit“-Technik verbolzt oder mittels

Interferenzschrauben fixiert werden (Bruch und Trentz, 2008). Es besteht außerdem die Möglichkeit, spezielle Fixationsimplantate (RIGIDFIX®, TransFix®, TightRope®) zur Befestigung der Sehnen transplantate zu nutzen, um metallische Fremdkörper im Kniegelenksbereich zu vermeiden (Müller, 2016).

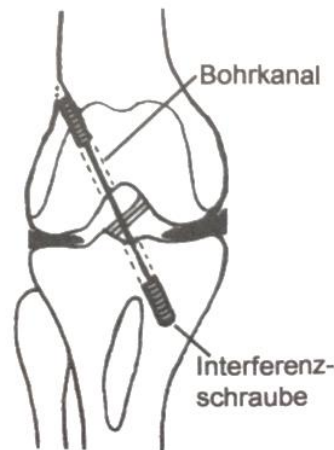


Abb. 2: Schema der Kreuzbandersatzplastik (Müller, 2016, S. 216)

Mehrere Studien (Pinczewski et al. 2007; Geib et al. 2009; Macaulay et al., 2012) beschreiben, dass die oben genannten Grafts bei entsprechender Expertise des Operateurs gleichwertige funktionelle Ergebnisse erzielen können. Auch der Vergleich von Transplantaten mit oder ohne Knochen-Blöcken („bone-tendon-bone“), wie sie bei der Patellar- und Quadriceps-Sehne möglich sind, zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Belastungsstabilität. Allerdings ermöglicht die Quadriceps-Sehne eine Rekonstruktion, die dem anatomischen Verlauf des VKB besser entspricht. Patienten, die ein solches Transplantat erhalten, haben im Vergleich zu denen, die mit einer Patellar-Sehne versorgt werden, weniger postoperative Schmerzen. Außerdem stellten die Autoren die Einzelbündel (Single-Bundle)- und die Doppelbündel (Double-Bundle)-Technik gegenüber, wobei erstere jeweils einen und letztere jeweils zwei Bohrkänäle in Tibia und Femur zur Verankerung des Transplantats nutzen. Auch hier erwies sich keine Technik als eindeutig besser, die Quadriceps-Sehne lässt sich aber auch hier den anatomischen Gegebenheiten besser anpassen (Pinczewski et al., 2007; Geib et al., 2009). In Kadaverstudien zeigte die Doppelbündel-Technik eine ähnliche anterior-posteriore Stabilisierung des Kniegelenks im Vergleich zur Einzelbündel-Technik, übertrifft diese aber in der Rotationsstabilität. Für eine klare Empfehlung fehlen jedoch suffiziente Langzeitkontrollen (Macaulay et al., 2012).

Direkt postoperativ sollte das Kniegelenk geschont, hoch gelagert und gekühlt werden. Anschließend ist der frühzeitige Beginn einer intensiven Bewegungstherapie wichtig, um

Muskelatrophie, Bewegungseinschränkungen und Fehlbelastungen vorzubeugen. Eine Thromboseprophylaxe wird für die Zeit, in der das operierte Bein nicht vollständig belastet werden kann, verordnet. Komplikationen der operativen Kreuzbandversorgung können Nachblutungen, Infektionen, Fremdkörperreaktionen, Arthrosen und Fibrosen, Schäden an umgebenden Weichteilstrukturen und Rupturen des Transplantats sein (Lobenhoffer, 2014). In Hinblick auf die zuletzt genannte Komplikation, wurden die drei verschiedenen Grafts (Semitendinosus-, Patella- und Quadriceps-Sehne) in Studien hinsichtlich ihrer Ruptur-Rate verglichen. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen ihnen festgestellt werden. Als Häufigkeit eines Transplantatschadens wurden, abhängig von der Nachbeobachtungszeit, Werte zwischen 6 und 13% ermittelt. Kreuzbandrisse wurden in 2% aller Fälle auch am nicht-operierten Bein beschrieben. Dieser Wert liegt über dem der gesunden Normalbevölkerung (ca. 1,6%). Das Risiko einer Transplantat-Ruptur ist im ersten postoperativen Jahr am höchsten (Macaulay et al., 2012).

1.3.5 Nachsorge und Rehabilitation

An eine Rekonstruktion des VKB schließt sich nach der direkt postoperativen Phase eine intensive physiotherapeutische Betreuung an. Neben der anfänglichen manuellen Lymphdrainage, die eine starke Schwellung des OP-Gebietes verhindern soll, stehen der Aufbau der stabilisierenden Oberschenkelmuskulatur und Koordinationstraining im Vordergrund. Die Therapie beträgt im Durchschnitt acht bis zwölf Wochen. Frühzeitig wird mit Schwimmen und Radfahren begonnen. Nach frühestens sechs Monaten kann die Wiederaufnahme anderer Sportarten erfolgen. Der Einsatz stabilisierender Orthesen wird kontrovers diskutiert. Je nach Zentrum werden sie gar nicht oder lediglich bis zu zwei Monate verwendet. Die Bewegungsumfänge werden dabei schrittweise erhöht, um das korrekte Anwachsen des Transplantats zu sichern. Sollte das Rekonstruktions-Graft mithilfe von Schrauben im Knochen verankert worden sein, so müssen diese nicht entfernt werden, wenn sie keine Beschwerden bereiten (Lobenhoffer, 2014).

1.4 Muskuläre Besonderheiten bei Patienten mit VKB-Ruptur

Ein Kreuzbandriss und dessen Rekonstruktion haben nicht nur direkte Auswirkungen auf den Band-, Knorpel- und Kapselapparat des Kniegelenks, sondern auch auf die umgebende Muskulatur. Pamukoff et al. verglichen eine Stichprobe von 20 Patienten, die vor ca. zwei Jahren ein VKB-Transplantat erhielten, mit einer gesunden Kontrollgruppe. Nach dieser Zeit wiesen die Kreuzband-Patienten signifikante Defizite in der maximalen Kraftentwicklung und EMG-Aktivität des M. quadriceps femoris auf. Gleichzeitig konnte bei ihnen eine höhere Ko-Aktivierung der ischiokruralen Muskulatur während der durchgeführten isometrischen Kontraktion festgestellt werden, was als Kompensationszeichen zu werten ist (Pamukoff et al., 2017).

Kuenze et al. (2015b) untersuchten die neuromuskuläre Ansteuerung und kortiko-motorische Vernetzung. Diese zeigten deutliche Asymmetrien der operierten im Vergleich zur gesunden Extremität. Eine Minderung der Muskelkraft, Erregbarkeit und der suffizienten Verbindung zur motorischen Großhirnrinde konnten festgestellt werden. Durch diese Pathologie stieg auch das Risiko für wiederholte Bandverletzungen, da die Propriozeption und Reaktionsfähigkeit beeinträchtigt wurde.

Verschiedene Arbeitsgruppen untersuchten die abnormalen Bewegungsabläufe, die aufgrund der unphysiologischen nervalen Muskelaktivierung entstehen (Kuenze et al., 2015a). Dazu wurden Bewegungen mit Hochgeschwindigkeitskameras aufgenommen und analysiert. Dabei fällt in zahlreichen Fällen auf, dass die geringere Kraft der Knieextensoren zu Fehlhandlungen führt, was die Verletzungsrate beim Wiedereinstieg in die jeweiligen Sportarten deutlich erhöht (Kuenze et al., 2015a).

Dass eine chronische Knieinstabilität die Fasertypen-Zusammensetzung der Knieextensoren beeinflusst, konnten Stockmar et al. (2006) zeigen, die Biopsien des M. vastus medialis sowohl auf der gesunden als auch auf der verletzten Seite untersuchten. Dabei stellten sie fest, dass die Muskulatur des vom Kreuzbandriss betroffenen Beins einen stärker oxidativ betonten Metabolismus aufweist und eher ausdauernd als kraftbetont arbeitet. Dies spricht für einen Shift zu mehr Typ I bzw. slow twitch Fasern. Außerdem hatten sowohl die Typ I als auch die Typ II Fasern des beeinträchtigten Beins signifikant geringere Durchmesser, was für eine Atrophie der Muskulatur spricht (Stockmar et al., 2006).

1.5 Forschungsdefizite

Die Verletzung des vorderen Kreuzbands ist eine der häufigsten Sportverletzungen. In der Rehabilitation der betroffenen Patienten spielt der M. quadriceps femoris, insbesondere die Anteile der Mm. vasti medialis und lateralis, eine bedeutende Rolle in der Stabilisierung des Kniegelenks (Tho et al., 1997). Über mehrere Jahre können nach einer VKB-Rekonstruktion am operierten Bein Kraftdefizite im Vergleich zur Gegenseite nachgewiesen werden, was nachweislich einen Einfluss auf den Gang, die posturale Stabilität und somit auf das Risiko möglicher Re-Rupturen hat (Kim et al., 2010; Grapar Zargi et al., 2016). Da die Maximalkraft vor allem auf dem Vorliegen der fast twitch Fasern beruht, ist eine Atrophie dieser naheliegend. Eine Rolle in der Dysfunktion des M. quadriceps femoris spielen dabei sowohl die Muskelkraft, als auch die kortikale Ansteuerung und Aktivierung dieses Muskels (Kuenze et al., 2015b). Eine genaue Analyse der histochemischen Faserzusammensetzung der Muskulatur erlaubt lediglich eine Biopsie, wie sie bereits in einigen Studien durchgeführt wurde (Kap. 1.1). Es ist bekannt, dass bereits eine erstmalige VKB-Ruptur zu einer Veränderung der Oberschenkelmuskulatur (Stockmar et al., 2006) und der Menisken (Atarod et al., 2015) führt. Dabei sind sowohl Veränderungen der Fasertypen und Atrophiezeichen als auch die Kraftminderung vordergründig (Kap. 1.4). Diese Strukturveränderungen und begleitende Anpassungsstörungen beeinflussen den physiologischen Bewegungsablauf. Die betroffenen Patienten können dadurch Angst vor einer erneuten Ruptur entwickeln, sich in ihren Alltagsaktivitäten einschränken (verminderte gesundheitsbezogene Lebensqualität) und haben ein erhöhtes Risiko für erneute Kniegelenksverletzungen (Filbay et al., 2016).

Diskutiert wird auch eine genetische Komponente von (wiederholten) VKB-Rupturen, da eine Metaanalyse eine familiäre Prädisposition finden konnte. Es wird diskutiert, ob diese mit Polymorphismen im Kollagen-Erbgut korreliert werden können. Hierfür sind jedoch weitere Assoziationsstudien notwendig (Kaynak et al., 2017).

Noch nicht ausreichend geklärt ist außerdem die Frage, wie die histologische Beschaffenheit der Oberschenkelmuskulatur von Patienten ist, die bereits eine Graft-Ruptur erlitten haben. Defizite in der Forschung bestehen diesbezüglich auch im Hinblick auf die Metabolismus-Veränderungen der schnellen und langsamen Muskelfasern. Dies betrifft sowohl die suffiziente Speicherung von Glykogen als auch die Bevorzugung von glykolytischer oder oxidativer Energiegewinnung. Pathologien auf diesen Gebieten können mithilfe grundlegender Substrat- und Enzymhistochemie dargestellt werden.

2 Zielstellung und Hypothesen

Basierend auf dem zuvor beschriebenen Defizit der aktuellen Forschung im Bereich der wiederholten Kreuzband- bzw. Graft-Rupturen soll die vorliegende Arbeit in diesem Themengebiet angesiedelt sein.

Dazu werden intraoperativ gewonnene Muskelbiopsien der Mm. vasti medialis et lateralis von Patienten, die sich einer VKB-Re-Plastik unterzogen, histochemisch aufgearbeitet. Ziel ist es, die Proben hinsichtlich ihrer Muskelfaserzusammensetzung, der glykolytischen und oxidativen Stoffwechselwege, ihrer Glykogenspeicherung und bindegewebigen Veränderung zu analysieren. Zusätzlich werden Patienten-spezifische Daten (u.a. Epidemiologie, Verletzungsmechanismus, Vorerkrankungen) in die Auswertung einbezogen.

Die gewonnenen Daten sollen mit Vergleichswerten aus der Literatur (Kap. 1.1) verglichen werden. Anschließend sollen die gewonnenen Ergebnisse im Hinblick auf Prävention und Rehabilitation von Kreuzbandverletzungen diskutiert werden.

Dazu sollen folgende Hypothesen untersucht werden:

1. Die VKB-Rupturen (Erst- und Re-Rupturen) treten hauptsächlich als Sportverletzungen bei jungen Menschen auf.
2. Der Hauptverletzungsmechanismus bei Erst- und Re-Rupturen ist ein Rotationstrauma.
3. Die Muskelbiopsien der Mm. vasti medialis und lateralis zeigen einen geringeren Anteil an fast twitch Fasern bei Patienten mit VKB-Ruptur im Vergleich zu Probanden ohne stattgehabte VKB-Ruptur.
4. Die Muskelbiopsien der Mm. vasti medialis und lateralis weisen eine Bevorzugung der oxidativen, ausdauernden Energiegewinnung und glykogenarmer Muskelfasern auf.
5. Die Muskelbiopsien der Mm. vasti medialis und lateralis unterscheiden sich hinsichtlich des Bindegewebsanteils und der Muskelfaserdurchmesser im Vergleich zu Durchschnittswerten von Probanden ohne stattgehabte VKB-Ruptur.

3 Material und Methodik

3.1 Untersuchungsstichprobe

Für die Studie wurden 40 Patienten der Sportklinik Halle ausgewählt. Diese erhielten aufgrund einer Transplantat-Ruptur einen erneuten autologen Kreuzband-Ersatz mit der Quadriceps-Sehne (Staubli und Jakob, 1997). Diese Methode stellt eine Alternative zur Verwendung der Patellarsehne in einer Re-Operation dar (Corry et al., 1999). Beide Möglichkeiten werden in der S1-Leitlinie (2014) genannt.

3.2 Untersuchungsablauf

Aufgrund der immanenten Entnahme von humanem Probenmaterial erfolgte vor Studienbeginn eine Antragstellung bei der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, der am 15.12.2016 bewilligt wurde (2016-145).

Die nach den oben aufgeführten Merkmalen eingeschlossenen Patienten wurden im Vorfeld über die Operation sowie die zusätzliche Erhebung persönlicher Daten, die anschließend anonymisiert wurden, aufgeklärt. Um ihr Einverständnis über die Teilnahme an der Studie zu dokumentieren, unterschrieben sie eine Einwilligungserklärung.

Von den teilnehmenden Patienten wurden mithilfe eines strukturierten Fragebogens folgende Daten erhoben: Alter, Geschlecht, Körpergröße und -gewicht, Vorerkrankungen, Dauermedikation, Datum und Verletzungsmechanismen vorangegangener Kreuzbandrisse, Datum und Verletzungsmechanismus des aktuellen Kreuzbandrisses, Beruf und sportliche Tätigkeit in den letzten zwei Jahren. Der Fragebogen wurde im persönlichen Gespräch mit den Patienten bearbeitet, um eine vollständige Bearbeitung des Fragebogens zu gewährleisten.

Am Tag der OP in der Sportklinik Halle wurden die zwei Muskelbiopsien (jeweils eine für den M. vastus medialis und lateralis) entnommen und bis zum Transport in das Forschungslabor des Departments für Orthopädie und Unfall- und Wiederherstellungschirurgie im Universitätsklinikum Kröllwitz kühl gelagert.

3.3 Entnahme und Aufarbeitung der Muskelbiopsien

Durch die anatomische Nähe der Quadricepssehne zu den Mm. vasti medialis und lateralis konnten intraoperativ ohne Erweiterung des OP-Gebietes Biopsien der beiden Muskeln gewonnen werden (Abb. 3). Die verwendeten Muskelanteile befanden sich direkt am entnommenen Sehnentransplantat. Für den Patienten bedeutete dies somit keine zusätzlichen Biopsiewunden und kein erhöhtes perioperatives Risiko.

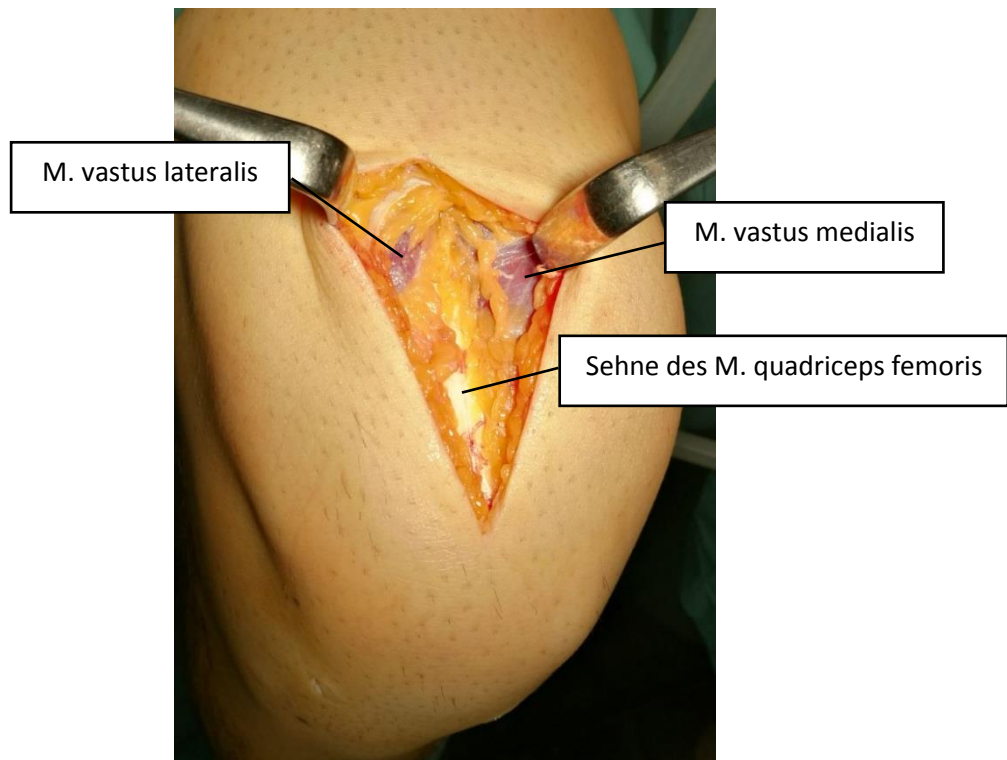


Abb. 3: OP-Situs direkt vor Entnahme der Quadriceps-Sehne (Foto: Dr. T. Bartels, Sportklinik Halle)

Die Lagerung und der Transport von der Sportklinik Halle in das Muskellabor erfolgten in kleinen Behältern, die zuvor mit einem in NaCl getränkten Tupfer ausgelegt wurden. Im Labor wurden die Proben in 2-Methylbutan-Lösung gelegt, mit flüssigem Stickstoff gekühlt und anschließend auf Korkplättchen geklebt. Dieses „snap-freezing“ ermöglichte die Lagerung der Proben bei -80°C bis zur Weiterverarbeitung. Mithilfe eines Kryostaten wurden die Muskelbiopsien in fünf Mikrometer dicke Scheiben geschnitten. Anschließend folgten die Lufttrocknung für 24 Stunden, das Färben auf einem Objektträger und das Eindecken mit Kaiser's Glyceringelatine.

