

**DIE ERFASSUNG DER ULTRASTRUKTUR DES
MUSCULUS INTEROSSEUS MEDIUS DES PFERDES
MITTELS ELEKTRONENMIKROSKOPIE**

LISA BUTTERWECK

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique 
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2016

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2016

© 2016 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und –Embryologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold

und

Tierärztliche Klinik für Pferde Borstel-Hohenraden

Dr. Dr. Christina Becker und Dr. Karsten Leser

Betreuerin: Dr. Dr. Christina Becker

**Die Erfassung der Ultrastruktur des Musculus interosseus medius des Pferdes
mittels Elektronenmikroskopie**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines

Dr. med. vet. beim Fachbereich Veterinärmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Lisa Butterweck

Tierärztin aus Geseke

Gießen 2016

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. Martin Kramer

Gutachter: Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold

Prof. Dr. Michael Röcken

Tag der Disputation: 12.07.2016

INHALTSVERZEICHNIS	I - II
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	III - IV
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V - VII
TABELLENVERZEICHNIS	VIII
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	5
2.1. Anatomie des Fesselträgers	5
2.2. Histologie des Fesselträgers	8
2.3. Funktion des Fesselträgers	13
2.4. Pathologie des Fesselträgers	14
2.4.1. Ätiologie und Pathogenese	14
2.4.2. Erkrankungsformen	15
2.4.2.1. Insertionsdesmopathie des Fesselträgerursprungs	15
2.4.2.2. Desmitis des Fesselträgers im proximalen Drittel	15
2.4.2.3. Desmitis des Fesselträgers im mittleren Drittel	16
2.4.2.4. Desmitis der Fesselträgerschenkel	16
2.5. Diagnostik und Therapie	17
2.6. Ultrastrukturelle Untersuchungen an Sehnen	21
3. Material und Methode	29
3.1. Pferde	29
3.2. Probenentnahme	29
3.3. Herstellung der Fesselträgerquerschnitte	30
3.4. Bearbeitung mit dem Programm Image J	32
3.5. Statistik	34
4. Ergebnisse	36
4.1. Fibrillenflächenanteil	36
4.2. Fibrillendichte	39

4.3. Fibrillenfläche	42
4.4. Fibrillenumfang	44
4.5. Fibrillendurchmesser	47
4.6. Verteilung Fibrillendurchmesser	49
4.6.1. Vorderbein	49
4.6.2. Hinterbein	51
4.7. Vergleich Fibrillenfläche, -umfang und -durchmesser	52
4.7.1. Vorderbein	52
4.7.2. Hinterbein	53
4.8. Fibrillenflächenverteilung	54
4.8.1. Vorderbein	54
4.8.2. Hinterbein	59
4.8.3. Vergleich Vorder- und Hinterbein	63
5. Diskussion	71
5.1. Methode	71
5.2. Ergebnisse	72
6. Zusammenfassung	80
7. Summary	82
8. Literaturverzeichnis	84

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABK.	BEZEICHNUNG
Abb.	Abbildung
Abk.	Abkürzung
Aqua dest	Aqua destillata
bzw.	beziehungsweise
COMP	cartilage oligometric matrix protein
EGF	epidermal growth factor
ELMI	Elektronenmikroskop
FGF	fibroblast growth factor
GAG	Glycosaminoglykane
GDF-5	growth differentiation factor 5
IGF-I	insulin-like growth factor
Lig.	Ligamentum
M.	Musculus
Mm.	Musculi
mm	Millimeter
MSC	mesenchymale Stamm- bzw. Stromazellen
MQA	mittlerer Quartilsabstand
N.	Nervus
NSAID	non-steroidal anti-inflammatory drugs
nm	Nanometer

OBS	oberflächliche Beugesehne
PDGF	platelet derived growth factor
PG	Proteoglykane
PRP	platelet rich plasma
TBS	tiefe Beugesehne
TGF- β	transforming growth factor β
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VEGF	vascular endothelial growth factor

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

ABB	BEZEICHNUNG	SEITE
Abb. 1:	Darstellung der beiden Ursprungsbereiche des M. interosseus medius	5
Abb. 2:	Schematische Darstellung der Zehengelenke	6
Abb. 3:	Schematische Darstellung der Zehengelenke	7
Abb. 4:	Schematisches Diagramm einer Kollagenfibrille	9
Abb. 5:	Schematische Darstellung für die hierarchische Anordnung	10
Abb. 6:	Ort der digitalen Palpation am Ursprung des M. interosseus medius	17
Abb. 7:	Orte der Probenentnahme	29
Abb. 8:	Beispiel für das Binary	32
Abb. 9:	Beispiel für das Watershed	33
Abb. 10:	Fibrillenflächenanteil am Vorder- und Hinterbein	37
Abb. 11:	ELMI-Bild Vorderbein proximal Mitte	37
Abb. 12:	ELMI-Bild Hinterbein proximal medial	37
Abb. 13:	Unterschiede des durchschnittlichen Flächenanteils	38
Abb. 14:	Fibrillendichte am Vorder- und Hinterbein	40
Abb. 15:	ELMI-Bild Hinterbein medialer Schenkel	40
Abb. 16:	ELMI-Bild Hinterbein Mitte medial	40
Abb. 17:	Unterschiede der durchschnittlichen Dichte	41

Abb. 18:	Fibrillenfläche am Vorder- und Hinterbein	42
Abb. 19:	ELMI-Bild Hinterbein medialer Schenkel	43
Abb. 20:	ELMI-Bild Vorderbein Mitte lateral	43
Abb. 21:	Unterschiede der durchschnittlichen Fibrillenfläche	44
Abb. 22:	Fibrillenumfang am Vorder- und Hinterbein	45
Abb. 23:	Unterschiede des durchschnittlichen Fibrillenumfangs	46
Abb. 24:	Fibrillendurchmesser am Vorder- und Hinterbein	47
Abb. 25:	Unterschiede des durchschnittlichen Fibrillendurchmessers	49
Abb. 26:	Verteilung Fibrillendurchmesser am Vorderbein	50
Abb. 27:	ELMI-Bild Vorderbein proximal lateral	51
Abb. 28:	ELMI-Bild Vorderbein Mitte lateral	51
Abb. 29:	Verteilung Fibrillendurchmesser am Hinterbein	52
Abb. 30:	ELMI-Bild Hinterbein Mitte medial	52
Abb. 31:	ELMI-Bild Hinterbein medialer Schenkel	52
Abb. 32:	Vergleich Fibrillenfläche, -umfang und -durchmesser am Vorderbein	53
Abb. 33:	Vergleich Fibrillenfläche, -umfang und -durchmesser am Hinterbein	54
Abb. 34:	Fibrillenflächenverteilung am Vorderbein proximal	56
Abb. 35:	ELMI-Bild Vorderbein proximal lateral	56
Abb. 36:	ELMI-Bild Vorderbein proximal Mitte	56
Abb. 37:	ELMI-Bild Vorderbein Mitte medial	56
Abb. 38:	Fibrillenflächenverteilung am Vorderbein Mitte	57
Abb. 39:	ELMI-Bild Vorderbein Mitte lateral	57

Abb. 40:	ELMI-Bild Vorderbein Mitte Mitte	57
Abb. 41:	ELMI-Bild Vorderbein Mitte medial	57
Abb. 42:	Fibrillenflächenverteilung am Vorderbein Schenkel	58
Abb. 43:	ELMI-Bild Vorderbein lateraler Schenkel	58
Abb. 44:	ELMI-Bild Vorderbein medialer Schenkel	58
Abb. 45:	Fibrillenflächenverteilung am Hinterbein proximal	60
Abb. 46:	ELMI-Bild Hinterbein proximal lateral	60
Abb. 47:	ELMI-Bild Hinterbein proximal Mitte	60
Abb. 48:	ELMI-Bild Hinterbein proximal medial	60
Abb. 49:	Fibrillenflächenverteilung am Hinterbein Mitte	61
Abb. 50:	ELMI-Bild Hinterbein Mitte lateral	61
Abb. 51:	ELMI-Bild Hinterbein Mitte Mitte	61
Abb. 52:	ELMI-Bild Hinterbein Mitte medial	61
Abb. 53:	Fibrillenflächenverteilung am Hinterbein Schenkel	62
Abb. 54:	ELMI-Bild Hinterbein lateraler Schenkel	62
Abb. 55:	ELMI-Bild Hinterbein medialer Schenkel	62
Abb. 56:	Box-Plot Fibrillenfläche	64
Abb. 57:	Box-Plot Fibrillendurchmesser	67
Abb. 58:	Box-Plot Fibrillenumfang	69
Abb. 59:	stress-strain-Kurve für Bänder	76

TABELLENVERZEICHNIS

TAB	BEZEICHNUNG	SEITE
Tab. 1:	Fibrillenflächenanteil	36
Tab. 2:	Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests, Fibrillenflächenanteil	38
Tab. 3:	Fibrillendichte	39
Tab. 4:	Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests, Fibrillendichte	41
Tab. 5:	Fibrillenfläche	42
Tab. 6:	Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests, Fibrillenfläche	43
Tab. 7:	Fibrillenumfang	45
Tab. 8:	Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests, Fibrillenumfang	46
Tab. 9:	Fibrillendurchmesser	47
Tab. 10:	Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests, Fibrillendurchmesser	48
Tab. 11:	Verteilung Fibrillendurchmesser Vorderbein	50
Tab. 12:	Verteilung Fibrillendurchmesser Hinterbein	51
Tab. 13:	Fibrillenflächenverteilung Vorderbein	55
Tab. 14:	Fibrillenflächenverteilung Hinterbein	59
Tab. 15:	Ergebnisse Fibrillenfläche, Vorder- und Hinterbein	63
Tab. 16:	Levene-Test, Fibrillenfläche	65
Tab. 17:	Ergebnisse Fibrillendurchmesser, Vorder- und Hinterbein	66
Tab. 18:	Levene-Test, Fibrillendurchmesser	68
Tab. 19:	Ergebnisse Fibrillenumfang, Vorder- und Hinterbein	68
Tab. 20:	Levene-Test, Fibrillenumfang	70

1. Einleitung

Es ist ein Gesetz aller organischen und anorganischen, aller physischen und metaphysischen aller menschlichen und übermenschlichen Dinge, aller echten Manifestationen des Kopfes, des Herzens und der Seele, dass das Leben in seinem Ausdruck erkennbar ist, dass die Form immer der Funktion folgt (Sullivan 1896). Die Entwicklung zum Fluchttier in der Gattung *Equus caballus* ging mit einer erheblichen Modifikation an den Gliedmaßen einher (Budras et al. 2003). Die Streckung und Verlängerung der Gliedmaße wurde vor allem durch die Entwicklung des Fessel- und Hufbeinträgers erreicht (Budras et al. 2000). Diese anatomischen Strukturen sind Anteile der passiven Stehvorrichtung und ermöglichen damit ein nahezu ermüdungsfreies lang anhaltendes Stehen zur ständigen Fluchtbereitschaft. Der stark sehnig durchsetzte *M. interosseus medius* ist der Hauptbestandteil des Fesselträgers, welcher das Acropodium bis zum Fesselkopf aufrichtet. Ein raumgreifender Schritt und eine enorme Laufgeschwindigkeit wurden durch die einhergehende Langbeinigkeit erreicht, welche essentiell für das Überleben des Fluchttieres sind. Diese Vorteile können allerdings mit erheblichen gesundheitlichen Beeinträchtigungen verbunden sein. Im schlimmsten Fall kommt es beim Adulten zum Niederbruch und beim Juvenilen zur Durchtrittigkeit des Fesselträgers, wenn die ursprüngliche Plantigradie und Winkelung der Gliedmaße wieder hergestellt werden. Die vielfältigen krankhaften Veränderungen, besonders im Zusammenhang mit der Insertionsdesmopathie (Huskamp et al. 1988), sind von erheblicher klinischer Bedeutung (Brehm 1996) und werden vorrangig durch biomechanische Überbelastungen der Ursprungsverankerung des *M. interosseus medius* ausgelöst (Weiler 2000). Der *M. interosseus medius* unterteilt sich in 3 Bereiche: der proximale Teil, der Körper und die Schenkel (Dyson et al. 2002). Es handelt sich um einen Muskel mit vorwiegend sehnigem Charakter (2-11% Muskelfasern). Der Anteil der Muskelfasern hängt von der Rasse ab (Wilson et al. 1991). Der Fesselträger entspringt an der Vordergliedmaße am Röhrbein und am *Lig. carpi radiatum*. Am Hinterbein entspringt er am Metatarsus und der distalen Tarsalknochenreihe (Dyson 2000). Er inseriert mit den beiden Endschenkeln an den Gleichbeinen. Der größte Anteil des *M. interosseus medius* besteht aus Sehnengewebe (Soffler et al. 2006). Die extrazelluläre Matrix setzt sich zusammen aus einer kollagenen und einer nicht-kollagenen Komponente. Die Kollagenfibrillen bestehen größtenteils aus Typ I Kollagen. Sie sind in einem longitudinal gerichteten Muster in immer größer werdenden

Untereinheiten angeordnet. Diese bilden die Faser (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994). Die nicht-kollagene Komponente beinhaltet verschiedene Proteine (Smith et al. 2002) und der zelluläre Anteil besteht aus Sehnenfibroblasten und Tendozyten (Williams et al. 1980, McIlwraith 2002). Das wellenförmige Muster entsteht durch Zellkontraktionen am Ende der Kollagenfibrillen und verschwindet bei leichtem Zug. Es ist sichtbar im Lichtmikroskop (Kastelic et al. 1978). Über die Ultrastruktur (elektronenmikroskopische Ebene) ist bisher wenig bekannt. Untersuchungen an der oberflächlichen Beugesehne (Cherdchutham et al. 2001) zeigen, dass bei Neoanten eine unimodale Verteilung der Kollagenfibrillen vorherrscht. Hier wurden vorwiegend Fibrillen mit kleinem Durchmesser gefunden. Im Laufe des Wachstums entwickelt sich die unimodale zu einer bimodalen Verteilung, kleine und große Fibrillen. Daher geht man davon aus, dass kleine Fibrillen für die Hemmung einer Überdehnung und große Fibrillen für die Kraft und Stärke verantwortlich sind (Parry et al. 1980).

Eine Läsion des M. interosseus medius (Fesselträger) ist eine der Hauptursachen (14%) für Lahmheiten und Ausfall bei Sportpferden. Die natürliche Heilung des Fesselträgers besteht aus einer Narbenbildung, welche oft langsam und von schlechter Qualität ist. Sie kann bis zu einem Jahr dauern (Webbon 1973, Williams et al. 1980) und die Wiederherstellung der rupturierten Sehnenfasern im Sinne einer Regeneration ist nicht möglich (Silbersiepe et al. 1986). Daraus resultieren lange Ausfälle und Prädispositionen für Rezidive (Herthel 2001). Zu den unterschiedlichen Formen zählen die Ursprungsdesmopathie, die Desmopathie des Fesselträgerkörpers und die der Fesselträgerschenkel. Es können außerdem Kombinationen der unterschiedlichen Formen auftreten (Rijkenhuizen et al. 2007). Eine Folge von degenerativen Mikrotraumen führen zu Fesselträgerläsionen (Goodship et al. 1994, Platt et al. 1994, Crevier-Denoix et al. 1997). Hierbei handelt es sich meist um multiple, fibrilläre Zerreißen einzelner Sehnenfasern mit anschließenden reaktiven Prozessen (Richter 1982, Drommer et al. 1990). Die Diagnostik beinhaltet die klinische Untersuchung (Stashak 1989) und diagnostische Anästhesien (Rijkenhuizen et al. 2007). Das Röntgen und die Ultraschalluntersuchung sind essentiell für die Diagnose einer Fesselträgerverletzung (Dyson et al. 1995, Dyson 2000). Die Magnetresonanztomographie bietet eine genauere Darstellung des Fesselträgerzustandes und zählt somit zu dem „golden standard“ in der Diagnostik von Fesselträgererkrankungen, welche jedoch nicht in jeder Praxis durchgeführt werden kann (Nagy et al. 2009). Zu den traditionellen Therapiemöglichkeiten zählen Boxenruhe mit einem

anschließenden, kontinuierlich ansteigendem Trainingsprogramm, entzündungshemmende Medikamente, Beschlagskorrektur, intraläsionale Injektionen von Hyaluronsäure, Sehnensplitting oder Stosswellentherapie (Dyson et al. 2002). Das Ziel der meisten Therapien ist die Verbesserung oder Modulierung des natürlichen Reparaturprozesses. Die faserige Akkumulation innerhalb des Fesselträgers führt jedoch nicht zu einer Wiederherstellung der normalen Funktion (Smith 2002). Daher geht der Trend zu Therapieformen, welche zum Ziel die Regeneration (*de novo* Synthese) anstatt der Reparation (faseriges Narbengewebe) haben. Diese neuartigen Therapien beinhalten die intraläsionale Injektion von autologem Knochenmark (Herthel 2001), Wachstumsfaktoren (Dahlgren et al. 2002) und mesenchymalen Stammzellen (Smith et al. 2003), sowie der Gentherapie (Woo et al. 1999).

Die Ultrastrukturanalyse ist eine objektive Methode zur quantitativen und qualitativen Beurteilung von Sehnen und Bändern. Zu diesem Zweck ist diese Arbeit in eine ‚Fesselträgerstudie‘ eingebunden, die den Einfluss regenerativer Techniken auf die Heilung von Fesselträgern untersucht und dient dabei als Datenbank für den Normalvergleich.

In der Literatur sucht man bisher vergeblich nach einer genauen Aufschlüsselung der Ultrastruktur des Fesselträgers des Pferdes. Um die Reparaturvorgänge geschädigter Fesselträger zu verstehen, ist nicht nur die genaue Kenntnis der Anatomie und der Histologie wichtig, sondern auch die der Ultrastruktur. Die Fragestellung dieser Arbeit, welche Bestandteil einer Fesselträgerstudie ist, lautet: Wie sieht die Ultrastruktur des *M. interosseus medius* aus? Es werden elektronenmikroskopische Bilder von Fesselträgerquerschnitten von gesunden Pferden untereinander verglichen. Diese Ergebnisse dienen somit als Datengrundlage für den Vergleich von ELMI-Bildern von geschädigten Fesselträgern. Die Arbeit ist der zweite Teil einer Fesselträgerstudie. Im ersten Teil („Der Einfluss von regenerativen Therapien auf die Heilung des *Musculus interosseus medius* beim Pferd: Eine kontrollierte prospektive klinische und sonographische Studie“, Melanie Banse, 2011) wurde der Heilungsverlauf von Fesselträgerschäden, die unterschiedlich behandelt wurden, klinisch und ultrasonographisch verfolgt. Außerdem wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten Biopate der Fesselträger entnommen, von welchen ebenfalls ELMI-Bilder hergestellt werden. Der dritte Teil soll sich dann mit dem Vergleich der ELMI-Bilder der gesunden mit denen der geschädigten Fesselträger beschäftigen.

Das Ziel ist es also die Ultrastruktur der Kollagenfibrillen von gesunden Fesselträgern quantitativ zu ermitteln, um einen Beitrag zum Verständnis seiner Funktion und Heilung zu leisten.

2. Literaturübersicht

2.1. Anatomie des Fesselträgers

Der Fesselträger wird auch Sesambeintragearrapparat genannt (Nickel et al. 2001) und besteht aus mehreren Teilen, dem Musculus interosseus medius, dem Ligamentum metacarpointersesamoideum, den mittleren Sesambeinbändern, den darin eingebetteten Gleichbeinen und den drei distalen Sesambeinbändern (Stashak 1989). Der Musculus interosseus medius ist der Hauptbestandteil des Fesselträgers (Schulze et al. 2008), welcher in dieser Studie untersucht werden soll. Daher bezieht sich die Beschreibung der Anatomie und Histologie vorwiegend auf diesen Teil. Der Musculus interosseus medius geht aus dem Lig. carpi radiatum hervor (Nickel et al. 2001) und entspringt an der Vordergliedmaße proximal am Metacarpus III und an der distalen Karpalknochenreihe und an der Hintergliedmaße proximal am Metatarsus III und an der distalen Tarsalknochenreihe (Lischer et al. 2006a).

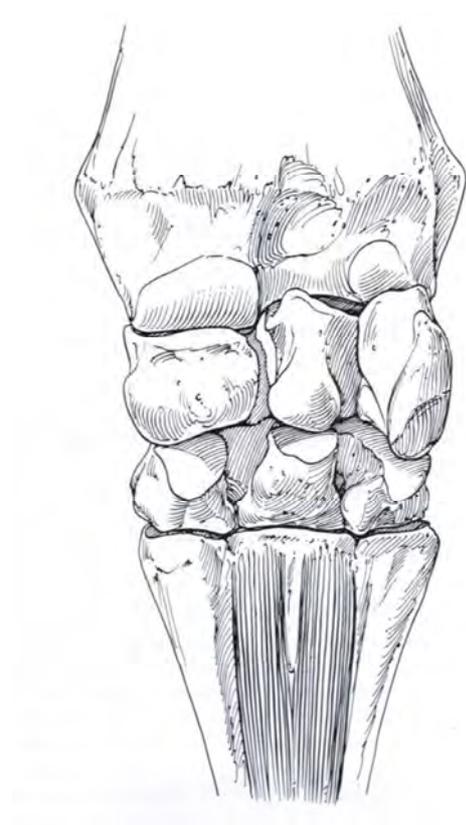


Abb. 1 Darstellung der beiden Ursprungsbereiche des M. interosseus medius proximal an der Palmarfläche des Os metacarpale III (Stashak 1989).

Er lässt sich in 3 Teile unterteilen, den proximalen Teil, den Körper und die Schenkel. Der proximale Teil entspringt an der Vordergliedmaße mit 2 Köpfen (Dyson et al. 2002). Geteilt wird er durch Weichteilgewebe und Fett (Bischofberger et al. 2006). Der laterale Anteil ist dicker und enthält mehr Muskelgewebe als der mediale Anteil (Lischer et al. 2006a). An der Hintergliedmaße ist diese Teilung nicht so eindeutig. Der Körper verläuft zwischen dem 2. und 4. Metacarpal- /Metatarsalknochen. Die Teilung in die Schenkel erfolgt an einer variablen Stelle in der Midmetacarpal-/Midmetatarsalknochen. Jeder Schenkel setzt an der abaxialen Oberfläche des korrespondierenden Gleichbeins an (Dyson et al. 2002) und gibt jeweils einen Unterstützungsast an die gemeinsame Strecksehne ab (Nickel et al. 2001). Die Mm. interossei lateralis und medialis entspringen am lateralen bzw. medialen Griffelbeinköpfchen. Diese sind kleine Muskeln mit sehnigem Ursprung und spindelförmigem Muskelbauch, dessen Endsehne in der Muskelfaszie endet (Schulze et al. 2008). Die Fascia metacarpi palmaris bzw. plantaris reicht vom medialen bis zum lateralen Griffelbein.

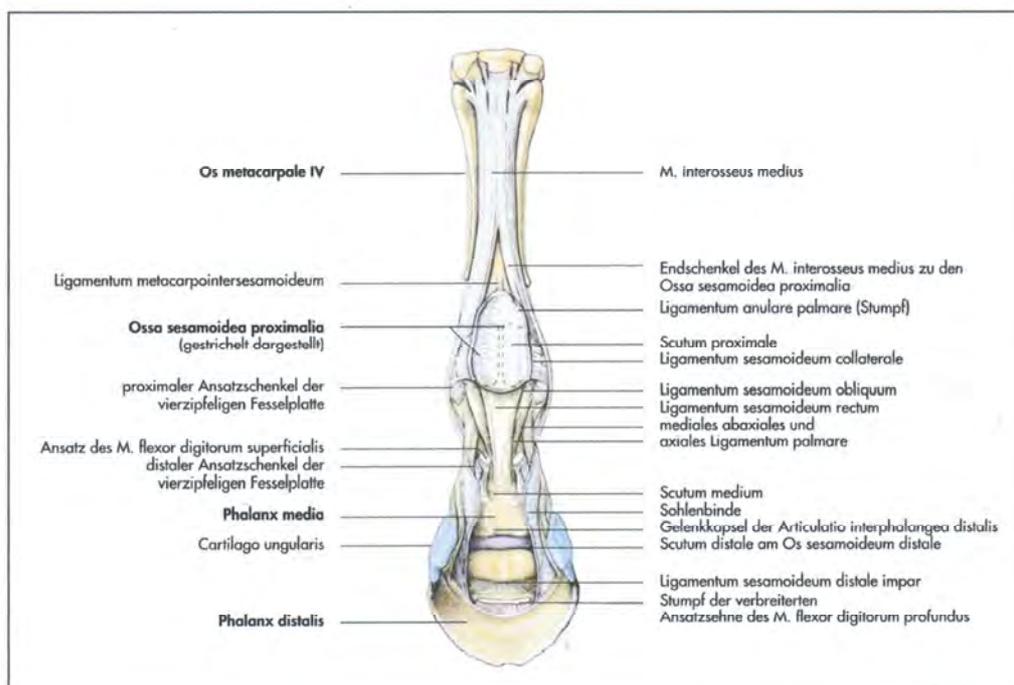


Abb. 2 Schematische Darstellung der Bänder der linken Zehengelenke des Pferdes (Palmaransicht), nach Ellenberger und Baum, 1943 (König et al. 2005)

Der Querschnitt des Musculus interosseus medius ist an der Vorderextremität flach und bohnenförmig und an der Hinterextremität rundlich und auf die laterale Seite verlagert (Lischer et al. 2006a).