3.4 Histochemische Färbung

HE-Färbung

Die HE-Färbung diente als Übersichtsfärbung, mithilfe derer Veränderungen der Muskelfaserarchitektur beurteilt werden konnten. Dazu zählten unter anderem Abweichungen der Muskelfaserform, atrophische oder nekrotische Areale, sowie das Vorhandensein zentraler Kerne (Loughlin 1993).

Als Reagenzien wurden Hämalun-Lösung, 1%ige wässrige Eosin-Lösung, Roticlear (Xylol) und Ethanol benötigt.

Für die Übersichtsfärbung wurden folgende Schritte durchgeführt:

1. Hämalun-Lösung (frisch filtriert)		10 Minuten
2. Spülen in Leitungswasser		30 Sekunden
3. Bläuen in frischem Leitungswasser		10 Minuten
4. 1 % ige wässrige Eosin-Lösung (frisch filtriert)		1 Minute
5. Spülen in Leitungswasser		10 Sekunden
6. aufsteigende Alkoholreihe:	70 % Ethanol	10 Sekunden
	96 % Ethanol	30 Sekunden
	100 % Ethanol	2 x 2 Minuten
7. Roticlear (Xylol)		4 Minuten
8. Eindecken mit Histokitt (Kanadabalsam).		

Die Proben wurden zunächst mit dieser Färbung dargestellt und bei 25- sowie 50-facher Vergrößerung mikroskopiert, um eine ausreichende Qualität des Präparates, die Architektur der Faszikel, die Fasergröße und -form sowie eventuell vorhandene pathologische Atrophien festzustellen. In der HE-Färbung können außerdem Zellkerne, Blutgefäße, Nervenfasern und Muskelspindeln unterschieden werden (Loughlin, 1993).

Lagen gravierende und über das gesamte Präparat verteilte Gefrierartefakte vor, führte dies zum Ausschluss von der weiteren Untersuchung. Lokale Atrophien und Nekrosen sowie zentralständige Kerne wurden als auffällig eingestuft und vermerkt (Abb. 4).

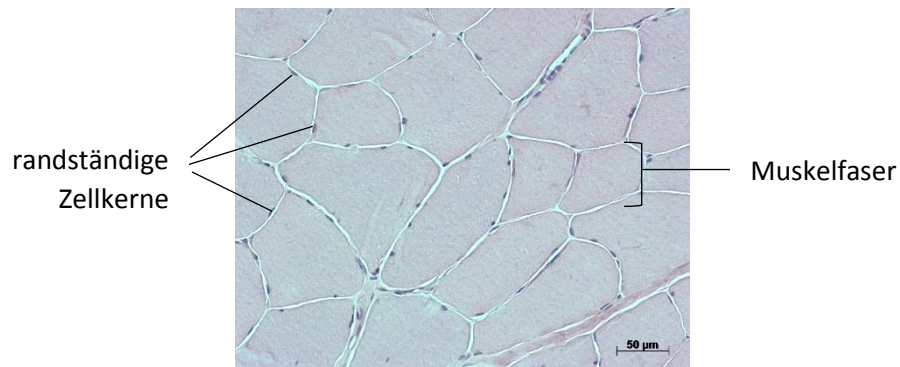


Abb. 4: HE-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

mATPase-Färbungen

Die Reaktion der myofibrillären Adenosintriphosphatase diente der Unterscheidung in Typ I und II Fasern. Die Präinkubation in saurem Milieu (pH 4,3 oder 4,6) diente der genaueren Unterscheidung von IIa und IIx Fasern. Anhand dieser Färbung konnten die Faserdurchmesser der verschiedenen Muskelfasertypen verlässlich ausgewertet werden. Bei einem basischen pH-Wert ist es möglich, Typ I Fasern kräftig anzufärben. Die Muskelfasern des Typs IIx reagieren bei einem pH-Wert von 4,6 kräftig, wohingegen sich die intermediären Typ IIa Fasern bei beiden pH-Werten (4,6 und 9,4) nur schwach anfärben (Loughlin, 1993).

Die Untersuchung der mATPase wurde bei den pH-Werten 4,6 und 9,4 durchgeführt.

Dafür wurden unterschiedliche Präinkubationslösungen benötigt. Es wurden 72 ml 0,1 M Natriumacetatpuffer mit 36 ml 0,18 M Calciumchlorid-Lösung und 252 ml Aqua dest. gemischt und filtriert, um im Anschluss den pH-Wert mit Hilfe von Salzsäure bzw. Natronlauge einzustellen. Um die zweite Präinkubationslösung herzustellen, waren 72 ml 0,1 M Natrium-Barbital-Lösung, 72 ml 0,18 M Calciumchlorid-Lösung und 216 ml Aqua dest. notwendig. Hierbei wurde direkt nach dem Mixen der pH-Wert auf 9,4 eingestellt und die entstandene Lösung erst kurz vor dem Gebrauch filtriert. Die dritte benötigte Grundlage war die ATP-Inkubationslösung, für die 18 ml 0,1 M Natrium-Barbital-Lösung mit 9 ml 0,18 M Calciumchlorid-Lösung, 0,1474 g 2,9 mM ATP und 57 ml sorgfältig miteinander verbunden und bis zum Gebrauch bei 37°C warmgehalten wurden. Zusätzlich waren für die ATPase-Färbungen 0,01M Natrium-Barbital-Lösung, 1%ige Calciumchlorid-Lösung, 2%ige Cobalt(II)chlorid-Lösung und 1%ige Ammoniumsulfid-Lösung (unter dem Abzug herzustellen und zu lagern) notwendig.

Waren alle Lösungen frisch und in ausreichender Menge hergestellt, wurden folgende Schritte bei Raumtemperatur durchgeführt:

- | | |
|--|----------------|
| 1. für mATPase bei pH 4,6: Proben in Präinkubationslösung pH 4,6 | 5 Minuten |
| für mATPase bei pH 9,4: Proben in Präinkubationslösung pH 9,4 | 15 Minuten |
| für beide pH-Werte: | |
| 2. ATP-Inkubationslösung bei 37 °C | 15 Minuten |
| 3. 1%ige Calciumchlorid-Lösung | 3 x 1 Minute |
| 4. 2%ige Cobalt(II)chlorid-Lösung | 5 Minuten |
| 5. Spülen in 0,01 M Natrium-Barbital-Lösung (insgesamt vier Mal) | |
| 6. Spülen in Leitungswasser | 15 bis 60 Sek. |
| 7. 1%ige Ammoniumsulfid-Lösung (unter dem Abzug) | 20 Sek. |
| 8. Waschen mit Aqua dest. | |
| 9. Eindecken mit Kaisers Glyceringelatine. | |

In der vorliegenden Untersuchung wurden in der mATPase pH 4,6 Reaktion (Abb. 5) die prozentualen Anteile und Durchmesser der Typ I, IIa und IIx Fasern bestimmt. Die Typ I Fasern färbten sich schwarz, Typ IIa Fasern hellgrau und Typ IIb Fasern dunkelgrau an. Um einen durchschnittlichen Muskelfaserquerschnitt zu ermitteln, wurden mindestens zehn, bestenfalls 25 polygonal geformte Muskelfasern (ohne Gefrierartefakte) aus verschiedenen Bereichen des ausgewählten Präparat-Ausschnittes vermessen. Dabei wurde jeweils der kleinstmögliche Durchmesser ausgewählt, da der größere Wert durch einen schrägen Anschnitt der Muskelfaser entstanden sein konnte.

Vergleichend dazu wurden auch in der mATPase Reaktion bei einem pH-Wert von 9,4 (Abb. 6) die prozentualen Anteile der Typ I und II Fasern bestimmt. Die Typ I Fasern färbten sich in dieser Färbemethode hellgrau, die Typ II Fasern dunkelgrau bzw. schwarz an (Loughlin 1993).

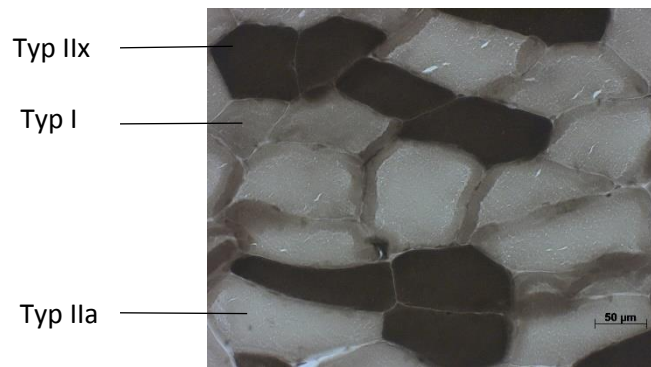


Abb. 5: mATPase-Färbung pH 4,6 einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

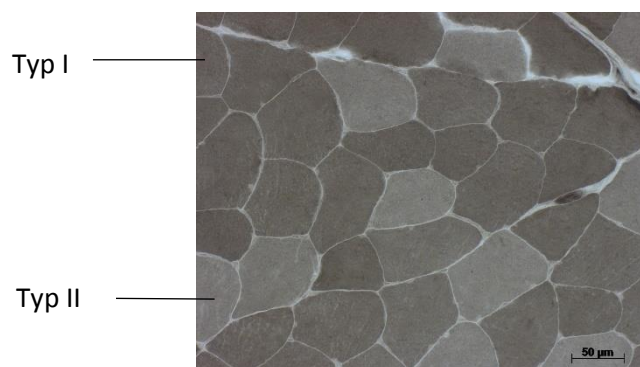


Abb. 6: mATPase-Färbung pH 9,4 einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

NADH-Färbung

Die NADH-Färbung diente der Darstellung des Coenzym NADH, das in Atmungskette zur ATP-Gewinnung beiträgt. Das Enzym ist in den Mitochondrien und dem endoplasmatischen Retikulum zu finden. Da es zur oxidativen Energiegewinnung beiträgt, ist es vor allem in Typ I Fasern zu finden (Loughlin, 1993).

Zur Herstellung der Färbelösung war 0,2 M Trispuffer (pH 7,5) notwendig. Dieser wurde mit Nitroblautetrazoliumchlorid (NBT) zu einer 2,44 mM NBT-Lösung (0,0199 g NBT / 10 ml 0,2 M Trispuffer pH 7,5) und mit Nicotinamadenindinukleotid (NADH) zu einer 2,26 mM NADH-Lösung (0,016 g NADH / 10 ml Trispuffer pH 7,5) gemischt. Die NBT- und NADH-Ausgangslösungen wurden bis zum Gebrauch bei -20°C gelagert.

Um die frische NADH-Färbelösung anzusetzen, wurden jeweils 250 µl der beiden Ausgangslösungen in ein Eppendorf-Tube gegeben.

Die vorbereiteten Objektträger wurden in eine feuchte Kammer gelegt und auf jeden Schnitt 50 µl der NADH-Färbelösung aufgetragen. Die Inkubation erfolgte bei 37°C für 45 Minuten. Anschließend mussten die Proben mit Aqua dest. gewaschen und mit Kaiser's Glyceringelatine eingedeckt werden.

In den Präparaten, die mit der NADH-Reaktion (Abb. 7) eingefärbt wurden, erfolgte die Bestimmung der Muskelfasern mit hoher (kräftig blau gefärbt) und niedriger (schwach bläulich gefärbt) NADH-Aktivität (Loughlin 1993).

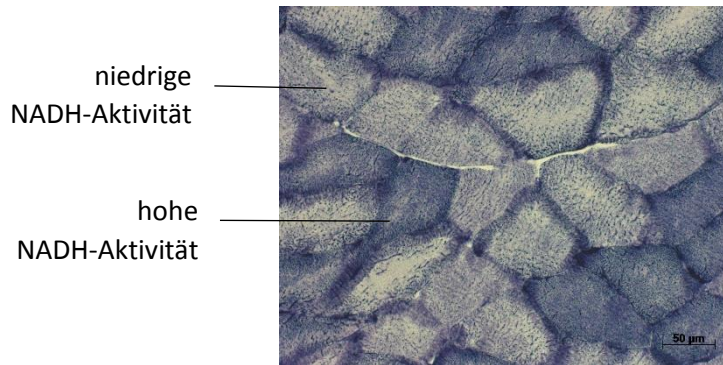


Abb.7: NADH-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

PAS-Färbung

Die Färbetechnik Periodic Acid-Schiff diente in der histologischen Untersuchung der Darstellung von Glykogen, Mukopolysacchariden, Glykoproteinen und weiteren langkettigen Speicherformen. Da Glykogen die Grundlage für die glykolytische Energiebereitstellung ist, funktioniert die PAS-Reaktion am farbtensivsten in Typ II Fasern (Loughlin, 1993).

Als Reagenzien waren 10%ige wässrige Natriumdisulfitlösung, 1%ige Perjodsäurelösung und Schiffs-Reagenz (als Fertiglösung von Roth) notwendig. Aus der Natriumdisulfitlösung wurde Sulfitwasser hergestellt, indem 18 ml mit 300 ml Aqua dest. und 15 ml 1 N HCl gemischt wurden. Anschließend waren folgende Schritte zu befolgen:

- | | |
|--|-----------------|
| 1. Proben in frisch angesetzte 1%ige Perjodsäurelösung | 10 Minuten |
| 2. Spülen in Aqua dest. | 3 x 20 Sekunden |
| 3. Schiffs-Reagenz | 15 Minuten |
| 4. Spülen in Sulfitwasser | 3 x 3 Minuten |
| 5. Spülen in Leitungswasser | 15 Minuten |

- | | |
|---|-------------------|
| 6. Gegenfärbung mit Hämalau | 3 bis 4 Minuten |
| 7. Bläuen in frischem Leitungswasser | 10 bis 15 Minuten |
| 8. Eindecken mit Kaisers Glyceringelantine. | |

Die mithilfe der PAS-Reaktion markierten Proben (Abb. 8) werden hinsichtlich eines hohen (vorwiegend glykolytischer Stoffwechsel) und niedrigen Glykogengehalts untersucht. Auch hier wird die prozentuale Zusammensetzung der Präparate festgehalten. Die kräftig eingefärbten Muskelfasern weisen einen hohen Glykogengehalt auf (Loughlin 1993).

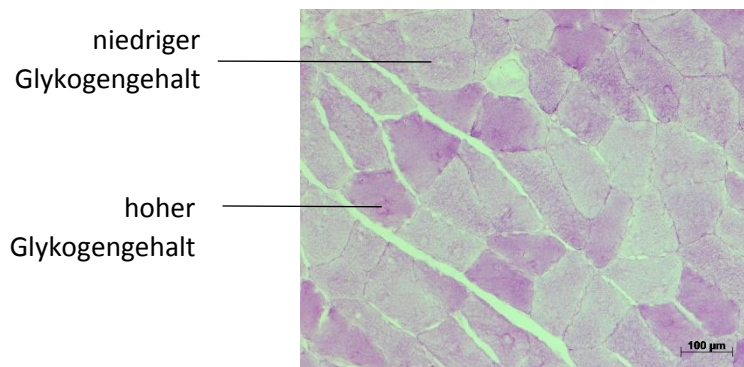


Abb. 8: PAS-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

COX/SDH-Färbung

Die Enzyme Cytochrom-Oxidase und Succinat-Dehydrogenase sind spezifisch für Mitochondrien und können diese somit selektiv kennzeichnen (Loughlin, 1993).

Das Inkubationsmedium wurde aus 10 mg Diaminobenzidin, neun ml 0,05 M Natriumphosphatpuffer (pH 7,4), 2 ml Katalase und 20 mg Cytochrom C-Lösung angefertigt und anschließend in 500 µl fassende Eppendorf-Tubes gefüllt, um bei -80 °C bis zum Verbrauch gelagert zu werden. Die SDH-Lösung wurde direkt vor der Verwendung aus 100 µl 130 mM Natriumsuccinat-Lösung, 100 µl 2mM Phenazinmethosulfat-Lösung, 10 µl 100 mM Natriumazid-Lösung und 800 µl 1,875 mM Nitroblautetrazoliumchlorid hergestellt.