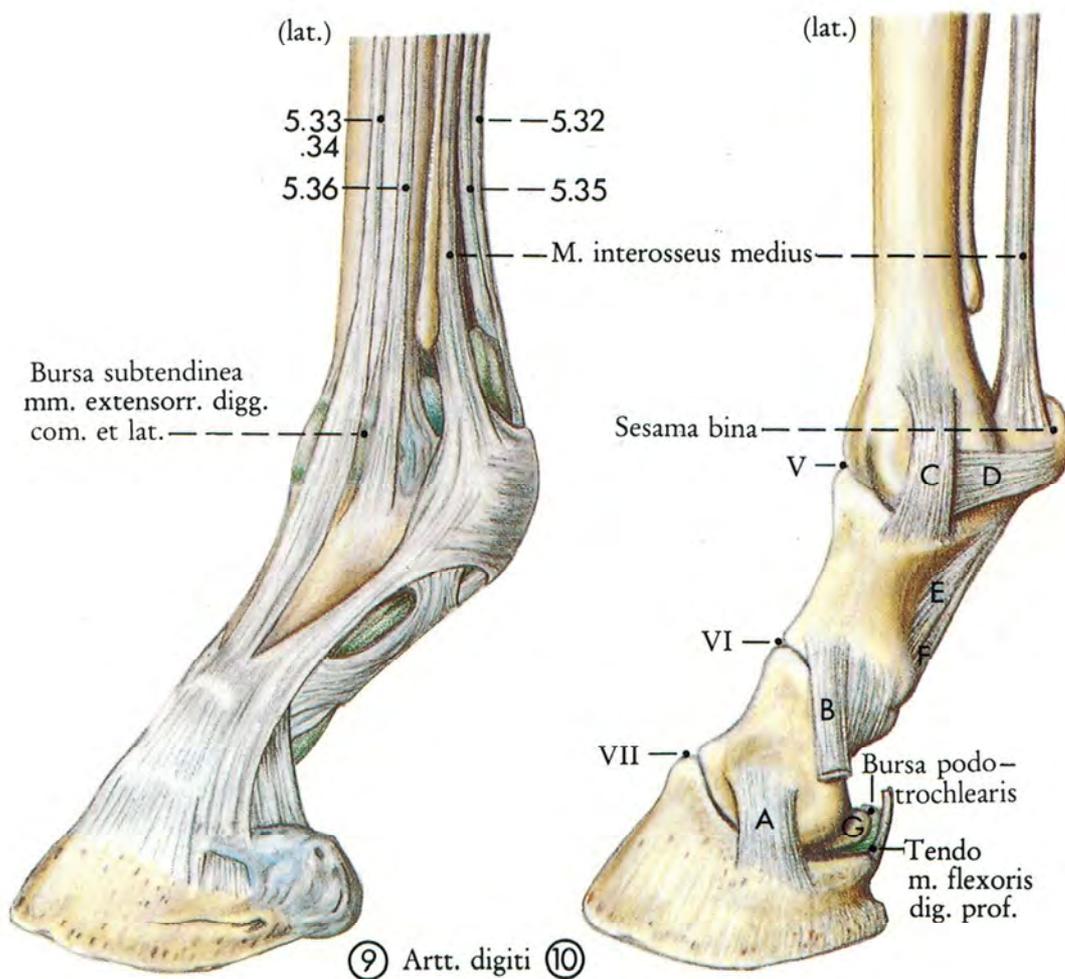


Abb. 3 Schematische Darstellung der Bänder der linken Zehengelenke des Pferdes (Lateralansicht), nach Ghetie, 1954 (Budras et al. 2000)

Der Ursprung des Fesselträgers an der Vordergliedmaße wird durch den Ramus profundus des Nervus palmaris lateralis innerviert (Lischer et al. 2006a). Dieser enthält Fasern aus dem N. ulnaris und dem N. medianus (Kainer 1989). Der tiefe Ast des Nervus palmaris lateralis teilt sich weiter distal in die Nervi metacarpei palmares lateralis und medialis auf (Lischer et al. 2006a). Diese liegen, nachdem sie durch den M. interosseus medius hindurch getreten sind, palmar des Röhrlbeins, zwischen lateralem und medialem Griffelbein (Kainer 1989).

An der Hintergliedmaße erfolgt die Innervation des Ursprungs durch den N. plantaris lateralis. Dieser entspringt aus dem N. tibialis proximal des Sprunggelenks (Budras et al. 2000). Der Verlauf der Nerven nach distal ist dem an der Vorderextremität sehr ähnlich (Kainer 1989).

2.2. Histologie des Fesselträgers

Der Musculus interosseus medius besteht überwiegend aus Sehngewebe, welches sich aus Bündeln von Kollagenfibrillen zusammensetzt (Soffler et al. 2006). Der zelluläre Bestandteil setzt sich zusammen aus Sehnenfibroblasten und Tendozyten, welche zwischen den Kollagenfasern liegen (Williams et al. 1980, Mcilwraith 2002).

Die Sehnenzellen werden insgesamt als Tendozyten bezeichnet. Sie unterscheiden sich aber aufgrund ihrer Zellmorphologie (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994). In früheren Studien wurden 3 Typen beschrieben.

1) ruhende Zellen mit spindelförmigem Zellkern, sie liegen zwischen den Kollagenfibrillen und kommen v.a. in adulten Sehnen vor

2) aktive Zellen mit zigarrenförmigem Zellkern, sie liegen ebenfalls zwischen den Kollagenfibrillen und kommen v.a. in juvenilen Sehnen vor

3) Chondrozyten mit rundem Zellkern, sie liegen in komprimiertem Zellgewebe (Goodship et al. 1994)

Offensichtlich gibt es einen 4. Typ innerhalb des Endotendineum. Eine Vorläuferzelle mit rundem Zellkern und prominenten Nukleoli. Die Tendozyten haben zytoplasmatische Verlängerungen als Verbindung zur Nachbarzelle via 'gap junctions'. Die zelluläre Komponente in der Sehne ist sehr klein (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994).

Die Sehnenmatrix ist konstruiert aus einer Serie von immer größer werdenden Untereinheiten. Diese liegen in einer hierarchischen Anordnung. Aufgrund von „crimp“ zeigt sich im Längsschnitt eine wellenförmige Morphologie. Die extrazelluläre Matrix teilt sich auf in eine kollagene und eine nicht-kollagene Komponente. Kollagenfibrillen stellen die Basis für die Sehnenmatrix dar. Diese sind im Längsschnitt bandförmig und im Querschnitt zirkulär und unterschiedlich groß (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994). Die Kollagenfibrillen verschmelzen und werden so zu dickeren Fibrillen, da sich unipolare Fibrillen mit einem N-C-Terminus zusammenfügen können. Daraus entstehen dann bipolare Fibrillen mit einem C-C-Terminus. Die Folge ist, dass der Gehalt an unipolaren Fibrillen sinkt und die finale Größe der Kollagenfibrillen limitiert ist (Kadler et al. 2000, Canty et al. 2002). Zwei Drittel des Gewichts der Sehne besteht aus Wasser. Dieses begünstigt die Elastizität der Sehne. Dehydratation

führt zu einer vermehrten Steifheit. Das dritte Drittel, die Trockenmasse, besteht hauptsächlich aus Typ I Kollagen. Dieses wird im endoplasmatischen Retikulum der Zelle aus 2 α_1 -Ketten und 1 α_2 -Ketten konstruiert. Die Ketten formen eine Tripelhelix mit einem N- und einem C-Terminus. Diese wird auch Prokollagen genannt und ist 285nm lang und 1,4nm breit. Daraus werden Kollagenfibrillen in einer hoch organisierten Ordnung zusammengefügt. Jedes Kollagenmolekül überlappt seinen Nachbar um ein Viertel. Dadurch entsteht das „banded“ Muster im Elektronenmikroskop. 5 Kollagenmoleküle stellen eine Untereinheit der Kollagenfibrillen dar. Durch die Bildung von cross-links zwischen Lysin- und Hydroxylysinrückständen in angrenzenden Fibrillen werden diese stabilisiert. Die Kollagenfibrillen sind in einem longitudinal gerichteten Muster in immer größer werdenden Untereinheiten angeordnet, welche letztendlich die Fasern bilden. Diese sind im Lichtmikroskop sichtbar und zusammen in Sehnenfaszeln assoziiert (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994).

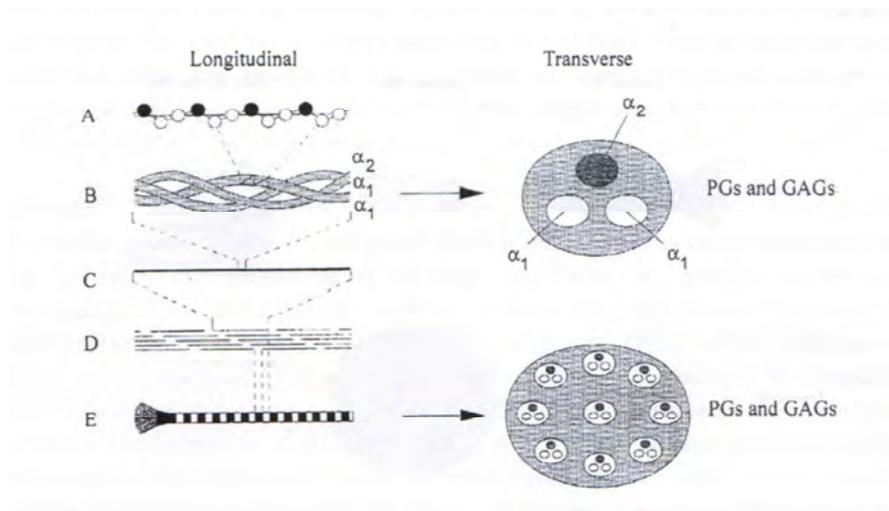


Abb. 4 Schematisches Diagramm einer Kollagenfibrille Typ I (Józsa et al. 1997)

Aminosäuresequenzen (u.a. Glycin) formen eine α -Kette (Abb. 4A). 3 α -Ketten bilden eine rechtsgedrehte Tripelhelix, welche das Kollagenmolekül darstellt. Die α -Ketten sind umgeben von Proteoglykanen (PG) und Glycosaminoglykanen (GAG) (Abb. 4B und 4C). Mehrere Kollagenmoleküle formen ein Tropokollagenmolekül (Abb. 4D). Eine Mikrofibrille (Abb. 4E) ist zusammengesetzt aus mehreren Tropokollagenmolekülen (Józsa et al. 1997).

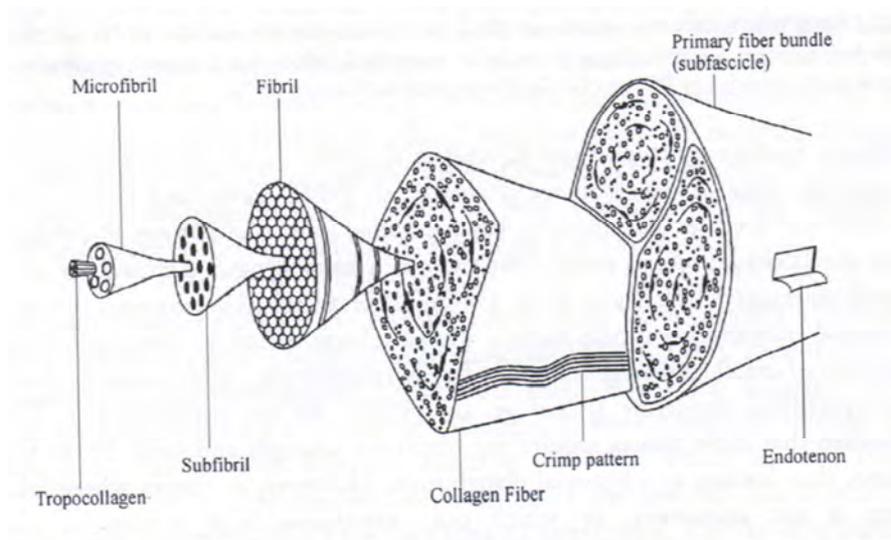


Abb. 5 Schematische Darstellung für die hierarchische Anordnung innerhalb der Sehne (modifiziert von Kastelic et al. 1978).