Für die COX/SDH-Färbung waren folgende Schritte zu befolgen:

- | | |
|--|-------------|
| 1. 50 µl des Inkubationsmediums auf die Schnitte geben und anschließend bei 37 °C inkubieren | 60 Minuten |
| 2. Spülen mit 0,05 M Natrium-Phosphatpuffer | 10 Sekunden |

3. Objektträger vorsichtig um die Schnitte herum abtrocknen
4. 50 µl SDH-Lösung auf die Schnitte geben und anschließend bei 37 °C in der feuchten Kammer inkubieren 60 Minuten
5. Spülen mit Aqua dest. und in einer aufsteigenden Alkoholreihe je einige Sek.
6. Roticlear (Xylol)
7. Eindecken mit Histokitt.

Die COX/SDH-Doppelfärbung (Abb. 9) stellt mitochondrienreiche, oxidativ arbeitende Muskelfasern kräftig braun dar. Dies entspricht dem Verhalten der Typ I Fasern. Die übrigen Fasern (Typ II) werden hellbraun bis grau gefärbt, wenn sie mitochondrienarm sind bzw. blau, wenn ein Mitochondriendefekt vorliegt (Loughlin 1993).

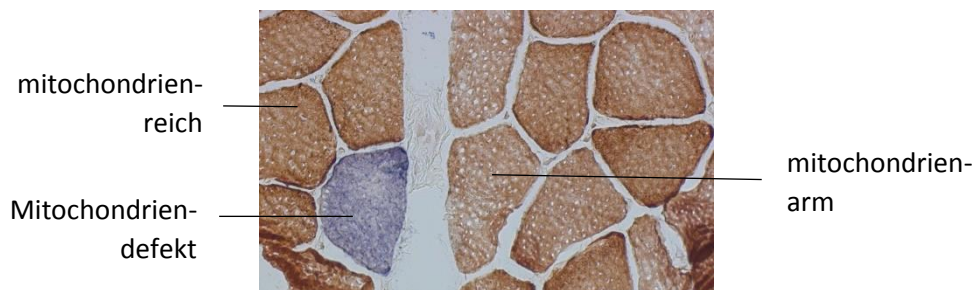


Abb.9: COX/SDH-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

van Gieson-Färbung

Die van Gieson-Reaktion färbt Bindegewebe rot und Muskelfasern gelb. Das sogenannte Perimysium ist im gesunden Muskel als gut definierte Kollagenschicht sichtbar, die den Muskel in Bündel und Faszikel unterteilt. Das Endomysium, das aus kleinen Kollagenfasern besteht, trennt die einzelnen Muskelfasern voneinander und ist vor allem dann sichtbar, wenn es bei einer pathologischen Muskelveränderung proliferiert. Das Epimysium stellt die oberste Schicht dar, welche den gesamten Muskel umhüllt und die Übergänge zu den Sehnen schafft (Loughlin, 1993).

Die kombinierte van Gieson-Trichrom-Färbung, besteht aus zwei Farbstoffen. Die schnell eindringende, feindisperse Pikrinsäure verursacht die beschriebene Gelbfärbung. Das grobdisperse Säurefuchsin färbt in der kurzen Einwirkzeit die Fasern des kollagenen Bindegewebes rot. Zusätzlich können die Zellkerne mit einer Eisenhämatoxylin-Lösung (nach Weigert) hervorgehoben werden. Neben dieser wurden die van Gieson-Lösung, Ethanol, die Resorcin-Fuchsin-Lösung und Roticlear (Xylol) benötigt.

- | | |
|---|-----------------|
| 1. Färben mit Resorcin-Fuchsin-Lösung | 30 Minuten |
| 2. Spülen unter fließendem Leitungswasser | |
| 3. Spülen mit Aqua dest. | 10 Sekunden |
| 4. Differenzieren mit 80% Ethanol | |
| 5. kurzes Spülen mit Aqua dest. zur Unterbrechung der Differenzierung | |
| 6. Mikroskopkontrolle: Elastische Fasern dunkelviolett auf hellrosa Grund | |
| 7. Färben Eisenhämatoxylin-Lösung | 2 bis 3 Minuten |
| 8. Spülen mit Aqua dest. | 30 Sekunden |
| 9. Bläuen mit fließendem Leitungswasser | 10 Minuten |
| 10. Färben mit van Gieson-Lösung | 1 bis 3 Minuten |
| 11. kurzes Spülen mit 70% und 96% Ethanol | |
| 12. Entwässern und Spülen mit 96% und zweimal 100% Ethanol | |
| 13. Roticlear (Xylol) | |
| 14. Eindecken mit Kaisers Glyceringelantine. | |

Die mit der van Gieson- Färbung (Abb. 10) eingefärbten Präparate wurden anhand eines repräsentativen Bildausschnittes beurteilt. Das Bindegewebe und die Muskelfasern wurden im Programm AxioVision getrennt voneinander markiert und ihr prozentualer Anteil an der abgebildeten Oberfläche berechnet.

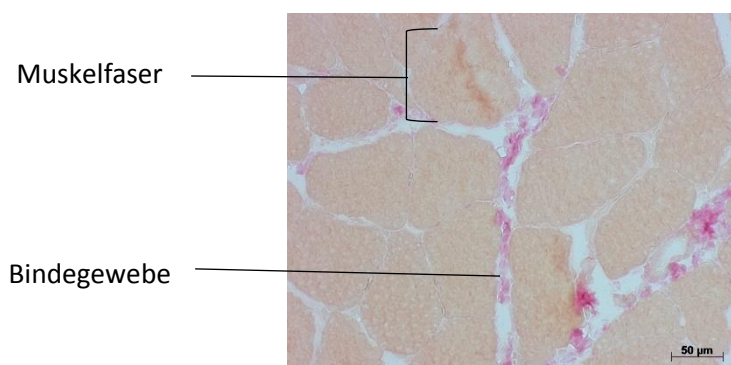


Abb. 10: van Gieson-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten (Foto: S. Liebhart)

3.5 Auswertungssoftware

Das Mikroskop Axioplan der Firma Carl Zeiss AG wurde für die histologische Auswertung genutzt. Dieses war über eine direkt angeschlossene Kamera mit einem Computer im Muskellabor verbunden.

Im Programm AxioVision konnte das mikroskopische Bild live angesehen und als Bilddatei gespeichert werden. Es bot außerdem die Möglichkeit der halbautomatischen Zählung und Ausmessung von Objekten. Dazu musste im Menüpunkt „Automatische Messprogramme“ eine Datei angelegt werden, die für die jeweilige Färbung geeignet ist. Für die mATPase-Färbung pH 4,6 wurde eine Datei erstellt, die drei verschiedene Farbtöne (hellgrau, mittelgrau, dunkelgrau/schwarz) erkennen konnte, für die mATPase-Färbung pH 9,4 mussten nur zwei verschiedene Farbtöne (hellgrau, dunkelgrau/schwarz) unterschieden werden. Analog galt dies auch für die NADH- (blass-blau und kräftig-blau), PAS- (blass-violett und kräftig-violett) und van Gieson-Färbung (gelb, pink). Für die COX/SDH-Doppelfärbung mussten drei verschiedene Farbtöne (blass-braun, kräftig-braun und blau) vom System unterschieden werden. Die Farben wurden durch einmaliges Anklicken eines Objekts (einer Muskelfaser) in der Bilddatei markiert. Das Programm AxioVision konnte dann automatisch alle Flächen im gleichen Farbton erkennen und ebenfalls markieren (Abb. 11).

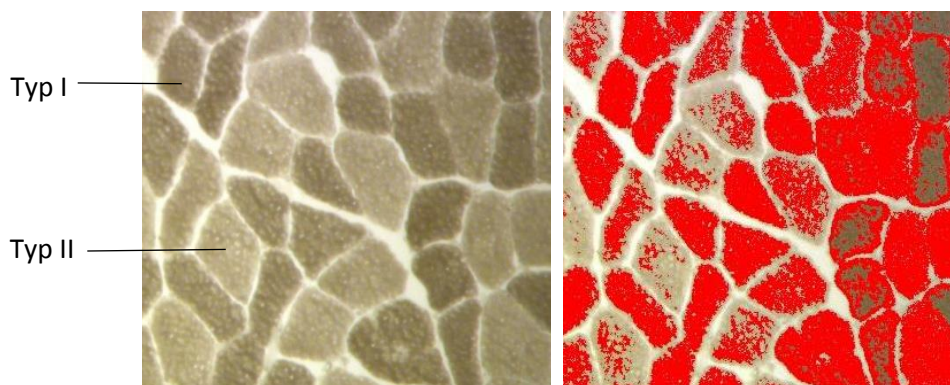


Abb. 11: Erkennung der ausgewählten Farben in AxioVision (Probe des M. vastus lateralis eines 25-jährigen Patienten, mATPase-Färbung pH 9,4, Typ I Fasern links dunkelgrau, rechts rot schraffiert, Foto: S. Liebhart)

Die markierten Objekte wurden sinnvoll zu Muskelfasern zusammengefasst. Dafür musste der Programmpunkt „Automatisches Ausfüllen von Löchern“ ausgewählt werden. Gefrierartefakte, die innerhalb einer Muskelfaser lagen, wurden dadurch nicht berücksichtigt, sondern die Muskelfaser als eine Einheit betrachtet (Abb. 12).

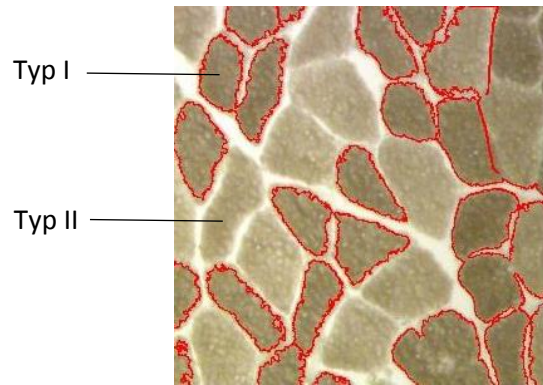


Abb. 12: Markierung erkannter Muskelfasern in AxioVision (Probe des M. vastus lateralis eines 25-jährigen Patienten, mATPase-Färbung pH 9,4, Typ I Fasern rot umrandet, Foto: S. Liebhart)

Da diese Funktion nicht bei allen Präparaten vollautomatisch funktionierte (z.B. aufgrund ungleichmäßiger Farbschattierungen), konnte der Anwender im nächsten Schritt manuelle Korrekturen vornehmen und fehlende Objekte einzeichnen oder fehlerhaft erkannte löschen. Die in unterschiedlichen Farben markierten Fasern wurden vom Programm gezählt und die Ergebnisse in tabellarischer Form angezeigt. Dieser Algorithmus wurde für jede genannte Färbung verwendet.

In der HE-Färbung wurden die Muskelbiopsien zunächst bei 25-, anschließend bei 50-facher Vergrößerung beurteilt. In den mATPase-, PAS-, NADH- und COX/SDH-Färbungen wurde zuerst das gesamte Präparat bei 25-facher Vergrößerung geprüft und ein repräsentativer Ausschnitt ausgewählt. Dieser sollte möglichst keine Gefrierartefakte enthalten. Im Anschluss wurde der ausgewählte Bildausschnitt bei 50-facher Vergrößerung gescannt und dem automatischen Messprogramm zugeführt. In der Auswertung wurde darauf geachtet, dass jeweils mindestens 150 Muskelfasern gezählt wurden. Diese Anzahl erschien eine verlässliche Aussage bei möglichst guter Bildqualität zu liefern. Problematisch war, dass zahlreiche Proben jeweils nur kleine Bildausschnitte von ausreichender Qualität beinhalteten. In der mATPase-Färbung pH 4,6 wurden zusätzlich die Muskelfaserdurchmesser ausgemessen. Dazu wurde der Menüpunkt „Messen“ geöffnet und die Einstellung „Länge“ ausgewählt. Durch Markierung von Anfangs- und Endpunkt einer Muskelfaser wurde deren Durchmesser bestimmt (Abb. 13). Das Ergebnis der Messung wurde direkt im Bild und in tabellarischer Form angezeigt.

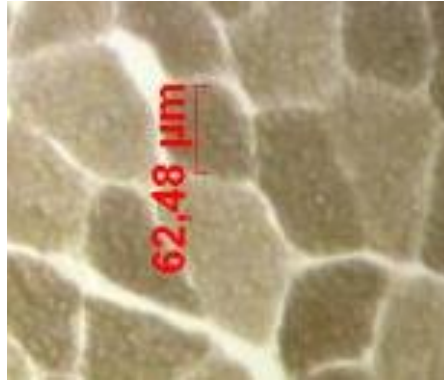


Abb. 13: Ausmessung Muskelfaserdurchmesser in AxioVision (Probe des M. vastus lateralis eines 25-jährigen Patienten, mATPase-Färbung pH 9,4, Messung an Typ I Faser, Foto: S. Liebhart)

Für die van Gieson-Färbung wurde unter 25-facher Vergrößerung das gesamte Präparat überblickt und ein repräsentativer Ausschnitt festgelegt. Auch hier sollte dieser möglichst keine Gefrierartefakte beinhalten. Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass keine Sehnenanteile angeschnitten waren, um die Bestimmung des Anteils von intramuskulärem Bindegewebe, bei dem Endo-, Peri- und Epimysium unterschieden werden, nicht zu verfälschen.

3.6 Statistik

Für die statistische Datenanalyse wurde das Programm SPSS 25.0 (IBM, Armonk, NY, USA) für Windows verwendet. Deskriptiv wurden Minima, Maxima, Mittelwerte und Standardabweichungen berechnet.

Die Mittelwertunterschiede wurden mittels einfaktorierlicher, univariater Allgemeiner Linearer Modelle (ALM) varianzanalytisch geprüft, wobei für die Haupteffekte die Parameter des Greenhouse-Geisser-Tests (p , η^2) angegeben werden. Mittelwertdifferenzen wurden dann als signifikant interpretiert, wenn der p -Wert (Alphafehler) kleiner 0,05 oder das partielle Eta-Quadrat (η^2) größer 0,10 waren, wobei dem Partiellen Eta-Quadrat (Betafehler) eine größere Bedeutung beizumessen ist, da es in wesentlich geringerem Maße von der Stichprobengröße abhängig ist.

Darüber hinaus wurde die Effektgröße d (Standardized Effect Size) nach Kazis et al. (1989) berechnet. Die Bewertung der Effektgrößen in kleine ($d \geq 0,2$), mittlere ($d \geq 0,5$) und große ($d \geq 0,8$) Effekte basiert auf der Empfehlung von Cohen (1988). Die Korrelationen zwischen den Tests respektive Parametern wurden mittels bivariater Produkt-Moment-Korrelation nach Pearson berechnet.

Zur Prüfung der Übereinstimmung der Ergebnisse der unterschiedlichen Färbemethoden untereinander wurde die Intraklassenkorrelation (ICC) berechnet. Basierend auf den Empfehlungen von Shrout und Fleiss (1979) sowie Hopkins (2000) wird der ICC-Wert folgendermaßen interpretiert: bei einem Wert $> 0,75$ ist von einer hohen Übereinstimmung auszugehen, ein Wert zwischen 0,4 und 0,75 repräsentiert eine mittlere/ zufriedenstellende Reliabilität, bei einem Ergebnis $< 0,4$ ist diese gering (Shrout und Fleiss, 1979; Hopkins, 2000).

4 Ergebnisse

4.1 Klinische Darstellung der Patienten

4.1.1 Personenspezifische Daten

Insgesamt wurden in die hier vorgestellte Studie 40 männliche Patienten (n= 40) eingeschlossen. Primär wurden von 61 Patienten Muskelbiopsien entnommen und untersucht, 21 Proben wurden jedoch aufgrund mangelnder Aussagefähigkeit verworfen.

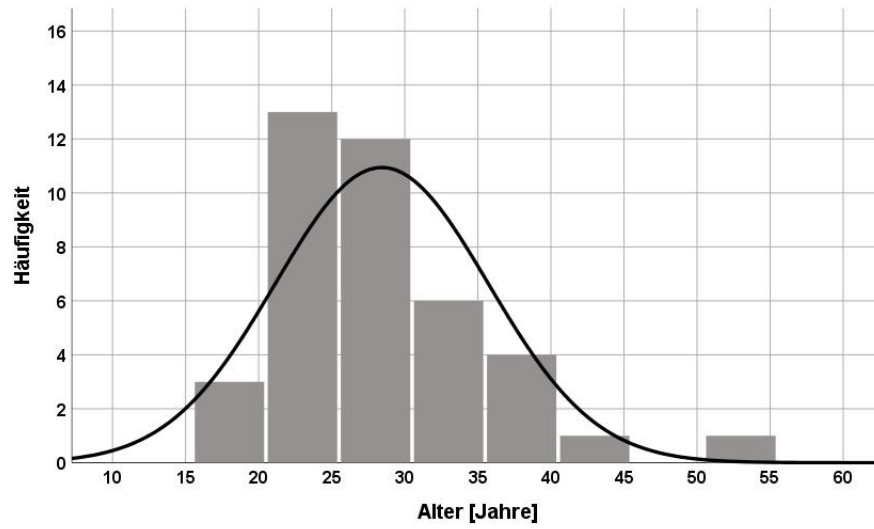


Abb. 14: Histogrammische Altersverteilung der Stichprobe

70% der Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung jünger als 30 Jahre (Range: 18-53 Jahre; Abb. 14).

Der BMI betrug im Durchschnitt $25,4 \pm 3,1 \text{ kg/m}^2$ (Range: 18,5-32,7 kg/m^2). Gemäß der WHO-Einteilung (2000) lagen 17 Patienten im Bereich des Normalgewichts (BMI von 18,5 bis 24,9 kg/m^2), die Werte weiterer 18 Patienten siedelten sich im Bereich der Präadipositas (BMI von 25,0 bis 29,9 kg/m^2) an. Die restlichen fünf Patienten sind dieser Einteilung zufolge übergewichtig im Sinne einer Adipositas Grad I (BMI von 30,0 bis 34,9 kg/m^2).