Mikrofibrillen setzen sich zu einer Subfibrille und diese zu einer Kollagenfibrille zusammen. Eine Kollagenfaser wird aus vielen Kollagenfibrillen gebildet. Sie ist die Basiseinheit der Sehne und hat einen Durchmesser zwischen 1 und 50 μm (Kastelic et al. 1978, Józsa et al. 1997, Kannus 2000). Ab dieser Einheit ist auch das wellenförmige Muster („crimp pattern“) im Lichtmikroskop sichtbar (Kastelic et al. 1978). Mehrere Kollagenfasern formen das primäre Faserbündel (Subfascikel). Das sekundäre Faserbündel (Faszikel) setzt sich aus mehreren primären Faserbündeln zusammen. Das tertiäre Faserbündel ist schließlich die Sehne (Józsa et al. 1997, Kannus 2000) (Abb. 5). Zwischen den primären, sekundären und tertiären Faserbündeln liegt locker angeordnetes Kollagen, das so genannte Endotenon. Diese Faszikulation der Sehne ist essentiell für die Nährstoffversorgung der Tendozyten, da kleine Blutgefäße zwischen den Bündeln passieren können (Chaplin et al. 1975).

Der Durchmesser der Kollagenfibrillen variiert (Demel et al. 1982), abhängig von der Art des Gewebes und dem Stadium der Entwicklung (Parry et al. 1978a, Parry et al. 1984). Es wird angenommen, dass große Fibrillen für die Stärke des Gewebes und kleine Fibrillen für die Hemmung einer Überdehnung verantwortlich sind. Das führt zu einer bimodalen Verteilung (Parry et al. 1980).

Es gibt eine große Vielfalt an kleineren Kollagenen. Hierzu gehört das Typ III Kollagen, welches die Faszikel im Endotendineum umrahmt. Das Typ IV Kollagen wird durch die mechanische Belastung reguliert (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994).

Die nicht-kollagene Komponente stellt verschiedene Proteine dar. Diese machen 20% der Trockenmasse aus und sind lebenswichtig für die Organisation und Funktion des Gewebes (Smith et al. 2002). Das wichtigste Protein während des Wachstums ist das „cartilage oligometric matrix protein“ (COMP). Dieses besteht aus einem zentralen Kohlenstoffatom und 5 „Armen“ mit einem N-Ende. Zum Zeitpunkt der Geburt ist nur ein sehr geringer Gehalt an COMP nachweisbar. Während des Wachstums akkumuliert das Protein (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994). Die Funktion ist noch nicht vollständig geklärt. Bekannt ist jedoch, dass es fibrilläres Kollagen mit einem zinkabhängigen Mechanismus bindet (Rosenberg et al. 1998). Die Interaktion mit dem Kollagen geschieht über das zentrale C-Atom an 4 gleichabständigen Bereichen entlang des Kollagenmoleküls (Rosenberg 2001). Aufgrund der Größe der Arme, kann das Molekül höchstens mit einer Seite eines Kollagenmoleküls interagieren. Stattdessen kann das COMP 5 Kollagenmoleküle einordnen um eine Kollagenfibrille zusammenzubauen. Das COMP bindet nicht an geformte Kollagenfibrillen und nach dem Zusammenbau wird es abgelöst. In vitro beschleunigt es die Kollagenfibrillogenese. Daher ist es hauptsächlich während der Wachstumsphase vorhanden, wenn Matrix synthetisiert wird. Der Gehalt fällt nach Erlangung der skelettalen Reife deutlich ab, wenn nur noch geringe Veränderungen in den Strukturproteinen der Sehne vorliegen (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994). Je mehr COMP während des Wachstums vorhanden ist, desto stärker wird die Sehne. Nach einer natürlichen Mutation im COMP-Gen folgt das funktionelle Knock-Out, was zur Folge hat, dass der Gehalt dieses Proteins stark abfällt (Briggs et al. 1995). Weitere Proteine der nicht-kollagenen Komponente sind die Proteoglykane. Hier unterscheidet man die großen und die kleinen Proteoglykane. Aggrecan, welches im Knorpelgewebe zu finden ist und Versican, welches im Weichteilgewebe vorhanden ist, zählen zu den großen Proteoglykanen. Sie haben eine hohe Anzahl von sulfatierten Glycosaminoglycan-Seitenketten, welche das Wasser binden. Sie befinden sich an Lokalisationen mit hoher Kompression. Decorin, Biglycan, Fibromodulin, Lumican und Mimican kommen alle in der Sehne vor und gehören zu den kleinen Proteoglykanen. Diese sind assoziiert mit den Kollagenfibrillen und regulieren deren Durchmesser. Die Funktion der Proteine Thrombospondin 4, Tenascin-C, Fibronectin, Hyaluronsäure und Elastin sind bisher ungeklärt (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994).

Im Fesselträger sind außerdem Anteile von Muskelgewebe nachgewiesen worden (Denoix 1994, Dyson et al. 2002). Diese Anteile reichen vom Ursprung bis in die Schenkel (Wilson et

al. 1991). Die Ergebnisse unterschiedlicher Studien über den prozentualen Anteil des Muskelgewebes im Fesselträger variieren. Wilson et al. (1991) wies 31% proximal in den Vorderextremitäten, 41% proximal in den Hinterextremitäten und 7,5% Muskelfasern in den Schenkeln nach. Zwischen 2,1 und 11% Muskulatur im Fesselträgerkörper bei Vollblütern konnten Dyson et al. (1995) feststellen. 10% im Querschnitt (Soffler et al. 2006) bzw. durchschnittlich 29,6% Muskelfasern im Fesselträgerursprung an der Hintergliedmaße bei Warmblütern (Lempe 2007) sind außerdem Ergebnisse unterschiedlicher Studien. Es konnten rasseabhängige Unterschiede nachgewiesen werden. Somit besitzen Traber 40% mehr Muskelmasse im Fesselträger als Vollblüter. Differenzen zwischen den Geschlechtern bzw. der Nutzungsart konnten nicht festgestellt werden (Wilson et al. 1991). Bei dem Muskelanteil im Fesselträger handelt es sich um quergestreifte Muskulatur (Schulze et al. 2008) und 95% sind Muskelfasern Typ 1 („slow-twitch“). Diese sind sehr ausdauernd und ermüdungsresistent. Sie kontrahieren langsam und haben ein hohes oxidatives Potential. Die restlichen 5% sind Muskelfasern Typ 2, welche einen hohen Energieverbrauch haben und schnell ermüden. Sie kontrahieren schnell und besitzen einen kleineren Durchmesser als der Typ 1 (Soffler et al. 2006). Die Muskelfasern verlaufen in einem 45°-Winkel zu den Kollagenbündeln (Rooney 1973) und bestehen aus 2 longitudinal ausgerichteten Bündeln (Denoix 1994). Diese sind an der Vorderextremität halbkreisförmig und verlaufen fast parallel (Rooney 1973). Die konkaven Seiten sind einander zugewandt. Die Bündel sind proximal gut definiert und werden weiter distal diffuser. An der Hintergliedmaße sind die Bündel geradlinig geformt und verlaufen parallel (Wilson et al. 1991, Bischofberger et al. 2006). Die Aufgabe des Muskelgewebes innerhalb des Fesselträgers ist v.a. unterstützend bei der Dämpfung der horizontalen und vertikalen Vibrationen (Rooney 1973). Außerdem ist es stark mit Fett durchsetzt (Lempe 2007). Das Fettgewebe befindet sich v.a. an der Kontaktfläche von Muskel und Sehne. Dieses hat stoßbrechende und absorbierende Eigenschaften. Die Fettzellnester hüllen die Muskelfasern ein (Lempe 2007).

2.3. Funktion des Fesselträgers

Die Gliedmaße des Pferdes wurde während der Entwicklung zum Fluchttier erheblich modifiziert (Budras et al. 2003). Die Entwicklung des Fessel- und Hufbeinträgers beeinflusste hierbei maßgeblich die Streckung und Verlängerung der Gliedmaße (Budras et al. 2000). Sie sind Anteile der passiven Stehvorrichtung und ermöglichen damit ein nahezu ermüdungsfreies lang anhaltendes Stehen zur ständigen Fluchtbereitschaft. Der stark sehnig durchsetzte M. interosseus medius richtet die Gliedmaße bis zum Fesselkopf auf.

Die wichtigsten Funktionen des Musculus interosseus medius sind die passive Fixation des Fesselgelenkes und die Übernahme der Last des Körpers (Kainer 1989). Durch den Druck des Körpergewichtes des Pferdes im Stand senkt sich das Fesselgelenk nach unten und hinten. Der Fesselträger wirkt einer Hyperextension entgegen, indem er eine Feststellung der Zehengelenke gewährleistet (Girtler 2001). In der Bewegung erhöht sich die Belastung während der Stützbeinphase, und das Fesselgelenk wird noch weiter abgesenkt (Nickel et al. 2001). Hier liegt die Hauptaufgabe des Fesselträgers, mit seiner stützenden Funktion die exzessive Extension des Fesselgelenks zu verhindern (Jansen et al. 1993, Dyson et al. 2002, Brown et al. 2003, Lischer 2010). Der Musculus interosseus medius erfährt während der Stützbeinphase zusammen mit der oberflächlichen Beugesehne die größte Zugbeanspruchung (Riemersma et al. 1996). Daher geht eine Erkrankung des Fesselträgers oft mit Problemen in der oberflächlichen Beugesehne einher, da beide Strukturen sich in ihrer Funktion unterstützen (Stashak 1989). In der ersten Hälfte der Stützbeinphase kontrahieren die Muskelbäuche der oberflächlichen und tiefen Beugesehne. Das wird vom Fesselträger unterstützt (Girtler 2001). Er muss den Stress und die Belastung, welche durch Gewicht und Geschwindigkeit entstehen, auffangen (Soffler et al. 2006). Er speichert und gibt elastische Dehnungsenergie ab (Birch et al. 1997b, Jansen et al. 1998). In der Phase des Stemmens erfährt er eine Entspannung (Girtler 2001). Außerdem gibt er potenzielle Energie in Form von kinetischer Energie zurück (van den Bogert et al. 1989). Die Aufgabe der Fesselträgerschenkel ist passiver Natur. Sie wirken einer Beugung des Kron- und Hufgelenkes entgegen und verhindern somit ein Aufsetzen des Hufes auf die Zehe (Jansen et al. 1993). Die genaue Funktion der Muskelfasern im Fesselträger ist bisher unbekannt.

2.4. Pathologie des Fesselträgers

Läsionen des M. interosseus medius sind ein häufiges Problem in der Pferdemedizin und beeinträchtigen die sportliche Leistung eines Pferdes erheblich (Rijkenhuizen et al. 2007).

2.4.1. Ätiologie und Pathogenese

Durch Überbelastung und Überdehnung entstehen fibrilläre Mikroläsionen im M. interosseus medius. Eine weitere Belastung führt zu größeren Schäden und Entzündungen (Schneider 2006). Somit ist eine Verletzung des Fesselträgers das Ergebnis einer Akkumulation von degenerativen Mikrotraumen (Goodship et al. 1994, Platt et al. 1994, Crevier-Denoix et al. 1997). Prädisponierende Faktoren sind Fehlstellungen, Fehlbelastungen (Smith 2002, Dyson et al. 2002) und die Durchbiegigkeit im Carpalgelenk (McCullagh et al. 1979). Ebenso ein gerades Sprunggelenk, eine Hyperextension im Fesselgelenk (Dyson et al. 2002), eine lange weiche Fessel, lange Zehen und niedrige Trachten begünstigen Läsionen im M. interosseus medius (Dyson et al. 1995).

Traumata, wie Distorsionen im Fesselgelenk, können zu Faserabrissen am Ursprung oder an der Insertion an den Gleichbeinen führen (Rijkenhuizen et al. 2007). Systemische Erkrankungen oder unkoordinierte Bewegungen (Webbon 1973), Hufimbancen und schlechte Bodenbeschaffenheit können Verletzungen des Fesselträgers hervorrufen (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 2002). Direkte Traumata führen vor allem an der Hinterhand zu Läsionen am M. interosseus medius (Schneider 2006), ebenso wie äußere Faktoren, beispielsweise das Gewicht des Reiters und ein harter Boden (Smith 2002).

Eine Überdehnung, Verlagerung oder sogar Ruptur von Kollagenfibrillen und Sehnenfasern treten durch eine Belastung, welche die Elastizitätsgrenze überschreitet, auf (Fackelmann 1973). Durch eine Faserzerreiung kommt es zu einer Blutung ins Gewebe (McCullagh et al. 1979), welche wiederum eine Fibrinansammlung und Ischämie in diesem Gebiet hervorruft. Tendozyten und Fibrillen nekrotisieren aufgrund eines Ödems zwischen den Fasern (McCullagh et al. 1979). Hydrolytische Enzyme, welche aufgrund der akuten Entzündung freigesetzt werden, schädigen die Kollagenfibrillen und die interfibrilläre Matrix weiter (McCullagh et al. 1979, Stashak 1989, Smith 2002). Neutrophile Granulozyten, Leukozyten und Gewebsmakrophagen wandern durch Chemotaxis in das betroffene Gebiet ein (Smith 2002).