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden ebenfalls nach ihrem Sportverhalten, rückblickend für die letzten zwei Jahre, befragt. Da die Mehrzahl von ihnen Fußball spielte und als weitere Möglichkeiten zahlreiche verschiedene Sportarten (Handball, Laufen, Fechten, ...) oder keine sportliche Betätigung angegeben wurden, konnte in drei Gruppen eingeteilt werden: Fußballer (n=23), andere Sportler (n=13), Nicht-Sportler (n=4). Die Probanden betätigten sich eigenen Angaben zufolge im angegebenen Zeitraum durchschnittlich dreimal pro Woche (Mittelwert 2,8; Standardabweichung 1,7).

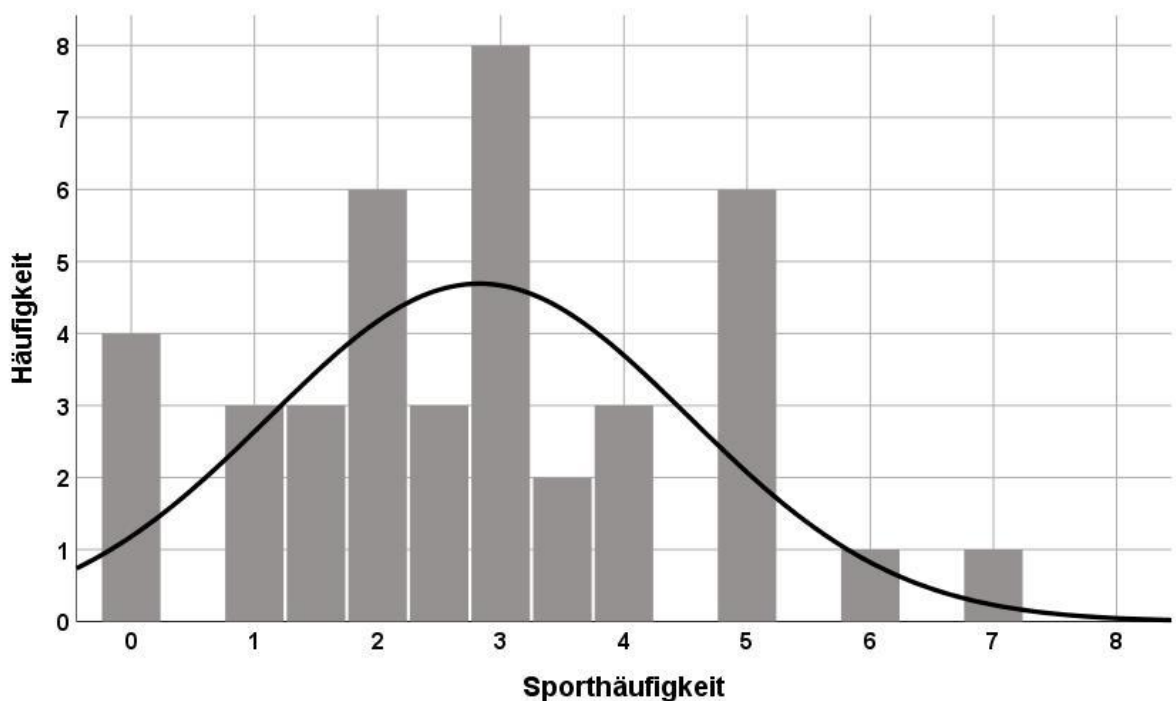


Abb. 15: Histogrammische Darstellung der Sporthäufigkeit pro Woche

Die meisten Patienten betrieben dreimal pro Woche Sport (Abb. 15). Dies bestätigten auch der Median und der Modus, die für diese Stichprobe jeweils bei 3,0 lagen. Jeweils eine Person gab an, täglich bzw. durchschnittlich sechsmal wöchentlich zu trainieren.

Des Weiteren sollten die Patienten Auskunft über Vorerkrankungen erteilen (Tab. 4).

Tab. 4: Vorerkrankungen der Patienten

Organ/-system der Vorerkrankung	Anzahl der Patienten	Relativer Anteil der Patienten (%)
Kniegelenk (außer VKB-Rupturen)	10	25
Herz-Kreislauf-System	2	5
Schilddrüse	1	3
Zentrales Nervensystem	2	5
keine Vorerkrankungen	25	62

Dabei wurden insbesondere weitere Knieverletzungen erfragt. Ein Viertel der Stichprobe gab zusätzlich zu den vorliegenden Kreuzbandrissen weitere Knieverletzungen (Meniskus-, Innenband-, kontralaterale Kreuzbandverletzung) an. Zwei Patienten waren kardiovaskulär mit einer arteriellen Hypertonie vorerkrankt und jeweils mit einem ACE-Hemmer versorgt. Weitere zwei Patienten waren Epileptiker, jedoch unter Therapie symptomfrei. Ein Patient gab eine mit L-Thyroxin eingestellte Hypothyreose an.

Da Kreuzbandrisse nicht nur im Freizeitsport auftreten, wurde außerdem die berufliche Tätigkeit der Studienteilnehmer erfragt. Dabei sollten sie zuerst ihren Beruf nennen und anschließend subjektiv einschätzen, ob dieser nicht bzw. wenig oder stark körperlich anstrengend ist. In die erste Gruppe, hierbei wurden vor allem kaufmännische Berufe genannt, ordneten sich 40% (n = 16) der Patienten ein. Die übrigen 60% (n = 24) entfielen auf die körperlich belastenden Berufe (z.B. Handwerker, Soldaten).

4.1.2 Verletzungsspezifische Daten

Sowohl bei der ersten als auch bei der zweiten (und damit der ersten Re-Ruptur) Ruptur des VKB waren die Patienten durchschnittlich 23,4 bzw. 27,2 Jahre alt (Tab. 5). Vor allem die Modalwerte und der zugehörige Minimalwert verdeutlichen, dass es sich insgesamt um ein junges Patientenkollektiv handelte. Zur ersten Kreuzbandverletzung waren die meisten Patienten genau 18 Jahre, bei der zweiten 24 Jahre alt. Die Maximalwerte erklären, warum der Durchschnitt insgesamt doch im mittleren Bereich der dritten Lebensdekade lag. Lediglich vier Patienten erlitten eine Drittruptur des VKB. Dabei waren sie im Mittel 35,3 Jahre alt.

Tab. 5: Altersstruktur bei erster, zweiter und dritter VKB-Ruptur

Parameter	Alter bei 1. Ruptur [Jahre]	Alter bei 2. Ruptur [Jahre]	Alter bei 3. Ruptur [Jahre]
Anzahl	40	40	4
MW	23,4	27,2	35,3
SD	6,5	7,4	7,6
Modus	18	24	26
Min.	16	17	26
Max.	44	53	44

Um zu klären, ob die sportliche Betätigung einen Einfluss auf das Alter bei der Erstruptur hat, wurden im nächsten Schritt die statistischen Zusammenhänge zwischen der Einordnung in die Sportgruppen (Fußball, anderer Sport, kein Sport) und dem Alter zur Erstverletzung untersucht.

Tab. 6: Alter bei Erstruptur in den verschiedenen Sportartengruppen

Sportart	Anzahl	Mittelwert [Jahre]	Standardabweichung [Jahre]
kein Sport	4	24,3	1,9
Fußball	23	24,3	7,3
anderer Sport	13	21,6	6,0

Es ließ sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,500$; $\eta^2=0,037$) seitens des Verletzungsalters bezüglich der Erstruptur beobachten, welcher durch die Einordnung in die Sportartengruppen zu erklären wäre (Abb. 16).

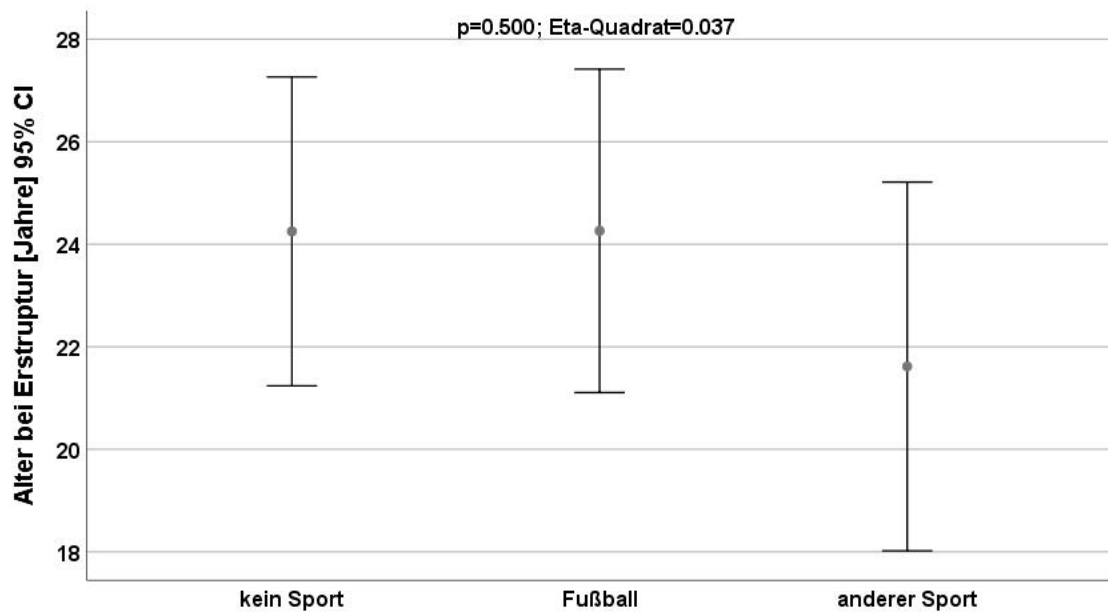


Abb. 16: Alter bei Erstruptur in Abhängigkeit von der sportlichen Aktivität

Ebenso war es von Interesse, ob ein körperlich anstrengender Beruf einen Einfluss auf das Erkrankungsalter hatte.

Hinsichtlich des Verletzungsalters fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (Abb. 17, $p=0,135$; $\eta^2=0,058$).

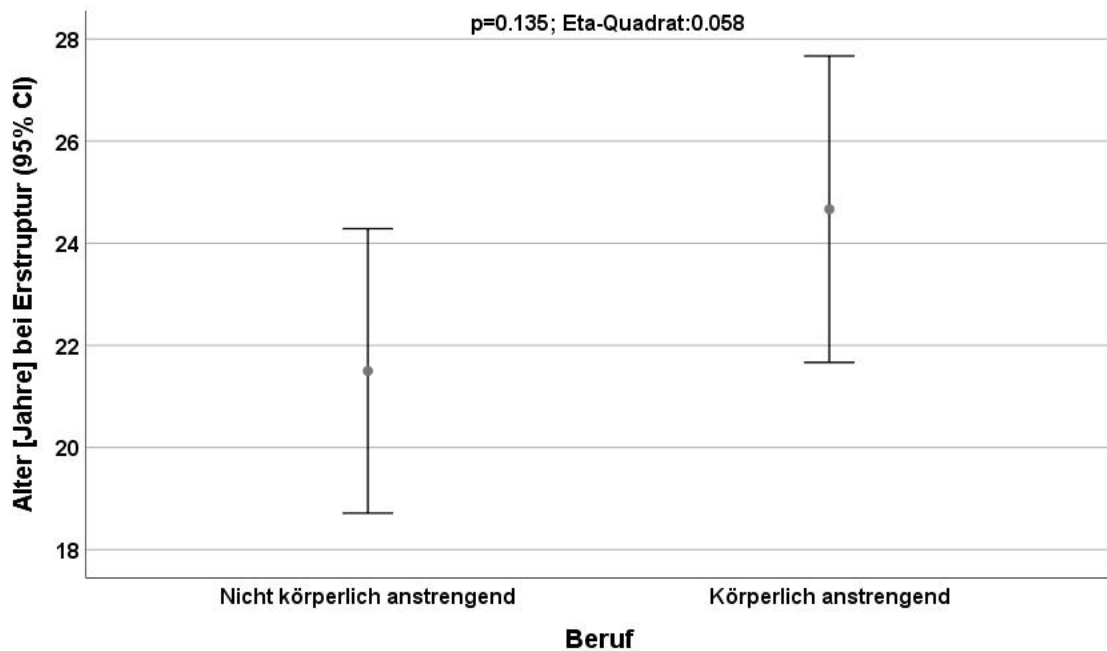


Abb. 17: Alter bei Erstruptur in den verschiedenen Berufsgruppen

Aus der Literatur ist bekannt, dass das Risiko für eine Re-Ruptur bzw. zweite Ruptur innerhalb des ersten Jahres nach der Erstverletzung und operativen Versorgung am höchsten ist. Daher wurden auch die zeitlichen Differenzen zwischen der ersten und zweiten bzw. der zweiten und dritten Kreuzbandverletzung untersucht.

Tab. 7: Zeitdifferenzen zwischen den Rupturen und absolute Häufigkeiten

Zeitdifferenz zwischen erster und zweiter Ruptur [Jahre]	Absolute Häufigkeit (n=40)	Zeitdifferenz zwischen zweiter und dritter Ruptur [Jahre]	Absolute Häufigkeit (n=4)
1	11	2	1
3	13	5	1
5	6	9	1
10	8	13	1
11	2		

Im linken Teil der Tabelle (Tab. 7) wird aufgezeigt, welcher Anteil der Patienten nach welcher Zeitspanne die zweite Ruptur (bzw. erste Re-Ruptur) erlitten hat. Im ersten Jahr nach der Primärverletzung zogen sich lediglich elf der 40 untersuchten Patienten eine Ruptur des VKB-Transplantats zu. Nach insgesamt drei Jahren waren insgesamt über die Hälfte der Patienten erneut von einer Ruptur betroffen, nach insgesamt fünf Jahren bereits drei Viertel. Der

maximale Abstand zwischen erster und zweiter Ruptur betrug elf Jahre und wurde von zwei Patienten erreicht. Im Mittel ereignete sich die zweite Ruptur $3,8 \pm 3,1$ Jahre nach der ersten Ruptur.

Im rechten Teil der Tabelle 8 wird dies analog für die Zeitspanne zwischen der zweiten (bzw. ersten Re-Ruptur) und dritten (bzw. zweiten Re-Ruptur) gezeigt. Dies konnte nur bei vier der 40 Patienten beobachtet werden. Je ein Patient erlitt eine Transplantat-Ruptur nach zwei, die anderen nach fünf, neun bzw. 13 Jahren. Als Mittelwert konnte demnach $7,3 \pm 4,8$ Jahre ermittelt werden.

In der Anamnese wurden die von den Patienten erinnerbaren Unfallmechanismen abgefragt (Tab. 8). Als wichtigste Ursache für eine VKB-Ruptur ist die Rotation des Kniegelenks bei fixiertem Unterschenkel ohne Fremdeinwirken anzunehmen. Weitere Kategorien waren Unfälle mit Fremdeinwirken, z.B. im Spiel-Zweikampf, und seltene Begebenheiten (z. B. beim Spaziergang, während der Arbeit) sowie unbekannte Mechanismen (z. B. inzidentell bei MRT des Kniegelenks entdeckt).

Tab. 8: Relative Häufigkeiten der Unfallmechanismen bei erster, zweiter und dritter Ruptur

Unfallmechanismus	1. Ruptur (n = 40)	2. Ruptur (n = 40)	3. Ruptur (n = 4)
Rotation bei fix. US [%]	50	50	50
Fremdeinwirken [%]	28	25	25
andere [%]	28	13	25
unbekannt [%]	5	13	0

Zu allen drei abgefragten Zeitpunkten gab genau die Hälfte der Patienten an, dass der Kreuzbandriss durch eine Rotation des Kniegelenks bei fixiertem Unterschenkel resultierte. Jeweils circa ein Viertel der Patienten erinnerte sich ursächlich an ein Fremdeinwirken. Die übrigen Patienten konnten sich nicht an den Unfallhergang erinnern oder gaben andere, seltenere Gründe an.

Außerdem wurde berechnet, bei wie vielen der Patienten sich der Unfallmechanismus von erster und wiederholter Ruptur unterschied. Lediglich 53% der Patienten wiesen bei allen Verletzungszeitpunkten den gleichen Unfallmechanismus auf.

4.2 Analyse der histochemischen Färbung

Die HE-Färbung diente zunächst dazu, einen Eindruck von der Qualität des Präparates zu gewinnen. Muskelbiopsien, die transport-, lagerungs- oder verarbeitungsbedingt ausgeprägte Artefakte aufwiesen, wurden nicht in die Analyse einbezogen. So reduzierte sich die Zahl der in die Studie eingehenden Patienten von 61 auf 40.

Auffällige lokalisierte Atrophie- oder Nekrosezonen, sowie zentralständige Kerne konnten bei keinem der verbleibenden Präparate gefunden werden.

ATPase-Färbungen - Muskelfaserzusammensetzung

Beginnend bei den beiden ATPase-Färbungen bei den pH-Werten 4,6 und 9,4 konnten die in den zwei folgenden Tabellen dargestellten prozentualen Zusammensetzungen ermittelt werden (Tab. 9 und 10).

Tab. 9: Prozentuale Muskelfaserzusammensetzung des M. vastus lateralis in den Färbungen ATPase pH 4,6 und 9,4

Parameter	ATPase pH 4,6 Typ I [%]	ATPase pH 4,6 Typ IIa [%]	ATPase pH 4,6 Typ IIx [%]	ATPase pH 9,4 Typ I [%]	ATPase pH 9,4 Typ II [%]
MW	38	47	15	39	61
SD	10,1	10,1	11,7	8,0	8,0
Min.	14	22	0	26	32
Max.	63	65	43	68	74

Die Werte für Typ I Fasern ähnelten einander und ihr Anteil lag in beiden Methoden knapp unter 40 %. Am häufigsten traten Typ IIa Fasern auf, die nahezu die Hälfte aller Muskelfasern einnahmen. Am seltensten mit durchschnittlich 15 % wurden Typ IIx Fasern angefärbt. Insgesamt überwogen in beiden ATPase-Färbungen die Typ II Fasern.