2.4.2. Erkrankungsformen

Man unterscheidet folgende Formen:

- 1) Insertionsdesmopathie des Fesselträgerursprungs
- 2) Desmitis des Fesselträgers im proximalen Drittel
- 3) Desmitis des Fesselträgers im mittleren Drittel (midbody)
- 4) Desmitis der Fesselträgerschenkel

Es können ebenfalls Kombinationen aus allen auftreten (Rijkenhuizen et al. 2007).

2.4.2.1. Insertionsdesmopathie des Fesselträgerursprungs

Die Ursprungsdesmopathie des M. interosseus medius ist eine inkomplette Ruptur der Kollagenfasern, welche im Knochengewebe verankert sind (Dämmrich 1991). Diese kann akut durch Fehlbelastungen oder Traumata entstehen. Eine chronische Mehrbelastung aufgrund von Stellungsanomalien kann ebenfalls eine derartige Desmopathie hervorrufen (Dämmrich 1991). Klinisch zeigt das Pferd eine Lahmheit, welche sich auf weichem Boden im Zirkel verschlechtert. Außerdem ist die Lahmheit deutlicher, wenn das verletzte Bein außen ist. Der palmare bzw. plantare Bereich des Röhrbeins kann in der akuten Phase auf Druck schmerzhaft sein. Diese Schmerzhaftigkeit ist in der chronischen Phase deutlich geringer (Rantanen 1998). Da das proximale Drittel des M. interosseus medius nicht palpierbar ist, sind diese Befunde schwierig zu beurteilen. Knochenzubildungen und Sklerosierungen sind im Röntgenbild erst in der chronischen Phase sichtbar (Rijkenhuizen et al. 2007).

2.4.2.2. Desmitis des Fesselträgers im proximalen Drittel

Eine Entzündung des Fesselträgerursprungs, „proximal suspensory desmitis“ (PSD) tritt an den Vorder- und Hintergliedmaßen, ein- oder beidseitig auf (Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006a). Außer bei Warmblutpferden betrifft diese Art von Läsion häufiger die Vordergliedmaßen (Colahan et al. 1999). Es zeigt sich eine gering- bis mittelgradige Lahmheit, welche auf weichem Boden deutlicher ist. Wenn die betroffene Gliedmaße auf dem Zirkel außen geführt wird, zeigt sich ebenfalls eine deutlichere Lahmheit (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 1995, Lischer et al. 2006a). Eine Schmerzhaftigkeit lässt sich im akuten Stadium palpieren. Diese ist im chronischen Stadium nicht mehr erkennbar (Dyson et al. 1995). Dystrophische Verkalkungen können bei einer PSD sehr ausgeprägt sein (Lischer et al.

2006a). Diese Veränderungen kommen häufiger an der Hintergliedmaße vor (Dyson et al. 1995).

2.4.2.3. Desmitis des Fesselträgers im mittleren Drittel (Fesselträgerkörper)

„Body lesions“ sind Entzündungen des Fesselträgerkörpers, welche häufig in der Region über der Bifurkation zu finden sind (Moyer et al. 1980). Studien im englischen Sprachraum haben gezeigt, dass diese Verletzung häufiger an der Vordergliedmaße vorkommt, ausgenommen Warmblüter (Colohan et al. 1999). Sie ist nicht so häufig wie die Desmitis im proximalen Drittel oder die der Fesselträgerschenkel zu beobachten. In den meisten Fällen gehen „body lesions“ mit pathologischen Prozessen wie Griffelbeinfrakturen oder proliferativen periostalen Reaktionen einher (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 1995, Dyson et al. 2002). Eine undeutlich geringgradige bis mittelgradige Lahmheit ist sichtbar. Klinisch zeigt sich an der Stelle der Läsion Wärme, Schwellung und Schmerzhaftigkeit (Rantanen et al. 1998).

2.4.2.4. Desmitis der Fesselträgerschenkel

Eine Entzündung des lateralen oder medialen Fesselträgerschenkels tritt an Vorder- und Hintergliedmaßen aller Rassen auf (Rijkenhuizen et al. 2007). In den meisten Fällen handelt es sich um eine einseitige Schenkeldesmitis. Seltener kommt es zu einer Entzündung beider Schenkel. Das tritt vor allem an den Hintergliedmaßen auf (Moyer et al. 1980, Dyson et al. 2002). Die Lahmheit variiert von undeutlich geringgradig bis sehr hochgradig. Auch hier kann an der betroffenen Stelle Wärme, Schwellung und Schmerzhaftigkeit palpieren werden. Eine vermehrte Füllung der Beugesehnenscheide und des Fesselgelenks kann den Palpationsbefund beeinflussen (Rijkenhuizen et al. 2007). Eine Verdickung des Schenkels ist im chronischen Stadium zu beobachten. Eine Schmerzhaftigkeit ist hier nicht zu palpieren (Dyson et al. 1995). Bei einer beidseitigen Schenkeldesmitis kommt es zu einer Positionsveränderung und einer Hyperextension im Fesselgelenk (Moyer et al. 1980). Eine Desmitis der Interosseusschenkel kann in Zusammenhang mit Veränderungen am distalen Griffelbein stehen (Rijkenhuizen et al. 2007). An der Insertionsstelle der Schenkel an den Gleichbeinen können sich dystrophische Verkalkungen bilden (Dyson et al. 1995).

2.5. Diagnostik und Therapie

Die klinische Untersuchung ist ein wesentlicher Teil in der Diagnostik von Fesselträgerschäden. Dabei wird mit der Anamnese die Krankengeschichte des Patienten ermittelt. Daraufhin beginnt die Lahmheitsuntersuchung mit der Adspektion der Gliedmaße in Ruhe und in der Bewegung. Als nächstes wird das betroffene Bein im belasteten und aufgehobenen Zustand palpiert (Stashak 1989).



Abb. 6 Ort der digitalen Palpation am Ursprung des M. interosseus medius (Stashak 1989)

Durch die Infiltrationsanästhesie bzw. die Anästhesie des R. profundus des lateralen N. metacarpea palmaris oder des N. ulnaris an der Vordergliedmaße bzw. des R. profundus des N. metatarsi plantaris an der Hintergliedmaße kann die Lahmheit reduziert werden (Rijkenhuizen et al. 2007).

Zu den weiterführenden diagnostischen Untersuchungen zählt das Röntgen, welches nützlich ist für die Unterscheidung von Fesselträgerläsionen und Frakturen der palmaren Kortex des Röhrebeins (Dyson et al. 1995). Außerdem können mit Hilfe eines Röntgenbildes Knochenzubildungen und Sklerosierungen in der chronischen Phase der Ursprungsdysmopathie nachgewiesen werden (Rijkenhuizen et al. 2007). Die Sonographie ist für die Diagnose von Fesselträgerverletzungen sehr hilfreich. Aufgrund der besonderen Anatomie sind jedoch Fehlinterpretationen möglich, da der Fesselträger streckenweise aus Sehnen- und Muskelfasern besteht (Dyson 2000). Muskelfasern, die sich hypoechogen im Ultraschall darstellen, können leicht mit Sehnenfaserrissen verwechselt werden. Die kontralaterale Gliedmaße kann zum Vergleich herangezogen werden, da die Verteilung der

Muskelfasern meist bilateral symmetrisch ist. Kaudal liegt der Fesselträger-Körper zwischen den Griffelbeinen, daher ist in diesem Bereich seine seitliche Begrenzung schwierig auszumachen (Bischofberger et al. 2006). Am Hinterbein sollte daher auch von plantaromedial geschallt werden (Lischer 2010). Am Randbereich verliert der M.interosseus medius durch umliegendes Bindegewebe an Echogenität (Spaulding 1984). Abweichungen in der Echogenität, sowie Veränderungen in Größe, Gestalt, Kontur und Struktur sind Äußerungen einer Pathologie des M. interosseus medius (Genovese et al. 1986, Dyson et al. 2002, Lischer et al. 2006a). Hypo- oder anechogene Bereiche innerhalb des gesunden Gewebes sind Anzeichen für ein Ödem, eine Blutung, Fibrineinlagerung oder frisches Granulationsgewebe (Genovese et al. 1986). Hierbei handelt es sich dann in der Regel um akute Veränderungen, welche durch Flüssigkeitsansammlungen und Faserzerreißen gekennzeichnet sind (Hauser et al. 1984). Chronische Veränderungen hingegen zeigen hyperechogene Bereiche und eine Verdickung des M. interosseus medius (Hauser et al. 1984). Der Grund hierfür ist fibröses Bindegewebe aufgrund von Narbenbildung (Hauser et al. 1984, Genovese et al. 1986). Eine Verdickung des M. interosseus medius zeigt sich im Ultraschall sehr deutlich, da der sonst gut sichtbare hypoechogene Spalt zwischen Röhrbein und Fesselträger, verschwindet (Lischer 2010). Der Ursprung des M. interosseus medius zeigt bei pathologischen Veränderungen eine Vergrößerung im Querschnitt, eine verringerte Abgrenzung der Ränder, eine fokale oder diffuse reduzierte Echogenität, fokale anechogene Core-lesions oder fokale Mineralisationen (Dyson 1991, Dyson 1994, Dyson et al. 1995). Eine Desmitis des Fesselträgerkörpers ist durch Vergrößerung und Hypoechogenität gekennzeichnet (Lischer 2010). Pathologische Befunde in diesem Bereich können ebenfalls durch ein Verlust der Begrenzung oder fokale hypoechogene Bereiche gekennzeichnet sein (Dyson et al. 2002). Die Schenkel des M. interosseus medius zeigen bei Verletzungen eine Umfangsvermehrung, Veränderungen in der Form oder Kontur, einen Verlust der Begrenzung, hypoechogene Bereiche oder hyperechogene Massen (Dyson et al. 2002). Die Magnetresonanztomographie (magnetic resonance imaging – MRI) ermöglicht eine vollständige Einschätzung des Fesselträgerzustandes. Der Schaden innerhalb des Sehngewebes kann genau abgeschätzt werden. Es ermöglicht die Beurteilung des Ursprungs am McIII bzw. MtIII inklusive möglicher Flüssigkeitszunahmen. Außerdem kann die Anwesenheit einer Exostose auf der axialen Seite des Griffelbeines dargestellt werden. Durch die MRI können Größe, Lokalisation und Grad von Adhäsionen zwischen dem

Fesselträger und den Griffelbeinen optimal eingeschätzt werden (Sampson et al. 2007, Nagy et al. 2009, Bischofberger et al. 2006).

Die Therapie ist abhängig von der Schwere der Erkrankung. Die Therapie einer akuten Desmitis des Fesselträgers soll die Entzündung und deren nachteilige Wirkung minimieren und die Sehne unterstützen (Stashak 1989). Die Initialtherapie beinhaltet eine Kaltwasserbehandlung, welche Blutungen und Ödembildung begrenzt, da diese eine fibrilläre Zerreißung mit folgender Narbenbildung verschlimmert. Eine subkutane Schwellung kann mit Hilfe von Druckverbänden zwischen den Behandlungen minimiert werden (Farry et al. 1980). In den ersten 2 Wochen sollte das Pferd Boxenruhe erhalten. Eine passive Bewegung anschließend soll durch leichten Zug auf die verletzte Sehne das Ausrichten der Fibrinfasern in der ersten Heilungsperiode unterstützen. Außerdem fördert es die richtige Lagerung des neuen Kollagens und verhindert Verklebungen (Ketchum 1979, McCullagh et al. 1979). Die parenterale Gabe von Kortikosteroiden bzw. NSAID's (non-steroidal anti-inflammatory drugs) wird empfohlen. Die peritendinse Cortisoninjektion verhindert Adhäsionen (Stashak, 1989). Die korrekte Belastung und Fuung ist ebenfalls von Bedeutung. Die Hufstellung sollte bei Bedarf korrigiert werden. Hier sind flache Eier- oder Schlusseisen ohne Erhöhung oder Abflachung im Trachtenbereich zu empfehlen (Ross 2006, Dyson et al. 2002).