Tab. 10: Prozentuale Muskelfaserzusammensetzung des M. vastus medialis in den Färbungen ATPase pH 4,6 und 9,4

Parameter	ATPase pH 4,6 Typ I [%]	ATPase pH 4,6 Typ IIa [%]	ATPase pH 4,6 Typ IIx [%]	ATPase pH 9,4 Typ I [%]	ATPase pH 9,4 Typ II [%]
MW	37	48	15	39	61
SD	9,1	9,5	9,8	9,7	9,7
Min.	19	30	0	22	33
Max.	56	69	38	67	78

Analog zu Tabelle 9 stellt Tabelle 10 die relativen Anteile für die Biopsien des M. vastus medialis dar. Das Bild ist hier sehr ähnlich zu den, für den M. vastus lateralis beschriebenen Ergebnissen. Auch hier lag der Anteil für die Typ I Fasern bei annähernd 40 %, der Anteil der Typ II Fasern bei ca. 60 %, wobei auch hier die Typ IIa Fasern prozentual am häufigsten anzutreffen waren.

Um die Übereinstimmung der beiden Färbemethoden zu testen, wurden die Intra-Klassen-Korrelations (ICC)-Werte berechnet. Hierfür wurde ein Summenwert aus den Typ IIa und IIx Fasern in der ATPase pH 4,6 Färbung gebildet und dieser mit dem Wert für Typ II Fasern in der Färbung bei dem pH-Wert von 9,4 verglichen. Analog geschah dies für die Typ I Fasern (Tab. 11).

Tab. 11: Intraklassen-Korrelation für die ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4

Muskel	ATPase pH 4,6 [%] (MW ± SD)	ATPase pH 9,4 [%] (MW ± SD)	ICC (95% CI)
M. vastus lateralis Typ I	37,9 ± 10,1	38,7 ± 8,0	0,77 (0,57 – 0,88)
M. vastus lateralis Typ II	62,1 ± 10,2	61,4 ± 8,0	0,77 (0,57 – 0,88)
M. vastus medialis Typ I	37,0 ± 9,1	40,1 ± 13,2	0,57 (0,23 – 0,76)
M. vastus medialis Typ II	62,6 ± 9,4	60,7 ± 9,7	0,69 (0,42 – 0,84)

Die berechneten ICC-Werte deuten auf eine mäßige (ICC < 0,7) bis gute (ICC ≥ 0,7) Übereinstimmung zwischen den ATPase-Färbungen hin.

ATPase-Färbungen - Muskelfaserdurchmesser

In der ATPase-Färbung bei einem pH-Wert von 4,6 wurden zusätzlich auch die Faserdurchmesser bestimmt (Tab. 12).

Tab. 12: Muskelfaserdurchmesser der Mm. vasti lateralis und medialis

Parameter	M. vastus lateralis			M. vastus medialis		
	Typ I [μm]	Typ IIa [μm]	Typ IIx [μm]	Typ I [μm]	Typ IIa [μm]	Typ IIx [μm]
MW	57	57	58	58	58	58
SD	4,3	3,9	3,6	5,1	5,8	4,6
Min.	50	50	53	49	47	50
Max.	69	69	69	71	82	72

Zwischen den drei verschiedenen Muskelfasertypen gab es hinsichtlich des Durchmessers keinen signifikanten Unterschied ($p=0,338$, $\eta^2=0,030$, Abb. 18).

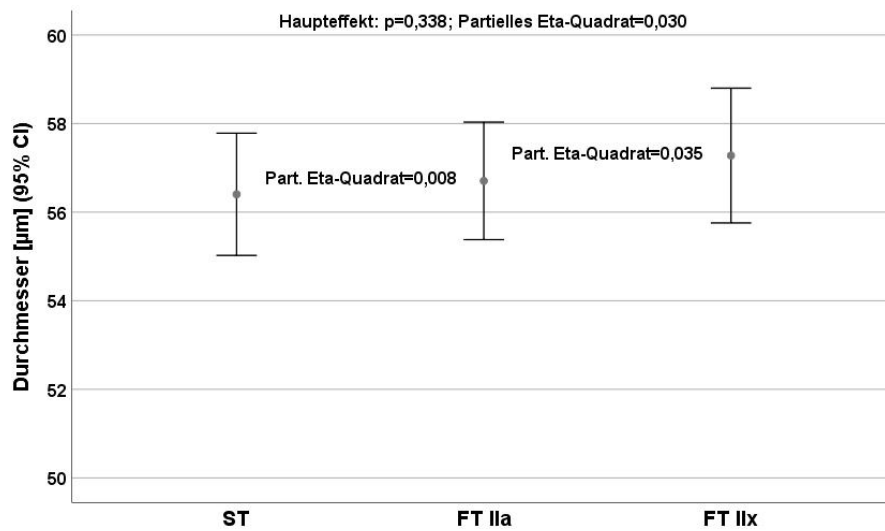


Abb. 18: Muskelfaserdurchmesser der Fasertypen I (ST), IIa und IIx (FT)

NADH-Färbung

M. vastus lateralis war der Anteil der NADH-positiven Fasern durchschnittlich 43%, im M. vastus medialis 46% (Tab. 13).

Tab. 13: Prozentuale Anteile der NADH-positiv gefärbten Fasern in den Mm. vasti lateralis und medialis (pos. = positiv)

Parameter	M. vastus lateralis NADH-pos. [%]	M. vastus medialis NADH-pos. [%]
MW	43	46
SD	7,3	6,8
Min.	27	24
Max.	57	66

Um die Übereinstimmung zwischen den NADH-positiven, vorrangig oxidativ arbeitenden Fasern und den zuvor als Typ I klassifizierten Fasern zu bestimmen, wurde die Intraklassen-Korrelationskoeffizienten berechnet (Tab. 14).

Tab. 14: Intraklassen-Korrelation für die NADH- und ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4

Muskel	NADH-pos. [%] (MW ± SD)	ATPase pH 4,6 Typ I [%] (MW ± SD)	ATPase pH 9,4 Typ I [%] (MW ± SD)	ICC (95% CI)
M. vastus lateralis	43,1 ± 7,3	37,9 ± 10,1		0,55 (0,14 – 0,76)
	43,1 ± 7,3		38,7 ± 8,0	0,47 (0,10 – 0,72)
M. vastus medialis	45,6 ± 6,8	37,1 ± 9,1		0,67 (0,38 – 0,86)
	45,6 ± 6,8		39,3 ± 9,7	0,64 (0,32 – 0,81)

Die ICC-Werte zwischen 0,47 und 0,67 deuten auf eine schwache bis mäßige Übereinstimmung der untersuchten Färbungen hin.

PAS-Färbung

Im M. vastus lateralis war der Anteil der PAS-positiven Fasern durchschnittlich 54%, im M. vastus medialis 53% (Tab. 15).

Tab. 15: Prozentuale Anteile der PAS-positiv gefärbten Fasern in den Mm. vasti lateralis und medialis (pos. = positiv)

Parameter	M. vastus lateralis PAS-pos. [%]	M. vastus medialis PAS-pos. [%]
MW	54	53
SD	5,3	8,9
Min.	42	26
Max.	67	72

Analog zu oben genannter Übereinstimmung wurde die Korrelation der NADH-positiven und damit glykogenreichen Fasern mit den zuvor ermittelten Werten für Typ II Fasern bestimmt (Tab. 16). Für die ATPase-Färbung pH-Wert 4,6 wurde erneut die Summe aus den Daten für Typ IIa und IIx Fasern genutzt.

Tab. 16: Intraklassen-Korrelation für die PAS- und ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4

Muskel	PAS-pos. [%] (MW ± SD)	ATPase pH 4,6 Typ II [%] (MW ± SD)	ATPase pH 9,4 Typ II [%] (MW ± SD)	ICC (95% CI)
M. vastus lateralis	54,2 ± 5,3	63,1 ± 9,4		0 (0 – 0,26)
	54,2 ± 5,3		61,41 ± 11,37	0 (0 – 0,41)
M. vastus medialis	53,4 ± 8,9	63,8 ± 9,0		0 (0 – 0,20)
	53,4 ± 8,9		63,8 ± 6,8	0 (0 – 0,28)

Die ICC-Werte deuten auf keine Übereinstimmung bzw. vollständige Unterschiedlichkeit der Färbungen hin.

COX/SDH-Färbung

Die COX/SDH-Färbung färbt Mitochondrien-reiche (COX/SDH++) und demnach vorwiegend oxidativ arbeitende Fasern kräftiger als Mitochondrien-arme (COX/SDH +-) bzw. Defekte (COX/SDH --) Muskelfasern (Tab. 17).

Tab. 17: Prozentuale Anteile der COX/SDH-positiv gefärbten Fasern in den Mm. vasti lateralis und medialis (++ = kräftig braun gefärbt; +- hellbraun gefärbt; -- = blau gefärbt)

Parameter	M. vastus lateralis			M. vastus medialis		
	COX/SDH ++ [%]	COX/SDH +- [%]	COX/SDH -- [%]	COX/SDH ++ [%]	COX/SDH +- [%]	COX/SDH -- [%]
MW	42	57	0,4	44	55	0,4
SD	5,9	5,9	0,6	7,0	7,1	0,7
Min.	26	43	0	30	36	0
Max.	57	74	2	64	68	3

In der COX/SDH-Werte wurde die Intra-Klassen-Korrelation jeweils für die deutlich oxidativ arbeitenden Fasern und die Typ I Fasern, sowie für die nicht bzw. in geringerem Ausmaß oxidativ aktiven und Typ II Fasern ermittelt (Tab. 18).

Tab. 18: Intraklassen-Korrelation für die COX/SDH- und ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4

Muskel	COX/SDH ++ [%] (MW ± SD)	ATPase pH 4,6 Typ I [%] (MW ± SD)	ATPase pH 9,4 Typ I [%] (MW ± SD)	ICC (95% CI)
M. vastus lateralis	42,8 ± 5,8	38,2 ± 10,1		0,22 (0 – 0,55)
	42,8 ± 5,8		40,1 ± 11,9	0,42 (0 – 0,68)
M. vastus medialis	44,3 ± 6,7	37,0 ± 9,1		0,06 (0 – 0,41)
	44,3 ± 6,7		40,1 ± 13,2	0,41 (0 – 0,67)
	COX/SDH +- [%] (MW ± SD)	ATPase pH 4,6 Typ II [%] (MW ± SD)	ATPase pH 9,4 Typ II [%] (MW ± SD)	ICC (95% CI)
M. vastus lateralis	56,8 ± 5,8	61,8 ± 10,2		0,18 (0 – 0,52)
	56,8 ± 5,8		59,9 ± 11,9	0,39 (0 – 0,66)
M. vastus medialis	55,1 ± 6,7	62,7 ± 9,4		0,08 (0 – 0,42)
	55,1 ± 6,7		61,2 ± 9,7	0,53 (0 – 0,76)

Die ICC-Werte zeigen für den Vergleich der COX/SDH- und ATPase pH 4,6 – Färbungen keine Übereinstimmung an. Für den Vergleich der COX/SDH und ATPase pH 9,4 – Färbungen deuten die Werte auf eine schwache Übereinstimmung hin.

van Gieson-Färbung

Die Bindegewebe-Färbung nach van Gieson diente zur Berechnung des prozentualen Anteils von Bindegewebe in der Muskelbiopsie (Tab. 19).

Tab. 19: Prozentualer Anteil von Bindegewebe in den Muskelbiopsien

Parameter	M. vastus lateralis - Bindegewebe [%]	M. vastus medialis - Bindegewebe [%]
MW	7	7
SD	3,9	3,9
Min.	1	2
Max.	17	18

Die Muskelbiopsien des M. vastus lateralis wiesen an der Schnittoberfläche einen durchschnittlichen Anteil an Bindegewebe von 7% auf. Anhand der Range von 1% bis 17% war eine relativ weite Streuung erkennbar. Bei den Entnahmen des M. vastus medialis wurden nahezu identische Ergebnisse ermittelt (MW=7%, Range: 2-18%).

5 Diskussion

5.1 Ergebnisdiskussion

Patientenspezifische Daten

Die in die Studie einbezogenen Patienten waren durchschnittlich $28,4 \pm 7,3$ Jahre alt (Range: 18-53 Jahre). Diese Altersverteilung war zu erwarten, da die Kreuzbandruptur eine Verletzung des körperlich aktiven und zumeist jüngeren Menschen ist. Aber auch ältere Menschen erleiden lebensstilbedingt immer häufiger Kreuzbandrisse durch ein adäquates Trauma ohne vorherige degenerative Veränderungen in diesem Bereich (Herbort und Raschke, 2011).

Der BMI lag in der ausgewählten Stichprobe durchschnittlich bei $25,4 \pm 3,1$ kg/m². Auch dieser Wert ist für die beschriebene Altersgruppe nicht untypisch. Im Gesundheitsberichterstattung des Bundes lag der Durchschnitts-BMI in der Altersgruppe der 25 bis 30 Jahre alten Männer bei $25,3$ kg/m² (Robert-Koch-Institut und Statistisches Bundesamt, 2017).

Von allen 40 untersuchten Patienten gaben 90% an, dass sie regelmäßig mindestens einmal wöchentlich sportlich aktiv seien. Die Mehrheit von ihnen betätigte sich in der Zeit vor der aktuellen Verletzungsperiode durchschnittlich drei Mal pro Woche in ihrer Freizeit. Die Patienten wurden aufgrund der Art der sportlichen Betätigung in drei Gruppen unterteilt: Fußballer, andere Sportler (unter denen vor allem Handballer waren) und Nicht-Sportler, wobei die Gruppenstärke sehr unterschiedlich war. Außerdem ist zu bedenken, dass alle Patienten in ihren Sportarten einem ähnlichen Anspruch hinsichtlich Ausdauer, Kraft, Koordination, Schnelligkeit und Beweglichkeit gerecht werden mussten. Es waren keinerlei Extreme wie Marathonläufer oder Bodybuilder unter den Patienten, die typischerweise einen eher einseitigen Fokus in der sportlichen Aktivität aufweisen.

Über die Hälfte der Patienten (60%) gab an, dass sie ihren Beruf als eher körperlich belastend einschätzen würden. Keiner von ihnen hatte jedoch jemals einen Kreuzbandriss während der Arbeit erlitten. Infolgedessen ist davon auszugehen, dass die sportlichen Freizeitaktivitäten den entscheidenden Einfluss ausübten. Die Auswertung des Alters bei der Erstruptur zeigte, dass es keinen signifikanten Altersunterschied zwischen beiden Gruppen gab ($p=0,135$). Zum anderen sind keine Studien zum Thema arbeitsbedingte Kreuzbandverletzung, ausgenommen Profisportler, zu finden. Dahingegen weisen mehrere Studien darauf hin, dass beruflich bedingtes Knien und Hocken ein eindeutiger Risikofaktor für Meniskusschäden sind, die jedoch dann eher chronisch als akut diagnostiziert werden (Jensen et al. 2012; Snoeker et al., 2013).

Neben den Bandverletzungen und Meniskusläsionen gehören auch Knochenprellungen bzw. Mikrofrakturen sowie Knorpelschäden mit einer Häufigkeit von 16 bis 46% zu den regelmäßig festzustellenden assoziierten Verletzungen (Anderson et al., 2016).

In der vorliegenden Studie wiesen insgesamt 25% der Patienten eine zusätzliche Knieproblematik auf, wobei diese nicht zwangsläufig mit der aktuellen VKB-Ruptur assoziiert war. Einmal wurde eine Hypothyreose eruiert, zwei Patienten waren wegen arterieller Hypertonie und ebenfalls zwei Patienten wegen einer Epilepsie in dauerhafter ärztlicher Betreuung. Der Großteil der vorliegenden Stichprobe gab jedoch keinerlei Vorerkrankungen an. Dies ist am wahrscheinlichsten durch das geringe Durchschnittsalter von nur 28,4 Jahren erklärbar. Chronische Erkrankungen wie beispielsweise die Koronare Herzkrankheit, Diabetes mellitus Typ 2 und Polyneuropathien treten im Regelfall erst in späteren Lebensabschnitten auf.

Verletzungsspezifische Daten

Zum Zeitpunkt der ersten VKB-Ruptur waren die Patienten durchschnittlich $23,4 \pm 6,5$ Jahre alt, wobei die Altersspanne von 16 bis 44 Jahre reicht. Bei der zweiten Ruptur lag das Durchschnittsalter bei $27,2 \pm 7,4$ Jahren (Range: 17-53 Jahre). Diese Werte ähneln denen anderer Studien zum Thema Kreuzbandruptur, sowohl in Hinblick auf das primäre als auch das sekundäre Ereignis (Alessio-Mazzola et al. 2019; Cristiani et al., 2019).

Eine Frage, die sich aus der Einteilung in die Sportartengruppen ergab, war, ob diese einen Einfluss auf das erstmalige Auftreten einer Bandverletzung haben. In den zuvor beschriebenen Kategorien konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden ($p=0,500$). Nicht-Sportler hatten ihre erste Verletzung mit $24,3 \pm 1,9$ Jahren, Fußballer ebenfalls mit $24,3 \pm 7,3$ Jahren, andere Sportler durchschnittlich im Alter von $21,6 \pm 6,0$ Jahre. Dabei ist methodisch zu kritisieren, dass die Gruppenstärken sehr unterschiedlich waren. Von den 40 Studien-Patienten waren 23 Fußballer, 13 betätigten sich anderweitig sportlich und lediglich 4 gaben an, gar keinen Sport zu betreiben. Die Vergleichbarkeit wurde dadurch eingeschränkt. Außerdem unterschieden sich die zwei Sportlergruppen in ihrem körperlichen Anforderungsbereich nicht deutlich genug voneinander. Studien zeigen jedoch, dass es eindeutig Risikosportarten gibt, in denen eine höhere Inzidenz herrscht (Anderson et al., 2016; Pfeifer et al., 2018). Daraus ist abzuleiten, dass dies wohl die Zusammensetzung unserer Studienpopulation erklärt. Denn auch in diesen Studien weisen Fußballer eine höhere Verletzungsrate als andere Mannschaftssportarten, sowie Individualsportarten, z. B. Skifahren und Turnen, auf.