Zu den regenerativen Therapien zählt das PRP (Platelet Rich Plasma), welches ein Ultrakonzentrat von Thrombozyten bezeichnet. Es enthält Wachstumsfaktoren in hoher Konzentration (Waselau et al. 2008), wie beispielsweise PDGF, FGF, TGF- β , VEGF, IGF-I, EGF (Chang et al. 1997, Schnabel et al. 2007, Ionita 2010). Es wird gewonnen, indem venöses Blut in einem speziellen Prozess zentrifugiert wird (Zachos et al. 2005). Die Wachstumsfaktoren werden durch Aktivierung aus den α -Granulen der Thrombozyten freigesetzt. Sie bewirken eine Zelldifferenzierung, Proliferation und eine gesteigerte Vaskularisation. Außerdem erhöhen sie den Kollagen- und DNA-Gehalt (Murphy et al. 1997, Dahlgren et al. 2001, Dahlgren et al. 2002, Mishra et al. 2009, Bosch et al. 2010, Ionita 2010). Es wurde ebenso eine analgetische und antimikrobielle Wirkung beobachtet (Ionita 2010). Die Wirkung des PRP in der Band- und Sehnenheilung beim Pferd wurde in unterschiedlichen Studien untersucht. Tendozyten von oberflächlichen Beugesehnen, die mit PRP kultiviert wurden, zeigten eine deutlich höhere mRNA-Expression von Kollagen-Typ I und III und COMP im

Vergleich zu der Kontrollgruppe (Schnabel et al., 2007). In vitro wurden die Effekte von IGF-I auf OBS-Sehnenkulturen in der Studie von Murphy et al. (1997) untersucht. Die behandelten Kulturen enthielten mehr Fibroblasten, welche auch metabolisch aktiver waren verglichen mit der unbehandelten Gruppe. In vivo Studien, wie die von Waselau et al. (2008), zeigten, dass eine PRP-Injektion in M. interosseus medius-Läsionen bei Rennpferden keine Komplikationen hervorruft. Nach der Behandlung kehrten alle Pferde zu Rennleistung zurück.

Zu den regenerativen Therapien gehört außerdem die Behandlung mit Stammzellen. Friedenstein et al. (1976) isolierte Zellen aus dem Knochenmark und bezeichnete diese als mesenchymale Stromazellen (MSC, mesenchymal stromal cell). Caplan (1991) hingegen beschrieb diese Zellen als „mesenchymale Stammzellen“. Hierbei handelt es sich um eine heterogene Zellpopulation, die in der Lage ist, verschiedene Zelltypen zu differenzieren, wie z.B. Chondrozyten, Myoblasten oder Tendozyten (Prockop 1997). Stammzellen sind pluripotent, da sie die Kapazität besitzen sich in Knorpel-, Knochen- und Fettgewebe zu differenzieren. Sie exprimieren außerdem Matrixproteine wie Fibronectin, Perlecan, Kollagen IV und β_1 -Integrin (Goletz 2009). MSC produzieren Wachstumsfaktoren, Interleukine und andere Zytokine (Ryan et al. 2005, Taylor et al. 2007). In der Studie von Smith et al. (2003) wurden zum ersten Mal MSC aus dem Knochenmark von Pferden isoliert, in vitro kultiviert und dann in Sehnenschäden injiziert. Hierbei wurden autologe MSC verwendet, das heißt jedes Pferd wurde mit seinen eigenen Stammzellen behandelt. Bei den Sehnenschäden handelte es sich um natürlich entstandene „core lesions“ der oberflächlichen Beugesehne. „Core lesions“ sind Verletzungen die im Zentrum einer Sehne liegen. Eine Reihe weiterer Studien wurde durchgeführt, in denen Schäden der OBS mit MSC behandelt wurde. 168 Rennpferde mit akuten Läsionen in der OBS, wurden mit autologem MSC behandelt. Nach 48-wöchigem Rehabilitationsprogramm trat bei 18% der Pferde ein Rezidiv auf (Smith 2008). Histologische Untersuchungen nach einer MSC-Injektion bzw. einer Placeboinjektion in kollagenaseinduzierte Sehnenschäden wurden in der Studie von Crovace et al. (2007) gemacht. Nach 21 Wochen zeigte sich in den mit MSC behandelten Sehnen eine normale Sehnenarchitektur mit Kollagen Typ I. Bei den Sehnen, die mit einem Placebo behandelt wurden, konnte eine Organisation mit Kollagen Typ III beobachtet werden. Die Anwendung von MSC bei einer Desmitits des M. interosseus medius wurde bisher nur in wenigen klinischen Studien untersucht. Herthel (2001) behandelte in seiner Studie 100

Pferde mit natürlichen entstandenen Desmitiden des M. interosseus medius mit autologen MSC. In einem Zeitraum von 6 Monaten wurden diese klinisch und sonographisch untersucht. 84% der Pferde kehrten nach diesem Zeitraum zu ihrem ursprünglichen Leistungsstand zurück. Außerdem berichtete der Autor über eine verbesserte Qualität des Faserverlaufs, eine Abnahme des Querschnittes und eine Zunahme der Echogenität. In der Studie von Rosenbrock et al. (2004), die ähnlich durchgeführt wurde, kehrten von 24 Pferden, 75% nach 6 Monaten zu ihrem vorherigen Trainingsstand zurück.

2.6. Ultrastrukturelle Untersuchungen an Sehnen

Der Durchmesser der Kollagenfibrillen variiert (Demel et al. 1982) in Abhängigkeit von der Gewebeart und dem Entwicklungsstadium (Parry et al. 1978a, Parry et al. 1984). Kollagenfibrillen in Sehnen von ausgewachsenen Pferden lassen sich in 3 Kategorien einteilen: klein (< 40nm), mittlere Größe (40-120nm) und groß (> 120nm) (Goodship et al. 1994).

Die Morphologie der Kollagenfibrillen von Achillessehnen von Mäusen wurde in der Studie von Rigozzi et al. (2010) elektronenmikroskopisch untersucht. Es wurden Unterschiede zwischen 2 Mäusestämmen (B6 und C3H) in der Sehnenstruktur nachgewiesen. Die Beziehung zwischen der Verteilung der Kollagenfibrillen und dem funktionellen Verhalten von Sehnen sollte dargestellt werden. In früheren Studien wurde bisher nachgewiesen, dass ein großer fibrillärer Radius mit einer höheren Steifheit und Stärke der Sehne einhergeht (Parry 1988, Battaglia et al. 2003, Liao et al. 2003, Lin et al. 2004). Battaglia et al. (2003) wies hingegen nach, dass heilende Sehnen mit einem kleineren fibrillären Radius, Stärke mittels eines erhöhten fibrillären Flächenanteils erreichen. Damit wies er nach, dass auch andere Faktoren außer dem Fibrillenradius für die Sehnenstärke mitverantwortlich sind. In der Studie von Mikic et al. (2001) konnte ein Defizit an „growth differentiation factor 5“ (GDF-5) in Achillessehnen mit einer reduzierten funktionellen Belastbarkeit in Verbindung gebracht werden, obwohl diese Sehnen einen normalen Fibrillenradius und eine normale Flächenfraktion zeigten. Das wiederum zeigt, dass die nicht-kollagene Matrix ebenso ein kausaler Faktor für Sehnenschäden sein kann. Reed et al. (2003) und Rigozzi et al. (2009) fanden heraus, dass die nicht-kollagene Matrix, die Proteoglykane (PG), für die

Kraftverteilung und die Struktur des Sehngewebes verantwortlich ist. Eine hohe Stressbelastbarkeit der Sehnen wird mit einem hohen Prozentsatz an großen Fibrillen erreicht und die creep-inhibition (Hemmung einer Überdehnung) wird mit einem hohen Prozentsatz an kleinen Fibrillen erreicht (Parry et al. 1978b, Parry 1988, Derwin et al. 1999). Negativ geladene PG-Seitenketten (Glycosaminoglykane) erhöhen den osmotischen Druck und verbessern somit die Gewebshydratation (Yoon et al. 2005). Eine angemessene Gewebshydratation wiederum separiert die Fibrillenbündel voneinander und minimiert damit die Scherkräfte (Berenson et al. 1996). Das heißt also, dass die PG's das Gewebe „schmierern“ und interfibrilläres „Gleiten“ erleichtern. Das Ergebnis ist ein konformeres Gewebe.

Rigozzi et al. (2010) wählte für seine Studie die beiden Mäusestämme, B6 und C3H. Die Körpergröße und das Körpergewicht, sowie die Skelettgröße sind bei beiden Stämmen gleich. Sie haben jedoch morphologisch unterschiedliche skelettale Züge (Phenotypen), die mechanischen Fähigkeiten im Knochen hingegen sind ähnlich. Die Hypothese dieser Studie ist, dass es Unterschiede in der Sehnenarchitektur bei den 2 Genotypen trotz ähnlichem makroskopisch mechanischem Verhalten gibt. Die Studie soll ein Vergleichsmodell für die Erforschung der Struktur-Funktion-Beziehung der Sehne darstellen. Der Fokus liegt auf dem fibrillären Radius und dem Fibrillen-Fibrillen-Kontakt. Die funktionelle Verteilung von Kollagen und Proteoglykanen galt es zu bestimmen.

Jeweils 10 Achillessehnen von weiblichen Tieren der 2 Mäustestämme wurden in dieser Studie untersucht. B6-Mäuse haben eine geringe Knochenmasse und C3H-Mäuse haben eine hohe Knochenmasse. Folgende Parameter wurden bestimmt:

- 1) Kollagen-Morphologie (klassisch)
 - a. Kollagenfibrillen-Radius
 - b. Kollagenflächenanteil = $\frac{\text{Total-Fibrillenfläche}}{\text{Total-Bildfläche}}$
- 2) Laterale Beziehung der Kollagenfibrillen (morphometrisch)
 - a. Interfibrillärer Abstand
 - b. Spezifische Fibrillenoberfläche = $\frac{\text{Umfang aller Fibrillen}}{\text{Total-Bildfläche}}$
 - c. Fibrillenkontaktfläche

Die Austauschfläche zwischen den Fibrillen und der extrazellulären Matrix wurde außerdem berechnet. Mittels der GAG-Analyse wurde der Gehalt an Glycosaminoglykanen (GAG) bestimmt. Hierfür wurden die Sehnen gewogen, danach für 16 Stunden in einem Puffer verdaut und der GAG-Gehalt anschließend spektrophotometrisch gemessen. Zuletzt wurden noch biomechanische Tests durchgeführt. Hierbei wurden der ultimative Stress, das elastische Modul und bei welcher Belastung die Sehne reißt, bestimmt.

Die Ergebnisse der Kollagenfibrillen-Strukturanalyse zeigten, dass die Flächenfraktion, der Kollagenabstand und der Fibrillenkontakt bei beiden Stämmen sehr ähnlich waren. Die Kollagenfibrillen der C3H-Achillessehnen haben einen größeren Radius (C3H: $95,7\text{nm} \pm 7\text{nm}$; B6: $79,7\text{nm} \pm 9,7\text{nm}$) und die der B6-Achillessehnen eine größere Fibrillenoberfläche (C3H: $0,015\text{nm}^2 \pm 0,001\text{nm}^2$; B6: $0,017\text{nm}^2 \pm 0,003\text{nm}^2$). Außerdem haben diese Sehnen mehrere Fibrillen mit kleinem Radius. In der GAG-Analyse zeigte sich bei den B6-Mäusen eine höhere GAG-Konzentration. Die biomechanischen Tests bewiesen eine ähnliche Sehnenlänge und einen ähnlichen durchschnittlichen ultimativen Stress. Die durchschnittliche Belastung, bei der die Sehnen rissen, war ebenfalls bei beiden Stämmen ähnlich. Bei den C3H-Sehnen zeigte sich jedoch ein höheres elastisches Modul.

Die Ergebnisse lassen zunächst darauf schließen, dass Sehnen mit einem größeren Kollagenfibrillen-Radius und einer niedrigeren Fibrillen-Oberfläche ein höheres elastisches Modul besitzen. In früheren Studien wurden die Morphologie der Kollagenfibrillen und die PG's getrennt betrachtet. Das heißt, die funktionelle Interaktion zwischen diesen beiden wurde vernachlässigt. In der Studie von Rigozzi et al. (2010) hingegen wurde beides miteinander verknüpft, weil sie sich gegenseitig beeinflussen. Und zwar in der Gewebebildung und in der mechanischen Funktion. C3H-Sehnen sind steifer als die von B6, trotz ähnlichem Kollagenflächenanteil. Hieraus läßt sich ableiten, dass die größeren Fibrillen verantwortlich für eine steifere Sehne sind. B6 hat ein niedrigeres elastisches Modul, was ebenfalls durch die größeren Fibrillen von C3H zu erklären ist und außerdem durch die Interaktion von Fibrillen und PG. Die Menge von PG's in der Sehne korreliert mit der relativen Fibrillenoberfläche. Eine geringere Menge an PG führt zu einem erhöhten elastischen Modul. C3H als Beispiel hat ein hohes elastisches Modul, eine niedrigere Fibrillenoberfläche und geringere Konzentrationen an Sulfatgruppen. Das steht im direkten Kontrast zu anderen Studien. Der Autor ist jedoch der Meinung, dass ein anspruchsvolleres

Modell von der Struktur-Funktion-Interaktion der Sehnen benötigt wird, da C3H zwar ein höheres elastisches Modul als B6 hat, das „Reiss-Verhalten“ aber ähnlich ist. Der interfibrilläre Abstand und die Fibrillen-Fibrillen-Kontaktfläche sind sehr ähnlich in beiden Gruppen. Das heißt, dass es keinen Vorteil in Bezug auf die Fibrillen-Fibrillen-Interaktion (lateraler Kraftaustausch), welche ein höheres elastisches Modul begünstigen könnte, gibt. Der höhere relative GAG-Gehalt in den B6-Achillessehnen sollte eigentlich steifere Sehnen hervorbringen. Das konnte in dieser Studie allerdings nicht nachgewiesen werden, was wiederum in Kontrast mit den restlichen Ergebnissen dieser Studie steht. Die Beziehung von Struktur und Funktion der Sehnen konnte nicht adequat durch PG-vermittelte Kollagenfibrillen-Belastungsverteilung erklärt werden.