Eine andere Studie (Gans et al., 2018), die sich mit dem Auftreten von Re-Rupturen unter Sportlern in 25 US-amerikanischen Zentren der National Collegiate Athletic Association (NCAA) beschäftigte, beschrieb, dass Re-Rupturen bei 1 bis 11% der Patienten auftraten, wobei sowohl traumatische Verletzungen, ein Transplantat-Versagen und iatrogene Fehler als Ursachen genannt wurden. Das Risiko für eine erneute Ruptur sinkt jedoch im Laufe der ersten zehn Jahre nach der Primärverletzung (Gans et al., 2018). Bereits in der Einleitung wurde beschrieben, dass das Risiko für eine Re-Ruptur vor allem im ersten Jahr nach der Rekonstruktion am höchsten ist. Zusätzlich dazu steigt in dieser Zeit die Inzidenz für kontralaterale Bandverletzungen im Kniebereich (Macaulay et al. 2012). Im vorliegenden Patientenkollektiv konnte ermittelt werden, dass die Re-Ruptur nach durchschnittlich $3,8 \pm 3,1$ Jahren auftrat. Dabei ereignete sich in 28% dieses Ereignis bereits im ersten Jahr. Betrachtete man die Verletzungshäufigkeiten in den folgenden Jahren, nahmen diese kontinuierlich ab. So verletzten sich im zweiten postoperativen Jahr beispielsweise weitere 18%, im dritten 15%. Aus diesem Blickwinkel war auch in dieser Studie das Re-Ruptur-Risiko im ersten Jahr am höchsten, wobei nach fünf Jahren drei Viertel erneut verletzt waren und nach maximal elf Jahren alle Patienten des untersuchten Kollektivs wiederholt behandlungsbedürftig waren. Die Beobachtung von Gans et al. (2018), dass das Risiko im Laufe von zehn Jahren nach dem Primäraffekt abnimmt, konnte in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden.

Außerdem sollte beurteilt werden, ob Vorerkrankungen einen Einfluss auf die zeitliche Differenz zwischen erster und zweiter Ruptur ausüben. Im Fokus standen dabei die bei 25% der Patienten vorhandenen weiteren Kniegelenkbeschwerden (Meniskusriss, Innen-/ Außenbandläsionen, kontralaterale Kreuzbandrisse). Zur Auswertung wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman genutzt. Mit einem Wert von $r_s=0,337$ lieferte er die Aussage, dass lediglich ein schwacher Zusammenhang zwischen den beiden Variablen bestand. Es war also nicht davon auszugehen, dass das Vorliegen einer Vorerkrankung mit dem zeitlichen Eintreten einer Zweitruptur korreliert war. Die zeitliche Abfolge der dritten auf die zweite Ruptur, wie sie bei lediglich vier Patienten eintrat, erschien relativ zufällig. Ein Patient erlitt eine Transplantat-Ruptur nach zwei, die anderen nach fünf, neun bzw. 13 Jahren.

Pfeifer et al. (2018) zufolge beruhen über 70% der VKB-Rupturen auf einem sogenannten non-contact-Mechanismus, das heißt sie geschehen ohne Fremdeinwirkung. In der vorliegenden Studie fand die Unterteilung in vier Verletzungsmechanismen statt, wobei die Rotation im Kniegelenk bei fixiertem Unterschenkel ohne Fremdeinwirken, was einem non-contact-Mechanismus entspricht, und die Zweikampfverletzung hierbei die bedeutendsten waren. Zu allen drei Verletzungszeiten (Primärruptur, erste und zweite Re-Ruptur) fanden 50% den

Patientenangaben zufolge in einem non-contact-Geschehen statt. Damit war dieses auch hier die am häufigsten eruierte Ursache. Jeweils ca. ein Viertel der Patienten erinnerte sich an einen Zweikampf im Mannschaftssport, also eine Verletzung mit Fremdeinwirken.

Histochemische Färbungen

HE-Färbung

In der HE-Färbung konnten keine Auffälligkeiten wie lokale Atrophien, Nekrosen, drastischer bindegewebiger Umbau oder myopathische Elemente wie zentrale Kerne und vermehrte Entzündungszellen gefunden werden.

ATPase-Färbungen - Muskelfaserzusammensetzung

Bereits in der Einleitung wurde beschrieben, dass sich einige Studien mit der Muskelfaserzusammensetzung (Typ I, IIa, IIx) in der menschlichen Oberschenkelmuskulatur befassten (Johnson et al. 1973; Staron et al. 2000; Tirrell et al. 2012) und Vergleichswerte geliefert haben. Noch exakter wäre es methodisch gewesen, alters- und belastungs-gematchte Probanden ebenso zu untersuchen, wie es mit den VKB-Patienten geschehen ist. Da die Muskelbiopsie jedoch eine invasive Methodik ist, wäre dies für gesunde Kontrollen nicht vertretbar gewesen. Das gleiche gilt für eine Biopsientnahme aus dem kontralateralen, unverletzten Bein der Patienten. Daher wurden die gewonnenen Daten mit Literaturangaben verglichen. Besonders geeignet erschien die Unterteilung von Johnson et al. (1973) in oberflächliche und tiefe Muskelanteile. Die in der vorliegenden Studie verwendeten Muskelproben stammten aufgrund ihres sehnennahen Ursprungs von sehr oberflächlich gelegenen Muskelanteilen. Die Daten von Staron et al. (2000) und Tirrell et al. (2012) sind jedoch auch von Bedeutung für diese Ergebnisdiskussion, da sie die Typ II Fasern weiter unterteilen.

Beginnend beim M. vastus lateralis wurden für den Typ I in der ATPase pH 4,6 Färbung ein durchschnittlicher Anteil von 38%, in der ATPase Färbung pH 9,4 39% ermittelt, für den Typ II analog 62% (davon 47% Typ IIa und 15% Typ IIx) bzw. 61%. Diese Werte sind nahezu identisch mit denen, die Johnson et al. (1973) für den oberflächlichen Anteil des M. vastus lateralis bestimmten (38% Typ I, 62% Typ II). Auch der Anteil der Typ II Fasern der Stichprobe ähnelte den Werten, die Staron et al. (2000) für den M. vastus lateralis (20%) bzw. Tirrell et al. (2012) für den M. quadriceps femoris (15%) beobachtete. Lediglich beim Anteil an IIx-Fasern war eine deutliche Abweichung erkennbar.

Für den M. vastus medialis konnte in der Stichprobe in der ATPase Färbung bei pH 4,6 ein Wert von 37%, in der Färbung bei einem pH-Wert von 9,4 39% bestimmt werden. Für die Typ II Fasern

ergaben sich analog 62% (davon 48% Typ IIa und 14% Typ IIx) bzw. 61%. Im Vergleich mit den Ergebnissen von Johnson et al. (1973) lagen die Werte unter den Literaturangaben (44% Typ I, 56% Typ II), jedoch überwogen in beiden Fällen die schnell arbeitenden Muskelanteile. Wie zuvor beim M. vastus lateralis war auch beim medialen Muskelanteil eine Übereinstimmung mit den IIx-Werten von Tirrell et al. (2012) erkennbar. Es konnte kein eindeutiger Unterschied zwischen den in der Literatur untersuchten, gesunden, sportlich aktiven Menschen und den Patienten aus der vorliegenden Stichprobe beobachtet werden.

Im Hinblick auf die ermittelten Werte ist die Übereinstimmung der ATPase-Färbungen zu diskutieren, da beide Färbetechniken nach dem gleichen Prinzip funktionieren. Die Intra-Klassenkorrelation für die Typ I-Fasern im M. vastus lateralis betrug 0,77, für die Typ II Fasern ebenfalls 0,77. Für die Typ I Fasern im M. vastus medialis wurde eine ICC von 0,57, für die Typ II Fasern im M. vastus medialis eine ICC von 0,69 berechnet. Es kann von einer hohen Übereinstimmung seitens des M. vastus lateralis (ICC = 0,77) ausgegangen werden, währenddessen die Übereinstimmung seitens des M. vastus medialis deutlich niedriger war.

ATPase-Färbungen - Muskelfaserdurchmesser

Die ermittelten Muskelfaserdurchmesser bewegten sich alle im zu erwartenden Spektrum. Beim M. vastus lateralis waren die Fasern des Typs I durchschnittlich 56,7 µm groß, des Typs IIa 57,3 µm und des Typs IIx 58,2 µm; beim M. vastus medialis wurden in gleicher Reihenfolge 57,6 µm, 57,7 µm und 58,1 µm ermittelt. Die Fasern der fast twitch Muskulatur erschienen zunächst etwas größer, es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Typen gefunden werden ($p = 0,338$). Da jedoch in der Literatur beschrieben wurde, dass regelmäßige sportliche Aktivität bei Männern zu einer Hypertrophie der fast twitch Muskulatur führt (Bell und Jacobs, 1990) und bei ihnen im Allgemeinen die Fasern vom Typ IIa den größten Durchmesser haben (Loughlin, 1993; Staron et al., 2000), stellte sich die Frage, ob die wiederholten Kreuzbandrisse hier einen Einfluss in Richtung Hypotrophie der Typ II Fasern haben könnten. Auch Brooke und Engel (1969) ermittelten unterschiedliche Faserdurchmesser für die Muskelfasertypen: 59,5 µm für Typ I und 64,8 µm für Typ II Fasern. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Ergebnisse könnten im vorliegenden Fall auf eine selektive Hypotrophie der Typ II Fasern hindeuten, da hier keine signifikanten Unterschiede gefunden werden konnten. Im Gegensatz zu den zuvor genannten Studien konnten in einer anderen auf Autopsien beruhenden Arbeit ebenfalls keine signifikanten Differenzen in den Faserdurchmessern der oberflächlichen Oberschenkelmuskulatur gefunden werden (Polgar et al., 1973).

Die Vermutung, dass Kreuzbandrisse zu Muskelhypotrophien führen, wurde bereits auf bildgebender Ebene beschrieben. So konnten diese nicht nur in Muskelbiopsien, sondern auch in der Magnetresonanztomographie nachgewiesen werden. Die Hypotrophien waren klinisch vor allem durch eine im Seitenvergleich geminderte Kraft auffällig, welche jedoch weniger durch die strukturellen Veränderungen als vielmehr durch suboptimale willkürliche Aktivierung der Muskulatur erklärt wurde (Lorentzon et al., 1989). Studien, die vor allem auf EMG-Untersuchungen basieren, konnten außerdem zeigen, dass nach einer Kreuzbandruptur eine periphere neuronale Adaptation stattfindet. Diese neuromuskulären Schäden können die posttraumatische muskuläre Dysfunktion teilweise erklären (Norte et al., 2018). Neben den peripheren sind auch zentrale Anpassungen möglich. Die Gesamtheit dieser Veränderungen kann dazu beitragen, dass Re-Rupturen sowie andere Knieverletzungen auftreten und das Risiko für eine frühe Kniegelenksarthrose steigt (Kuenze et al., 2014).

NADH-Färbung

Die NADH-Färbung ergab für den M. vastus lateralis eine durchschnittliche Häufigkeit von 43%, beim M. vastus medialis betrug diese 45%. Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass Typ I Fasern, die slow twitch Muskulatur, welche der Theorie nach vor allem Haltearbeit leistet, aerob bzw. oxidativ arbeitet (Steinacker et al. 2002; Laube und Anders, 2009). Daher wurden unter Zuhilfenahme der Intra-Klassen-Korrelation die Ergebnisse der NADH-Färbung mit denen der ATPase-Färbungen bei einem pH-Wert von 4,6 und 9,4 für die Typ I Fasern verglichen. Die ICC-Werte in der Kategorie M. vastus lateralis betragen 0,55 und 0,47, beim M. vastus medialis lagen sie mit 0,67 und 0,64 etwas höher. Dies konnte lediglich als mäßige Übereinstimmung zwischen den histochemischen Färbungen gewertet werden. Dabei ist zu beachten, dass keine exakte Übereinstimmung zu erwarten war, da auch Typ II Fasern teilweise oxidativ arbeiten. Die NADH-Färbung korreliert sehr gut mit dem maximalen Sauerstoffverbrauch des Organismus bzw. der Muskulatur, wohingegen der Anteil der in den ATPase-Färbungen dargestellten Typ I Fasern dies nicht abbildet. Diese zwei Färbemethoden bilden also nicht die gleichen Aspekte des muskulären Stoffwechsels ab (Gregor et al., 1981). In Tiermodellen konnte außerdem gezeigt werden, dass die Plastizität der Muskelfasern hinsichtlich ihrer oxidativen Kapazität soweit gehen kann, dass die Fasern vom Typ IIx ähnliche Werte liefern wie Typ I und IIa Fasern. Ob das jedoch auf den Menschen übertragen werden kann, ist fraglich (Curry et al., 2012).

PAS-Färbung

Die PAS-Färbung dient zur Darstellung des intramuskulär gespeicherten Glykogens, dem Energielieferanten für die glykolytische Muskelarbeit. Bereits in der Einleitung wurde beschrieben, dass dieser Stoffwechselweg überwiegend bei den Typ II Fasern zu finden ist (Steinacker et al. 2002; Laube und Anders, 2009). Die Färbungen lieferten einen Anteil an PAS-positiven Fasern von 54% im M. vastus lateralis und 53% im M. vastus medialis. Übereinstimmend mit dem Überwiegen der fast twitch Muskulatur in den Proben, stellten die glykolytisch arbeitenden Muskelfasern die Mehrheit dar. Im Vergleich der Intra-Klassen-Korrelation zwischen den PAS-positiven Arealen und den Typ II Fasern aus den ATPase-Färbungen, konnte in der vorliegenden Studie keine Übereinstimmung nachgewiesen werden. Dies beruht möglicherweise darauf, dass nicht immer exakt die gleichen Muskelfaseranschnitte verwendet werden konnten. Dieser Aspekt wird in der Methodendiskussion erörtert.

COX/SDH-Färbung

In der COX/SDH-Doppelfärbung können mitochondrienreiche, vorwiegend oxidativ arbeitende von solchen mit niedrigerer Aktivität der beiden Enzyme (Cyclooxygenase und Succinatdehydrogenase) unterschieden werden. Außerdem können Enzymdefekte demarkiert werden. Anhand dieser metabolischen Eigenschaften bot es sich wie bei den zwei vorangegangenen Färbungen auch hier an, eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus den ATPase-Färbungen zu prüfen.

Der M. vastus lateralis setzte sich durchschnittlich zu 42% aus COX/SDH-reichen, oxidativen Fasern, zu 57% aus COX/SDH-armen und zu 0,4% aus COX/SDH-negativen Fasern zusammen. Für den M. vastus medialis wurden vergleichbare Werte beobachtet: 44% COX/SDH-reiche, 55% COX/SDH-arme und ebenfalls 0,4% -negative Fasern. Allein daraus wurde ersichtlich, dass die nicht-oxidativ arbeitenden Fasern die Mehrheit stellten, was sich mit den Ergebnissen der anderen Färbungen übereinstimmt und den Erwartungen an die Muskulatur junger, sportlicher Männer entspricht.

Die Berechnung der Intra-Klassen-Korrelation für die Übereinstimmung der COX/SDH- mit den ATPase-Färbungen ergab im Mittel lediglich eine schwache bis mäßige Übereinstimmung (ICC: 0,08-0,53). Wie bei den anderen Stoffwechsel-Färbungen (PAS und NADH) bleibt auch hier offen, ob nicht alle Typ I Fasern ausschließlich oxidativ und nicht alle Typ II Fasern ausschließlich und überwiegend glykolytisch arbeiten, wodurch die Differenzen zustande kommen könnten.

van Gieson-Färbung

Die Analyse der Bindegewebsfärbung nach van Gieson ergab einen durchschnittlichen Anteil von 6,5% (M. vastus lateralis) bzw. 6,6% (M. vastus medialis) an Bindegewebe in den Anschnitten der Muskelbiopsien. Auffällig war die hohe Streuung der Werte (1-18%). In der Literatur finden sich Werte von durchschnittlich 15% Bindegewebe im gesamten Muskel. Die Ergebnisse der Proben der hier untersuchten Patienten unterschieden sich davon deutlich (Markworth, 2007).

Als wichtige Fehlerquelle ist die Probeentnahme anzusehen. Im Gegensatz zu häufig in der Neurologie angewandten Nadelbiopsien, ist die hier verwendete intraoperative Sicherung von sehnennahem Muskelgewebe sehr stark abhängig von den individuellen lokalen anatomischen Gegebenheiten. An einigen Biopsien waren größere Bindegewebskonglomerate vorhanden. Diese waren in den meisten Fällen Sehnenanteile, die in der Auswertung vernachlässigt wurden. Trotzdem kann das Epimysium, das den Muskel zusammen mit der Muskelfaszie umhüllt, an einem peripheren Muskelabschnitt anders vorgefunden werden als bei einer Biopsie aus der Tiefe des Muskels. Hierüber könnten die hohen Anteile (18%) erklärt werden. Bei anderen Biopsien, die sehr klein ausfielen, waren häufig lediglich das die Muskelfasern umgebende Endomysium und Teile des Perimysiums vorhanden. Um diese großen Schwankungen zu vermeiden, hätte ggf. zuvor genauer definiert werden sollen, welche Bindegewebsanteile bereits in der Probenentnahme und anschließend in der histochemischen Analyse erfasst werden sollten.

5.2 Limitationen/Methodendiskussion

In der vorliegenden Studie wurden männliche Patienten nach wiederholter Ruptur des vorderen Kreuzbands untersucht. Die Einschränkung auf das männliche Geschlecht wurde getroffen, da die Anzahl der Frauen, die in der Sportklinik Halle im Zeitraum der Datenerhebung (Januar 2017 bis Juni 2018) therapiert wurden, zu gering war, um sie mit den Männern suffizient statistisch vergleichen zu können. Eine analoge Analyse für Frauen ist ein möglicher Ansatzpunkt für Folgestudien. Im genannten Zeitabschnitt wurden ca. 60 Patienten mit einer VKB-Re-Ruptur in der Sportklinik Halle operiert. Dies ist im Vergleich zu den primären Kreuzbandverletzungen eine deutlich geringere Anzahl, weshalb vorerst nicht weiter nach Altersgruppen, Sportgewohnheiten und medizinischer Vorgeschichte differenziert wurde. Lediglich die Qualität der Muskelbiopsie entschied darüber, ob die Patienten in die Studie einbezogen wurden. Hinsichtlich der biometrischen Daten, der Unfallmechanismen und dem Lebensstil wurden die Patienten anhand eines Fragebogens standardisiert interviewt. Dies könnte eine Fehlerquelle darstellen, war jedoch in anderer Weise nicht realisierbar.

Wenn die Möglichkeit besteht, eine größere Stichprobe zu untersuchen, sollte genauer darauf geachtet werden, die Auswahl der Patienten zu verändern. So würde es sich anbieten, Sportler zu untersuchen, die ein weiter voneinander entferntes Tätigkeitsspektrum haben, z.B. die klassischen Bodybuilder, Marathonläufer und Kraftausdauer-Sportler (Schwimmer, Ruderer). Würde man diese Gruppen und als Vergleich Nicht-Sportler gegenüberstellen, wäre es sinnvoll, sie untereinander hinsichtlich der Muskelfaserzusammensetzung zu vergleichen. Aus der Literatur sind Unterschiede aufgrund der sportlichen Belastungen bekannt, auf die die Gruppen untersucht werden könnten (Steinacker et al., 2002).

Da jedoch nicht alle Sportarten eine so hohe Inzidenz von Kreuzbandverletzungen wie der Fußball aufweisen, wäre es alternativ möglich, Freizeitsportler mit professionellen Sportlern zu vergleichen. In der vorliegenden Studie konnte zwischen Sportlern und Nicht-Sportlern keine Unterschiede hinsichtlich des Alters bei der Primärverletzung eruiert werden. Auch die körperliche Belastung im Beruf hatte keinen signifikanten Einfluss. Bei professionellen Fußballern, die mit einer höheren Häufigkeit und Intensität trainieren, wäre dies zu erwarten. Ob auch die dabei eintretende Ermüdung der Muskulatur einen Einfluss auf das Verletzungsrisiko ausübt, ist nicht hinreichend geklärt (Anderson et al., 2016).

Im Hinblick auf die Entnahme der Muskelbiopsien war ein limitierender Faktor, dass es nicht möglich war, eine Biopsieverletzung in einen gesunden Muskel zu setzen. Daher wurden die untersuchten Proben intraoperativ während der Entnahme der Quadriceps-Sehne zu VKB-

Rekonstruktion gewonnen. Sie waren dementsprechend sehr klein und nicht einheitlich ausgeschnitten oder ausgestanzt. Des Weiteren ist zu bedenken, dass die Entnahme im OP der Sportklinik Halle stattfand, die weitere Verarbeitung erfolgte jedoch im Muskellabor des Universitätsklinikums Halle. Durch ungleichmäßige Kühlung auf dem Transportweg und anschließendes Schockfrieren bei Temperaturen zwischen -70 und -80 °C kam es bei einigen Proben zu Gefrierartefakten. Die Entnahmestelle lag bei allen Patienten sehr oberflächlich und sehnennah. Aus der Literatur ist bekannt, dass sich oberflächliche und tiefe Muskulatur ausgeprägt voneinander unterscheiden können (Johnson et al., 1973). Es ist also fraglich, inwieweit die gewonnenen Daten auf den gesamten Muskel übertragen bzw. mit andersartig gewonnenen Muskelbiopsien verglichen werden können.

Aufgrund der Gefrierartefakte und der geringen Größe der Muskelbiopsien war es nicht immer möglich, direkt hintereinander gelegene Anschnitte desselben Muskels in den verschiedenen Färbungen zu untersuchen. Dadurch lassen sich die Abweichungen, vor allem zwischen den zwei ATPase-Färbungen, die sehr ähnliche Ergebnisse liefern sollten, erklären. Im Idealfall sollte immer der gleiche Anschnitt für die unterschiedlichen Färbungen genutzt werden. Außerdem ist auf das genaue Einhalten der Färbezeiten und Spülvorgänge zu achten.

Die in der Ergebnisdiskussion dargestellten Erkenntnisse zeigten, dass sich die untersuchten Patienten in der Zusammensetzung ihrer Muskulatur nur geringfügig von den Vergleichswerten aus der Literatur unterscheiden. Von Bedeutung mag hier sein, dass alle Patienten zeitnah nach jeder stattgehabten Kreuzbandverletzung operiert wurden und sich der Muskel in seiner Zusammensetzung erst durch jahrelange spezifisch veränderte Belastung plastisch anpasst (Steinacker et al., 2002). Da an der ursprünglichen Stelle des Kreuzbands ein Transplantat dessen Aufgaben übernimmt, ist das Kniegelenk bandstabiler als ohne rekonstruktive Operation. Es wird trotzdem darüber diskutiert, dass eine nicht behandelbare funktionelle Parese im Bereich der Oberschenkelmuskulatur entsteht (Kuenze et al., 2014; Norte et al., 2018). Interessant wäre daher auch die Untersuchung von Patienten, bei denen eine konservative Therapie angestrebt wurde. Alternativ kommen Patienten in Frage, die lange konservativ behandelt worden sind, später (möglichst einige Jahre, um der Muskelanpassung Zeit zu geben) aber ein Transplantat erhalten mussten, weil sich ihre medizinische Situation veränderte.

Bezüglich weiterer grundlegender technischer Probleme sollte angeführt werden, dass die technische Datensicherung nicht optimal war. Die Übertragung der in AxioVision gewonnenen Werte erfolgte zunächst händisch auf eine Urliste und anschließend in Excel, wo die Daten für das Statistikprogramm SPSS aufbereitet wurden. Für eine weitere Studie in diesem Bereich

sollten diese manuellen Übertragungen vermieden werden, um den hierbei entstehenden Fehleranteil gering zu halten.

Die Muskelbiopsie ist eine invasive Untersuchung, die demnach Komplikationen wie Blutungen, Infektionen und Wundheilungsstörungen in sich trägt. Die Ethikkommission stimmte der Biopsieentnahme im Rahmen der vorliegenden Studie zu, da keine zusätzliche Verletzung gesetzt wurde. Die Operationen hätten ohnehin stattgefunden und sind nicht zum Zwecke der Biopsiegewinnung durchgeführt worden. Für zukünftige Untersuchungen sollten jedoch nicht-invasive Methoden im Vordergrund stehen, die reproduzierbar sind und zu unterschiedlichen Zeitpunkten im Krankheitsverlauf durchgeführt werden können, um muskuläre Veränderungen zu erkennen. Die im Rahmen dieser Studie durchgeführte Biopsie diente lediglich als punktuelle Untersuchung. In ihrer Methodik ist sie jedoch sehr genau und der Goldstandard zur Analyse der Muskelfaserzusammensetzung. Als Alternative von besonderer Bedeutung erscheint hier die Oberflächen-Elektromyografie. Durch neue Methoden können zum Beispiel anhand der maximalen Kraftentwicklung und Reaktion auf elektrische Stimulation Rückschlüsse auf das Vorhandensein und die Verteilung von slow und fast twitch Fasern gezogen werden (Haun et al. 2017; Vromans und Faghri, 2017; Vromans und Faghri, 2018).

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasste sich mit der Struktur, der Zusammensetzung und den Eigenschaften der Oberschenkelmuskulatur, speziell der Mm. vasti medialis und lateralis, von Patienten mit wiederholter Kreuzbandruptur.

Untersucht wurde ein Patientenkollektiv mit einem Durchschnittsalter von $28,4 \pm 7,3$ Jahren. Ein Viertel hatte bereits weitere Kniegelenkbeschwerden, 12,5% waren anderweitig vorerkrankt. Von den untersuchten 40 Patienten betätigten sich 90% regelmäßig sportlich und betrieben eigenen Angaben zufolge durchschnittlich drei Mal pro Woche ihren jeweiligen Sport. Mehr als die Hälfte (60%) stufte ihren Beruf als körperlich belastend ein. Jedoch hatte keiner der Patienten jemals eine Kreuzbandverletzung im Sinne eines Arbeitsunfalls erlitten. Über 75% von ihnen gaben an, dass ein Rotationstrauma bzw. ein Fremdeinwirken (z.B. in einer Zweikampfsituation) im Sport ursächlich für die Verletzungen waren. Weder die Art der sportlichen Betätigung, noch die Intensität der körperlichen Belastung hatte einen signifikanten Einfluss auf das Alter bei der ersten VKB-Ruptur. Im Mittel ereignete sich die zweite Ruptur $3,8 \pm 3,1$ Jahre nach der primären VKB-Verletzung.

Die Patienten erhielten nach mindestens zweifacher unilateraler Kreuzbandverletzung in der Sportklinik Halle eine autologe Quadricepssehnen-Transplantation. Während dieser Operation wurden Biopsien von den oben genannten Muskeln gewonnen, die anschließend für verschiedene histochemische Färbungen vorbereitet wurden. Im Muskellabor des Universitätsklinikums Halle wurden die Proben mit der HE-, mATPase-, PAS-, NADH-, COX/SDH- und van Gieson-Färbetechnik behandelt und anschließend mikroskopisch analysiert.

Die Analyse der beschriebenen Färbemethoden konnte bis auf die Muskelfaserdurchmesser der Fasertypen I, IIa und IIx keine gravierenden Unterschiede im Vergleich zu aus der Literatur bekannten Daten junger, sportlich aktiver Männer liefern. Im Durchschnitt traten überwiegend Typ II bzw. fast twitch, sowie glykolytisch arbeitende Fasern auf. Dabei korrelierten die Ergebnisse der zwei mATPase-Färbungen gut miteinander, wohingegen es Abweichungen in der Übereinstimmung mit den Stoffwechselaktivitäten gab. Der Muskelfasertyp entsprach in den Biopsien demnach nicht exakt dem zu erwartenden Metabolismus, wobei bereits bekannt ist, dass Muskeln ihre Energie nicht streng nach lediglich einem Muster gewinnen. Die Tatsache, dass die Typ II Fasern keinen signifikant größeren Durchmesser als Typ I Fasern aufwiesen, kann auf die vielfach diskutierte Hypothese der neurogenen Schädigung nach einer Kreuzbandruptur hinweisen und für eine Hypotrophie eben dieser sprechen. Die bindegewebige Durchsetzung

der Muskulatur der Patienten unterschied sich von den in der Literatur genannten Werten gesunder Menschen.

Die in der Studie beschriebene Methodik ist an einigen Stellen verbesserungsbedürftig und sollte bei ähnlich aufgebauten Fragestellungen angepasst werden. Da die Biopsie-Entnahme im Operationsgebiet nur für Patienten möglich ist, die diese Behandlung erhalten, ist ein Vergleich mit gesunden, alters- und verhaltens-gematchten Patienten leider nicht möglich, obwohl dies anzustreben wäre.

Um eine Kontrolle der Muskelfunktion und -aktivität im Krankheitsverlauf zu ermöglichen, bietet es sich an, nicht-invasive Untersuchungen, z.B. das Oberflächen-EMG, in Betracht zu ziehen. Die Muskelbiopsie bleibt wohl weiterhin der Goldstandard in der Analyse der Muskelfaserzusammensetzung, jedoch ist es fraglich, inwieweit insbesondere die Patienten im Hinblick auf ihre Alltagsfunktionalität davon profitieren.

7 Literaturverzeichnis

Alessio-Mazzola M, Formica M, Russo A, Sanguineti F, Capello AG, Lovisolo S, Felli L (2019) Outcome after combined lateral extra-articular tenodesis and anterior cruciate ligament revision in professional soccer layers. *J Knee Surg* 32:906-910.

Andersen J, Klitgaard H, Saltin B (1994) Myosin heavy chain isoforms in single fibres from m. vastus lateralis of sprinters: influence of training. *Acta Physiol Scand* 151:135–142.

Anderson M J, Browning WM, Urban CE, Kluczynski MA, Bisson LJ (2016) A systematic summary of systematic reviews on the topic of the anterior cruciate ligament. *Orthop J Sports Med* 4: 2325967116634074

Atarod M, Frank CB, Shrive N G (2015) Increased meniscal loading after anterior cruciate ligament transection in vivo: a longitudinal study in sheep. *Knee* 22:11–17.

Aumüller G (Hg.): *Duale Reihe Anatomie*. 3. Aufl., Thieme, Stuttgart, 2014, S. 373-375.

Bagley JR, McLeland KA, Arevalo JA, Brown LE, Coburn JW, Galpin AJ (2016) Skeletal muscle fatigability and myosin heavy chain fiber type in resistance trained men. *J Strength Cond Res* 31: 602-607.

Beck TW, Housh T, Fry AC, Cramer JT, Weir J, Schilling B (2009) MMG-EMG cross spectrum and muscle fiber type. *Int J Sports Med* 30:538–544.

Beck TW, Housh T, Fry AC, Cramer JT, Weir J, Schilling B (2007) The influence of muscle fiber type composition on the patterns of responses for electromyographic and mechanomyographic amplitude and mean power frequency during a fatiguing submaximal isometric muscle action. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 47:221–232.

Bell CD, Conen PE (1967) Change in fiber size in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology* 17:902–913.

Bell DG, Jacobs I (1990) Muscle fibre area, fibre type & capillarization in male and female body builders. *Can J Sport Sci* 12: 115–119.

Bell RD, MacDougall JD, Billeter R, Howald H (1980) Muscle fiber types and morphometric analysis of skeletal muscle in six-year-old children. *Med Sci Sports Exerc* 12:28–31.

Brooke MH, Engel WK (1969) The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types. 1. Adult male and female. *Neurology* 19:221–233.

Bruch HP, Trentz O (Hg.): *Chirurgie*. 335 Tabellen und 343 Praxisfragen. 6. Aufl., Elsevier Urban & Fischer, München, 2008, S. 770-775.

Cohen J (1988) *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. 2nd ed. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Associates

Corry IS, Webb JM, Clingeleffer AJ, Pinczewski LA (1999) Arthroscopic reconstruction of the anterior cruciate ligament. A comparison of patellar tendon autograft and four-strand hamstring tendon autograft. *Am J Sports Med* 27:444–454.

- Cristiani R, Engström B, Edman G, Forssblad M, Stålmán A (2019) Revision anterior cruciate ligament reconstruction restores knee laxity but shows inferior functional knee outcome compared with primary reconstruction. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 27:137-145.
- Curry JW, Hohl R, Noakes TD, Kohn TA (2012) High oxidative capacity and type IIx fibre content in springbok and fallow deer skeletal muscle suggest fast sprinters with a resistance to fatigue. *J Exp Biol* 215:3997-4005.
- Filbay SR, Crossley KM, Ackerman IN (2016) Activity preferences, lifestyle modifications and re-injury fears influence longer-term quality of life in people with knee symptoms following anterior cruciate ligament reconstruction: a qualitative study. *J Physiother* 62:103-110.
- Gans I, Retzky JS, Jones LC, Tanaka MJ (2018) Epidemiology of recurrent anterior cruciate ligament injuries in national collegiate athletic association sports. The injury surveillance program, 2004-2014. *Orthop J Sports Med* 6:2325967118777823. eCollection 2018 Jun.
- Geib TM, Shelton WR, Phelps RA, Clark L (2009) Anterior cruciate ligament reconstruction using quadriceps tendon autograft: intermediate-term outcome. *Arthroscopy* 25:1408-1414.
- Gollnick PD, Armstrong RB, Saubert CW, Piehl K, Saltin B (1972) Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J Appl Physiol* 33:312-319.
- Grapar Zargi T, Drobnic M, Jkoder J, Strazar K, Kacin A (2016) The effects of preconditioning with ischemic exercise on quadriceps femoris muscle atrophy following anterior cruciate ligament reconstruction: a quasi-randomized controlled trial. *Eur J Phys Rehabil Med* 52:310-320.
- Green HJ, Thomson JA, Daub WD, Houston ME, Ranney DA (1979) Fiber composition, fiber size and enzyme activities in vastus lateralis of elite athletes involved in high intensity exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 41:109-117.
- Gregor RJ, Edgerton VR, Rozenek R, Castleman KR (1981) Skeletal muscle properties and performance in elite female track athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 47:355-364.
- Hakkinen K, Newton RU, Gordon SE, McCormick M, Volek JS, Nindl BC (1998) Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 53:415-423.
- Haun CT, Mumford PW, Roberson PA, Romero MA, Mobley CB, Kephart WC (2017) Molecular, neuromuscular, and recovery responses to light versus heavy resistance exercise in young men. *Physiol Rep* 5:e13457.
- Herbort M, Raschke MJ (2011) Bandverletzungen der unteren Extremität beim älteren Menschen. *Der Unfallchirurg* 114:671-680.
- Hopkins WG (2000) Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Med* 30:1-15
- Jensen L, Rytter S, Marott JL, Bonde JP (2012) Relationship between years in the trade and the development of radiographic knee osteoarthritis and MRI-detected meniscal tears and bursitis in floor layers. A cross-sectional study of a historical cohort. *BMJ open* 2:e001109.
- Johnson MA, Polgar J, Weightman D, Appleton D (1973) Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study. *J Neurol Sci* 18:111-129.