In der Studie von Battaglia et al. (2003) wurden ebenfalls Achillessehnen von Mäusen untersucht. Er beobachtete die Stärke der Sehnen während der Heilungsphase auf ultrastruktureller Ebene. Die Stärke einer Sehne wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst: den totalen Kollagengehalt; die mikroarchitektonischen Merkmale, wie etwa die hierarchische Anordnung der Kollagenmoleküle in Mikrofibrillen, Subfibrillen, Fibrillen und Faszikeln; die ultrastrukturellen Merkmale, wie die Größe der Kollagenfibrillen, den Flächenanteil und die Dichte der Fibrillen; die Menge und relative Verteilung der Proteoglykane und Glycoproteine; den Grad an Hydratation und die cross-links des Kollagens (Battaglia et al. 2003). Wie wichtig die einzelnen Parameter während der Heilung einer Sehne sind, wurde bereits in früheren Studien untersucht. Der Durchmesser der Kollagenfibrillen korreliert positiv mit der Sehnenstärke (Derwin et al. 1999; Parry et al. 1978b). Außerdem steigt der Fibrillendurchmesser von der Geburt bis zum Erwachsenenalter in Sehnen von Mäusen- und Rattenschwänzen stetig an (Derwin et al. 1999; Parry et al. 1977; Scott et al. 1981). Dass begleitend zu diesen Veränderungen auch die Stärke der Sehne ansteigt, wurde in den beiden Studien von Derwin et al. (1999) und von Parry et al. (1978) bewiesen. Das viscoelastische Verhalten scheint sich während dieser Zeit auch zu verändern (Haut 1983). Ähnliche Beobachtungen wurden in anderen Geweben gemacht. Die unterschiedliche Stärke in einem medialen Kollateralband und dem vorderen Kreuzband von Hasen beispielsweise, korreliert mit dem Unterschied in dem Fibrillendurchmesser (Hart et al. 1999). Die Hypothese der Studie von Battaglia et al. (2003) lautet: Der Anstieg der Stärke von Sehnen während der Heilung kann durch einen begleitenden Anstieg der

ultrastrukturellen Kollagenfibrillen-Parameter über eine Periode von 6 Wochen bewiesen werden.

Bei 7 männlichen, 8 Wochen alten Mäusen wurden die linken Achillessehnen auf mittlerer Höhe mittels eines 1cm langen vertikalen Schnittes in posteriorer Mittellinie proximal vom Calcaneus durchtrennt. Die rechte Achillessehne diente als Kontrollgruppe. Unter CO₂-Inhalation wurden am Tag 7, 13, 21, 35, 49 und 63 nach Tenotomie Proben entnommen. Mittels biomechanischer Analyse bestimmte man die strukturelle Stärke (max. Last bis zur Ruptur), den Stress bei maximaler Belastung, die strukturelle Steifheit sowie die absorbierte Energie bis zur Ruptur. Elektronenmikroskopische Bilder wurden am 3., 5., 7., 12., 14., 28. und 42. Tag nach Tenotomie erstellt. 11 Fotos pro Sehne wurden angefertigt, eingescannt und mit dem Programm ImagePro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) bearbeitet. Folgende 3 Parameter wurden bestimmt: der durchschnittliche Fibrillendurchmesser, die Fibrillenanzahl pro mm² und der Fibrillenflächenanteil. Jeweils 2500 Fibrillen pro Tier und Zeitpunkt wurden ausgemessen.

Die Ergebnisse zeigten, dass der Durchmesser der Fibrillen von heilenden Sehnen an allen Zeitpunkten signifikant kleiner war als der Durchmesser der Fibrillen von intakten Sehnen. Innerhalb der Gruppe der heilenden Sehnen zeigten sich über die 6-Wochen-Periode keine signifikanten Veränderungen. Die Anzahl der Fibrillen stieg stetig an, v.a. zwischen dem 12. und 14. Tag. Der Fibrillenflächenanteil der heilenden Sehnen ist nach 6 Wochen immer noch signifikant kleiner. Die prozentuale fibrillenbedeckte Fläche stieg jede Woche um 5% an. Die Steifheit und Stärke der heilenden Sehnen war nach 5-7 Wochen mit der der Kontrollgruppe vergleichbar. Der Autor nimmt an, dass der Fibrillenflächenanteil und die Stärke der Sehnen nach 9 Wochen denen der Kontrollgruppe gleichen.

Das Resultat dieser Studie von Battaglia et al. (2003) ist, dass der Anstieg der Fibrillengröße hauptsächlich für den Anstieg der Sehnenstärke verantwortlich ist.

Die Studie von Mikic et al. (2001) untersucht die Ultrastruktur, die mechanischen Eigenschaften und die Zusammensetzung von Achillessehnen von Mäusen mit einem Defizit an GDF-5. Die sehr seltene humane Erkrankung „acromesomelic dysplasia“ basiert auf einer Genmutation in diesem Faktor. Das Krankheitsbild zeigte verkürzte Knochen in den Beinen

sowie schwere Dislokationen der Knie. Es ist unbekannt, ob diese Dislokationen aufgrund von Defekten in der Formation des Gelenkes oder von Abweichungen in den Sehnen und Bändern auftreten. Es wird angenommen, dass Mäuse mit einem Defizit an GDF-5 Unterschiede in der Ultrastruktur, den mechanischen Eigenschaften und dem Aufbau der Sehnen zeigen.

Daher untersuchte man insgesamt 8 Mäuse, 4 mit und 4 ohne Genmutation. Der Vergleich mit Mäusen ohne diese Genmutation zeigte einen um 41% geringeren Gehalt an Hydroxyprolin/DNA. Wohingegen der Glycosaminoglycangehalt (GAG/DNA) keinen signifikanten Unterschied zeigte. Die maximale Belastung bis zur Ruptur der Sehne war signifikant niedriger bei den mutierten Sehnen. Im Elektronenmikroskop untersuchte man 1200 Kollagenfibrillen pro Maus. Es wurden keine signifikanten Unterschiede im durchschnittlichen Fibrillendurchmesser, in der Fibrillenanzahl pro Flächeneinheit und in dem Fibrillenvolumenanteil nachgewiesen. Der mittlere Fibrillendurchmesser war bei den mutierten Mäusen geringer als bei der Kontrollgruppe. Die Dichte der Fibrillen mit kleinem Durchmesser stieg bei den mutierten Mäusen wesentlich stärker an als bei der Kontrollgruppe. Die Dichte der großen Fibrillen zeigte jedoch genau das Gegenteil, hier war der Anstieg bei der genmutierten Gruppe deutlich geringer. Die Kollagenfibrillen der Mäuse mit einem GDF-5-Defizit zeigten eine größere Prävalenz an Polymorphismus.

Die Ergebnisse belegen, dass eine erhöhte Laxizität in Sehnen und Bändern in Individuen mit einem Defizit an GDF-5, höchstwahrscheinlich die Ursache für Dislokationen in Gelenken ist.

Mittels Elektronenmikroskopie wurde in der Studie von Reed und Iozzo (2003) die Rolle des Decorin in Kollagenfibrillogenese und Hauthomöostase untersucht. Decorin ist ein Proteoglykan, welches eine wichtige Rolle in der Entwicklung und des Zusammenbaus von Gewebe spielt. Mäuse mit einem defekten Decorin-Gen ($Dcn^{-/-}$) haben eine brüchige Haut und abnorme Sehnen-Phenotypen. Die Ursache hierfür sind Veränderungen in Kollagenfibrillen. Elektronenmikroskopische Bilder von dermalem Kollagen von Mäusen mit einem intakten Decorin-Gen und von Mäusen mit einem defekten Decorin-Gen zeigen auffallende Unterschiede. Letztere zeigen sehr irreguläre Durchmesser der Kollagenfibrillen und eine abnormale Organisation der Fibrillen. Das wird wahrscheinlich durch ein unkontrolliertes Verschmelzen von dicken und dünnen Fibrillen hervorgerufen. Der durchschnittliche Durchmesser der Fibrillen ist allerdings bei beiden Mäusen ähnlich. Der

maximale Durchmesser der Kollagenfibrillen der Mäuse mit defektem Gen ist jedoch dreimal so groß, wie der der gesunden Mäuse. Außerdem zeigten die Fibrillen irreguläre und sich vorwölbende Umrisse. Die Bedeutung der Proteoglykane bei der Kontrolle der Fibrillenfusion wurde bereits von Graham et al. (2000) nachgewiesen. Die $Dcn^{-/-}$ Mäuse besitzen zwar andere Proteoglykane, doch diese können das fehlende Decorin nicht kompensieren. Die dehnbare Kraft und die Dehnbarkeit waren bei diesen Mäusen ebenfalls deutlich reduziert.

Die strukturelle Basis für die größenbezogenen mechanischen Eigenschaften der Chordae tendineae der Mitralklappe untersuchten Liao und Vesely (2003) unter anderem mittels Elektronenmikroskopie. Die 2 Hauptpunkte lagen zum einen in der Bestätigung und Verdeutlichung der größen- und typbezogenen Variationen in den mechanischen Eigenschaften der Chordae tendineae der Mitralklappe und zum anderen in der Charakterisierung des Wellenmusters der Kollagenfibrillen und der fibrillären Ultrastruktur. Das sollte der Darstellung der strukturellen Basis für die mechanischen Variationen dienen. Es wurden 52 Chordae von 8 Herzen von Hampshire/Yorkshire Schweinen untersucht. Die Chordae teilen sich auf in Grenz-/Basis- und Strebenchordae. Der Durchmesser der Chordae wurde mit einem kalibrierten optischen Mikroskop gemessen. Anschließend berechnete der Autor die Durchschnittsfläche mit der Formel $A = \pi r^2$. Der Kollagencrimp wurde mit einem Lichtmikroskop bestimmt. Im Elektronenmikroskop fertigte man 3 Fotos pro Chorda an und mit dem Programm Scion Image (Scion Corporation, MD) wurden der fibrilläre Durchmesser und die fibrilläre Dichte bestimmt, sowie die prozentuale Fläche, welche von Fibrillen bedeckt ist, bestimmt. Außerdem wurden die Chordae biomechanisch untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass dicke Chordae dehnbarer und dünne Chordae steifer sind. Die Streben-Chordae sind am dicksten und die Grenz-Chordae am dünnsten. Die dünneren Chordae haben eine höhere crimp-Periode. Die Fibrillendichte in den Basis- und Strebenchordae ist deutlich geringer. Die Grenzchordae haben einen kleineren Fibrillendurchmesser, aber eine größere durchschnittliche Fibrillendichte. Die prozentuale fibrillenbedeckte Fläche ist bei allen Chordae gleich. Die Ergebnisse zeigen, dass die Mitralklappen-Chordae sich wie fast alle konventionellen Materialien verhalten. Die dicken Chordae sind dehnbarer, weil sie mehr gewellt sind und ihre Periode kleiner ist. Der größere durchschnittliche Fibrillendurchmesser, die niedrigere Fibrillendichte und die breitere Verteilung der Fibrillengröße der Streben-Chordae ist das Ergebnis der größeren mechanischen Belastung.

Diese verschiedenen Studien über ultrastrukturelle Untersuchungen an unterschiedlichen Geweben zeigen im Allgemeinen, dass die Ausmessung von elektronenmikroskopischen Bildern eine hilfreiche Methode ist, um die Ultrastruktur zu ermitteln und um daraus Rückschlüsse über die Funktion und Belastbarkeit einer Sehne zu ziehen.

3. Material und Methode

3.1. Pferde

In dieser Studie wurden insgesamt 8 Gliedmassen untersucht, 4 Vorder- und 4 Hintergliedmassen. Die Gliedmassen stammten von 8 Schlachtpferden (3 Wallache, 5 Stuten; durchschnittliches Alter: 14 ± 5 Jahre; Landschlachtereier Bernd Thies, Hemdingen), welche nicht aufgrund einer Lahmheit geschlachtet wurden. Die Fesselträger wurden vor der Probenentnahme eingehend untersucht. Sofern sie sich in einem physiologisch gesunden Zustand befanden, wurden sie in die Studie mit einbezogen.