- Kaynak M, Nijman F, van Meurs J, Reijman M, Meuffels DE (2017) Genetic variants and anterior cruciate ligament rupture: a systematic review. *Sports Med* 47:1637–1650.
- Kazis LE, Anderson JJ, Meenan RF (1989) Effect sizes for interpreting changes in health status. *Med Care* 27:178-189.
- Kim KM, Croy T, Hertel J, Saliba S (2010) Effects of neuromuscular electrical stimulation after anterior cruciate ligament reconstruction on quadriceps strength, function, and patient-oriented outcomes: a systematic review. *J Orthop Sports Phys Ther* 40:383–391.
- Kuenze CM, Foot N, Saliba SA, Hart JM (2015a) Drop-landing performance and knee-Extension strength after anterior cruciate ligament reconstruction. *J Athl Train* 50:596–602.
- Kuenze CM, Hertel J, Hart JM (2014) Quadriceps muscle function after exercise in men and women with a history of anterior cruciate ligament reconstruction. *J Athl Train* 49:740–746.
- Kuenze CM, Hertel J, Weltman A, Diduch D, Saliba SA, Hart JM (2015b) Persistent neuromuscular and corticomotor quadriceps asymmetry after anterior cruciate ligament reconstruction. *J Athl Train* 50:303–312.
- Kühnel W: Taschenatlas Histologie. 12. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2008 S. 162, 167.
- Kupa EJ, Roy SH, Kandarian SC, Luca CJ de (1995) Effects of muscle fiber type and size on EMG median frequency and conduction velocity. *J Appl Physiol* 79:23–32.
- Laube W (Hg.): Sensomotorisches System. Physiologisches Detailwissen für Physiotherapeuten. 1. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2009.
- Lobenhoffer P et al. (2014): S1-Leitlinie 012/005: Vordere Kreuzbandruptur. Hg. v. Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V. (DGU). Göttingen. Online verfügbar unter http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/012-005l_S1_Vordere_Kreuzbandruptur_2014-06_01.pdf, zuletzt aktualisiert am 06.06.2014, zuletzt geprüft am 06.09.2017.
- Lorentzon R, Elmqvist LG, Sjöström M, Fagerlund M, Fuglmeyer AR (1989) Thigh musculature in relation to chronic anterior cruciate ligament tear. Muscle size, morphology, and mechanical output before reconstruction. *Am J Sports Med* 17:423–429.
- Loughlin M: Muscle Biopsy. A laboratory investigation. Butterworth Heinemann, Oxford, 1993, pp. 20-22, 65-86, 112-117, 194-198, 204-209.
- Lüllmann-Rauch R, Asan E: Taschenbuch Histologie. 5. Auflage, Thieme, Stuttgart, New York, 2008, S. 225-232, 236-239.
- Macaulay AA, Perfetti DC, Levine WN (2012) Anterior cruciate ligament graft choices. *Sports Health* 4:63–68.
- Markworth P: Sportmedizin. Physiologische Grundlagen. 21. Aufl. Rowohlt Taschenbuch Verlag, Reinbek, 2007, S. 317.
- Martins KJB, Gordon T, Pette D, Dixon WT, Foxcroft GR, Maclean IM, Putman CT (2006) Effect of satellite cell ablation on low-frequency-stimulated fast-to-slow fibre-type transitions in rat skeletal muscle. *J Physiol* 572:281–294.
- Melichna J, Zauner CW, Havlíčková L, Novák J, Hill DW, Colman RJ (1990) Morphologic differences in skeletal muscle with age in normally active human males and their well-trained counterparts. *Hum Biol* 62:205–220.

- Metaxas TI, Mandroukas A, Vamvakoudis E, Kotoglou K, Ekblom B, Mandroukas K (2014) Muscle fiber characteristics, satellite cells and soccer performance in young athletes. *J Sports Sci Med* 13:493–501.
- Miller M, VanBuren P, LeWinter MM, Braddock JM, Ades PA, Maughan DW (2010) Chronic heart failure decreases cross-bridge kinetics in single skeletal muscle fibres from humans. *J Physiol* 588:4039–4053.
- Müller M (Hg.): Orthopädie und Unfallchirurgie. Für Studium und Praxis. 2. Aufl., Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach, 2016/17, S. 144, 215-216.
- Müller M (Hg.): Chirurgie für Studium und Praxis. Unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges und der mündlichen Examina in den Ärztlichen Prüfungen. 13. Aufl. Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach, 2016/17, S. 401-402.
- Niethard FU, Pfeil J, Biberthaler P (Hg.): Duale Reihe Orthopädie und Unfallchirurgie. 7. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2014, S. 583-589.
- Norte GE, Hertel J, Saliba SA, Diduch DR, Hart JM (2018) Quadriceps neuromuscular function in patients with anterior cruciate ligament reconstruction with or without knee osteoarthritis. A cross-sectional study. *J Athl Train* 53:475–485.
- Pamukoff DN, Pietrosimone BG, Ryan ED, Lee DR, Blackburn JT (2017) Quadriceps function and hamstrings co-activation after anterior cruciate ligament reconstruction. *J Athl Train* 52:422–428.
- Pette D, Peuker H, Staron RS (1999) The impact of biochemical methods for single muscle fibre analysis. *Acta Physiol Scand* 166:261–277.
- Pette D, Staron RS (1990) Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 116:1–76.
- Pette D, Staron RS (1997) Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol* 170:143–223.
- Pette D, Vrbova G (1992) Adaptation of mammalian skeletal muscle fibers to chronic electrical stimulation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 120:115–202.
- Pette D (2002) The adaptive potential of skeletal muscle fibers. *Can J Appl Physiol* 27:423–448.
- Pfeifer CE, Beattie PF, Sacko RS, Hand A (2018) Risk factors associated with non-contact anterior cruciate ligament injury. A systematic review. *Int J Sports Phys Ther* 13:575–587.
- Pinczewski LA, Lyman J, Salmon LJ, Russell VJ, Roe J, Linklater J (2007): A 10-year comparison of anterior cruciate ligament reconstructions with hamstring tendon and patellar tendon autograft: a controlled, prospective trial. *Am J Sports Med* 35:564–574.
- Polgar J, Johnson MA, Weightman D, Appleton D (1973) Data on fibre size in thirty-six human muscles. An autopsy study. *J Neurol Sci* 19:307–318.
- Riede UN (Hg.): Allgemeine und spezielle Pathologie. 5. Aufl. Thieme, Stuttgart, 2004.
- Robert-Koch-Institut; Statistisches Bundesamt (Hg.) (2017): Body-Mass-Index (im Durchschnitt und Verteilung der Bevölkerung auf Body-Mass-Index-Gruppen). Online verfügbar unter http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/WS0100/_XWD_FORMPROC?TARGET=&PAGE=_XWD_2&OPINDEX

=2&HANDLER=_XWD_CUBE.SETPGS&DATACUBE=_XWD_30&D.000=3739&D.003=42, zuletzt geprüft am 22.10.2018.

Sciote JJ, Raoul G, Ferri J, Close J, Horton MJ, Rowleron A (2013) Masseter function and skeletal malocclusion. *Rev Stomatol Chir Maxillofac Chir Orale* 114:79–85.

Scott W, Stevens J, Binder-Macleod SA (2001) Human skeletal muscle fiber type classifications. *Phys Ther* 81:1810–1816.

Shrout PE, Fleiss JL (1979) Intraclass correlations. Uses in assessing rater reliability. *Psychol Bull* 86:420–428.

Snoeker BAM, Bakker EWP, Kegel CAT, Lucas C (2013) Risk factors for meniscal tears. A systematic review including meta-analysis. *J Orthop Sports Phys Ther* 43:352–367.

Staron RS (1997) Human skeletal muscle fiber types: delineation, development, and distribution. *Can J Appl Physiol.* 22: 307–327.

Staron RS, Hagerman FC, Hikida RS, Murray TF, Hostler DP, Crill MT (2000) Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. *J Histochem Cytochem* 48:623–629.

Staubli HU, Jakob RP (1997) Central quadriceps tendon for anterior cruciate ligament reconstruction. Part I: morphometric and biochemical evaluation. *Am J Sports Med* 25:725–727.

Steinacker JM, Wang L, Lormes W, Reißnecker S, Liu Y (2002) Strukturanpassungen des Skelettmuskels auf Training. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 53:354–360.

Stockmar C, Lill H, Trapp A, Josten C, Punkt K (2006) Fibre type related changes in the metabolic profile and fibre diameter of human vastus medialis muscle after anterior cruciate ligament rupture. *Acta Histochem* 108:335–342.

Tho KS, Nemeth G, Lamontagne M, Eriksson E (1997) Electromyographic analysis of muscle fatigue in anterior cruciate ligament deficient knees. *Clin Orthop Relat Res*:142–151.

Tirrell TF, Cook MS, Carr J, Austin L, Evie W, Samuel R, Lieber RL (2012) Human skeletal muscle biochemical diversity. *J Exp Biol* 215:2551–2559.

Vromans M, Faghri P (2017) Electrical stimulation frequency and skeletal muscle characteristics. Effects on force and fatigue. *Eur J Transl Myol* 27:6816.

Vromans M, Faghri P (2018) Functional electrical stimulation-induced muscular fatigue. Effect of fiber composition and stimulation frequency on rate of fatigue development. *J Electromyogr Kinesiol* 38:67–72.

Wakeling JM, Syme DA (2002) Wave properties of action potentials from fast and slow motor units of rats. *Muscle Nerve* 26:659–668.

Wiedemann, L. 2013. Elektromyografische Untersuchung von Ermüdungsprozessen beim Topspin Schlag im Tischtennis mittels Wavelet-Transformation. [Dissertation] Wien: Zentrum für Sportwissenschaft und Universitätssport der Universität Wien.

8 Thesen

1. Die Ruptur des vorderen Kreuzbandes trat in den meisten Fällen als Sportverletzung junger Patienten auf.
2. Rotationstraumata und Unfälle mit Fremdeinwirken waren die häufigsten Ursachen für VKB-Rupturen bei Erst- und Wiederholungsereignis.
3. In den untersuchten Muskelbiopsien konnten durchschnittlich mehr Typ II (fast twitch) als Typ I (slow twitch) Fasern nachgewiesen werden.
4. In den untersuchten Muskelbiopsien konnten durchschnittlich mehr glykolytisch arbeitende als oxidativ arbeitende Fasern nachgewiesen werden.
5. Hinsichtlich der Muskelfaserzusammensetzung, des -durchmessers und des -metabolismus konnten keine eindeutigen Unterschiede im Vergleich zu jungen Männern ohne VKB-Ruptur (Vergleich mit der Literatur) gefunden werden.

9 Anhang

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme der quergestreiften Skelettmuskulatur.....	S. 1
Abb. 2: Schema der Kreuzbandersatzplastik.....	S. 13
Abb. 3: OP-Situs direkt vor Entnahme der Quadriceps-Sehne	S. 20
Abb. 4: HE-Färbung <i>einer Probe</i> des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten	S. 22
Abb. 5: mATPase-Färbung pH 4,6 <i>einer Probe</i> des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten	S. 24
Abb. 6: mATPase-Färbung pH 9,4 <i>einer Probe</i> des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten	S. 24
Abb. 7.: NADH-Färbung <i>einer Probe</i> des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten...	S. 25
Abb. 8: PAS-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten.....	S. 26
Abb. 9: COX/SDH-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten	S. 27
Abb. 10: van Gieson-Färbung einer Probe des M. vastus medialis eines 26-jährigen Patienten	S. 28
Abb. 11: Erkennung der ausgewählten Farben in AxioVision	S. 29
Abb. 12: Markierung erkannter Muskelfasern in AxioVision.....	S. 30
Abb. 13: Ausmessung Muskelfaserdurchmesser in AxioVision	S. 31
Abb. 14: Histogrammische Altersverteilung der Stichprobe.....	S. 33
Abb. 15: Histogrammische Darstellung der Sporthäufigkeit pro Woche.....	S. 34
Abb. 16: Alter bei Erstraktur in Abhängigkeit von der sportlichen Aktivität	S. 37
Abb. 17: Alter bei Erstraktur in den verschiedenen Berufsgruppen	S. 38
Abb. 18: Muskelfaserdurchmesser der Fasertypen I (ST), IIa und IIx (FT)	S. 42

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Eigenschaften der Muskelfasertypen des Menschen	S. 3
Tab. 2: Prozentuale Muskelfaserzusammensetzung ausgewählter Oberschenkelmuskeln	S. 6
Tab. 3: Muskelfaserdurchmesser ausgewählter Oberschenkelmuskeln	S. 6
Tab. 4: Vorerkrankungen der Patienten	S. 35
Tab. 5: Altersstruktur bei erster, zweiter und dritter VKB-Ruptur.....	S. 36
Tab. 6: Alter bei Erstruptur in den verschiedenen Sportartengruppen	S. 36
Tab. 7: Zeitdifferenzen zwischen den Rupturen und absolute Häufigkeiten.....	S. 38
Tab. 8: Relative Häufigkeiten der Unfallmechanismen bei erster, zweiter und dritter Ruptur	S. 39
Tab. 9: Prozentuale Muskelfaserzusammensetzung des M. vastus lateralis in den Färbungen ATPase pH 4,6 und 9,4	S. 40
Tab. 10: Prozentuale Muskelfaserzusammensetzung des M. vastus medialis in den Färbungen ATPase pH 4,6 und 9,4	S. 41
Tab. 11: Intraklassen-Korrelation für die ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4	S. 41
Tab. 12: Muskelfaserdurchmesser der Mm. vasti lateralis und medialis	S. 42
Tab. 13: Prozentuale Anteile der NADH-positiv gefärbten Fasern in den Mm. vasti lateralis und medialis.....	S. 43
Tab. 14: Intraklassen-Korrelation für die NADH- und ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4 ...	S. 43
Tab. 15: Prozentuale Anteile der PAS-positiv gefärbten Fasern in den Mm. vasti lateralis und medialis.....	S. 44
Tab. 16: Intraklassen-Korrelation für die PAS- und ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4	S. 44
Tab. 17: Prozentuale Anteile der COX/SDH-positiv gefärbten Fasern in den Mm. vasti lateralis und medialis.....	S. 45
Tab. 18: Intraklassen-Korrelation für die COX/SDH- und ATPase-Färbungen pH 4,6 und 9,4	S. 46
Tab. 19: Prozentualer Anteil von Bindegewebe in den Muskebiopsien	S. 47

Anlage 1: Verwendete Chemikalien und Materialien

Chemikalien:

- ATP, Roche Deutschland Holding GmbH (Grenzach-Wyhlen, Deutschland)
- Calciumchlorid, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Cobalt-II-chlorid, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Ethanol (96 %, abs. Ethanol), Sigma-Aldrich Merck KGaA (München, Deutschland)
- Hämlaunlösung, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Histokitt, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Kaisers Glyceringelantine, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- NADH, Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Deutschland)
- Natrium-Azid, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Natrium-Barbitalpuffer, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Natriumdisulfit, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Natrium-Succinat, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- NBT, Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Deutschland)
- Perjodsäure, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- PMS, Serva Electrophoresis GmbH (Heidelberg, Deutschland)
- Resorcin-Fuchsin, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Roticlear, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Schiffs Reagenz, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- van Gieson-Lösung, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Weigerts Hämatoxylinlösung A, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Weigerts Hämatoxylinlösung B, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- 1 %ige Amoniumsulfidlösung, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- 1 % wässriges Eosin, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)

Verbrauchsmaterialien

- Deckgläschen, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Korkplatten, Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)
- Objektträger (Polysin), Gerhard Menzel G. V. & Co. KG (Braunschweig, Deutschland)
- Objektträger (Superfrost), Gerhard Menzel G. V. & Co. KG (Braunschweig, Deutschland)
- Transportgefäße, neoLab Migge GmbH (Heidelberg, Deutschland)

Geräte

- Färbeküvetten, Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland)
- Feuchtkammer, Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, Massachusetts, USA)
- Mikrotom (MHR), Thermo Fisher Scientific Inc. (Waltham, Massachusetts, USA)
- Wärmeschrank, Salvis AG (Oftringen, Schweiz)

Anlage 2: Eidesstattliche Erklärung / Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Andere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich keine entgeltliche Hilfe von Beratungs- und Vermittlungsdiensten in Anspruch genommen.

Die Arbeit wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und ist auch noch nicht veröffentlicht.

Ort und Datum

Unterschrift

Anlage 3: Erklärung über frühere Promotionsversuche

Ich erkläre hiermit, dass ich bisher keine andere Promotion verfasst und eingereicht habe.

Ort und Datum

Unterschrift

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Delank für die Ermöglichung einer Dissertation am Department für Orthopädie, Unfall- und Wiederherstellungschirurgie des Universitätsklinikums Halle-Kröllwitz sowie Herrn Prof. Dr. Schwesig und seinen Mitarbeitern im Forschungslabor, insbesondere Frau Rosemeier und Herrn Dr. Schulze, für die langjährige intensive Betreuung.

Ein besonderer Dank gilt auch Herrn Dr. Bartels (Sportklinik Halle) für die Entwicklung der klinischen Grundidee dieser Dissertation, die Bereitstellung eines Patientenkollektivs, seiner Räumlichkeiten und der Ermöglichung einer Famulatur.

Außerdem danke ich allen, die die vorliegende Arbeit Korrektur gelesen und mir wichtige Gedankenanstöße zur Verbesserung gegeben haben.

Schlussendlich danke ich meiner Familie, die mich zu jedem Zeitpunkt unterstützt und motiviert hat.