3.2. Probenentnahme

Zur Entnahme der Fesselträgerproben wurden eine anatomische Pinzette und ein 21er Skalpell benutzt. Als erstes entfernten wir die Haut, anschließend die oberflächliche und tiefe Beugesehne, sowie das Unterstützungsband der tiefen Beugesehne komplett. An 8 verschiedenen Stellen wurden Proben entnommen.

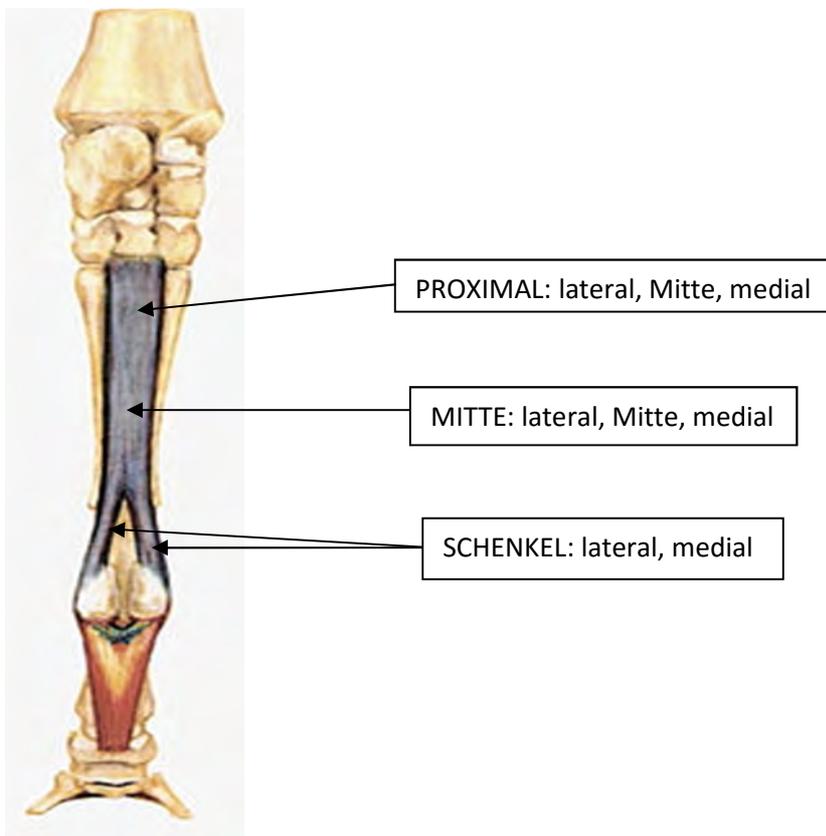


Abb. 7 Orte der Probenentnahme

Im Bereich des Fesselträgerursprungs im medialen, mittleren und lateralen Bereich, im Fesselträgerkörper ebenfalls im medialen, mittleren und lateralen Bereich und jeweils eine Probe vom medialen und lateralen Schenkel (siehe Skizze).

Die Proben für die Elektronenmikroskopie waren maximal 2x2mm groß. Sie wurden direkt nach der Entnahme in einer Lösung aus 3% Glutaraldehyd/0,05ml Phosphatpuffer eingelegt. Da die Lösung höchstens 1mm in das Gewebe eindringt, durften die Proben nicht größer als 2x2mm sein. Die Fixierlösung wurde folgendermaßen zusammengestellt: 12ml 25% Glutaraldehyd, 25ml 0,2m Phosphatpuffer und 100ml Aqua dest.

3.3. Herstellung der Fesselträgerquerschnitte

Die Fesselträgerquerschnitte wurden im Labor des Instituts für Anatomie und Experimentelle Morphologie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (Prof. Dr. med. Udo Schumacher) angefertigt. Vor der Einbettung wurden die Gewebestücke nachfixiert. Die Lösung hierfür besteht aus 2% OsO₄ (Osmiumtetroxid) und 0,2m Phosphatpuffer/Saccharose zu gleichen Teilen. Das Osmiumtetroxid ist wichtig für die Kontrastierung der Strukturen. Sie wird durch die Elektronendurchlässigkeit bestimmt. Die Proben bleiben eine Stunde in der Lösung.

Der nächste Schritt ist die Entwässerung. Das geschieht in einer aufsteigenden Alkoholreihe. Das Protokoll lautet: Je 10-15min in 35%, 50%, 70%, 96% und 100%igem Ethanol, unvergällt.

Für die Einbettung im Kunstharz werden die Gewebeprobe 30 Minuten lang in Propylenoxid eingebracht. Danach werden sie in eine Propylenoxid/Glycidether-Mischung (Mischverhältnis 1:1) für 60 Minuten umgebettet. Anschließend verbleiben die Proben für weitere 10 Stunden in der gleichen Lösung (Mischverhältnis 1:3), danach in reinem Glycidether. Daraufhin erfolgen die Polymerisation und die Aushärtung des Gewebeblocks über Nacht bei 60°C in speziellen Einbettungsformen.

Als nächstes folgt die Herstellung des Semidünnschnitts. Zuvor wird das überschüssige Kunstharz um die zu untersuchende Probe von den Kunstharzblöcken entfernt. Als erstes erfolgt das am Schleifstein und dann unter dem Mikroskop mit einer Rasierklinge. Hierbei wird darauf geachtet, dass eine quadratisch bis rechteckige Schnittfläche geschaffen wird. Sobald sich nur noch ein dünner Saum von Kunstharz an der zu schneidenden

Gewebeoberfläche befindet, wird diese mittels eines Diamantmessers, eingesetzt in ein Ultramikrotom (Reichert-Jung 2050 SuperCut), unter dem Mikroskop semidünn geschnitten. Die geschnittenen Gewebestücke sind 1µm dick und werden auf einer Wasserfläche (Aqua dest) aufgefangen, welche bis an die Schneidkante des Glasmessers reicht (A.F. Holstein und U. Wulfhekel, 1970). Mit Hilfe einer Platinöse werden die Gewebeschnitte zusammen mit einem Wassertropfen in Blockschälchen übertragen.

Die Färbung der Semidünnschnitte mit Toluidin ist der nächste Schritt. Die Schnitte werden dafür auf eine Wärmeplatte von 60-70°C im Wasserbad schwimmend verbracht. Sie werden ebenfalls im Wasserbad gefärbt. Die Farbmischung hierfür besteht aus 2 Teilen 1%igem Pyroidinrot und 8 Teilen 1%igem Toluidinblau. Die Wasserschälchen, in welchen sich die Proben befinden, werden mit der Farbmischung befüllt. 3 bis 6 Minuten verbleiben die Schnitte im Färbebad. Um die überschüssige Farbe auszuwaschen, werden die Proben nacheinander in 3 separate Schalen mit Aqua dest eingebracht. Anschließend werden die Proben auf einen Objektträger gelegt, getrocknet und mit „DePeX, Eindeckmedium Gurr®“ eingedeckelt. Die Semidünnschnitte konnten anschließend unter dem Lichtmikroskop betrachtet werden. Dieser Schritt dient dazu geeignete Areale (scharfe Kollagenfibrillen im Querschnitt) auszuwählen und herauszutrimmen.

Der Ultradünnschnitt erfolgt am Ultramikrotom. Hier wird ein Diamantmesser verwendet. Die Schnitte haben eine Dicke von 80-100nm. Die geringe Dicke des Präparats gewährleistet die Absorption der Elektronen. Mit einem feinen Metallnetz aus Kupfer (Grid) wurden die angefertigten Schnitte aus dem Wasserbad gefischt. Die Grids mit den Schnitten wurden dann mit Schwermetallen nach Reynolds kontrastiert. Hierfür wurden die Grids für 20 Minuten in eine 1%ige Uranylacetat-Lösung verbracht. Anschließend wurden die Grids für 5 Minuten in eine 0,7%ige Bleicitrat-Lösung gegeben. Nach der vollständigen Trocknung konnten die Schnitte unter dem Transmissionselektronenmikroskop betrachtet werden.

Die Schnitte wurden unter das Transmissionselektronenmikroskop Philips CM 100 gelegt und mit einer analogen Kamera schwarz-weiße Fotos gemacht. Die Vergrößerung der Bilder betrug 1:30000. Der Film war ein „Maco EM-Film“ (8,3 x 10,2cm, Maco Photo Products, EM-Empfindlichkeit: 20 x 200kV). Mit dem Vergrößerungsgerät "Durst Laborator 1200" (Abstand: 56cm, Blende: 8, Belichtungszeit: 4s) wurden diese Bilder in der Dunkelkammer auf das Fotopapier (Marke „work“ by Tetenal; B/W Paper (PE/RC), 3 normal, 310 glossy, 18 x 24cm)

entwickelt. Hier wurden die Bilder als erstes in das Entwicklerbad („Eukobrom“, SW-Entwicklerbad der Firma Tetenal), dann in das Fixierungsbad („Superfix Plus“, Express Fixierbad der Firma Tetenal) und als letztes in ein Wasserbad gelegt. Anschließend wurden die Bilder noch getrocknet.

3.4. Bearbeitung mit dem Programm Image J

Für die Bearbeitung wurden die elektronenmikroskopischen Bilder der Fesselträgerquerschnitte eingescannt. Hierzu benutzten wir den Scanner „Dell All in One Center – 968 AOI Printer. Die Scanqualität betrug 300 DPI. Das entspricht einer Auflösung von 300 Pixel pro 2,54cm (1 Inch). Die Bilder haben eine Größe von 18x24cm.

Das Programm „Image J“, welches im Internet frei zugänglich ist (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>), nutzten wir für die Auswertung unserer Bilder. Vor der Bildbearbeitung wurde die Skalierung mit Hilfe des angegebenen Maßstabes innerhalb des Bildes festgelegt. Hier entsprachen 352,78 Pixel einem Mikrometer.

Der erste Schritt der Bildbearbeitung beinhaltete das sogenannte „Binary“. Dabei ordnet der Computer die unterschiedlichen Graustufen innerhalb des Bildes entweder zu weiß oder schwarz, so dass das bearbeitete Bild nur noch aus schwarzen und weißen Pixeln besteht.

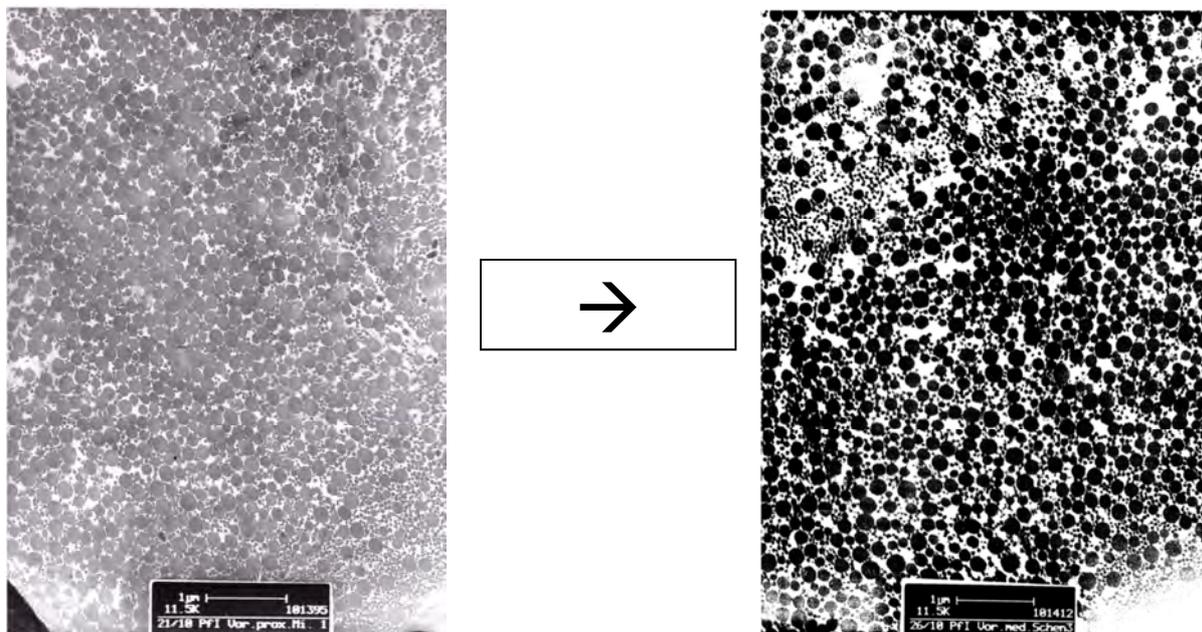


Abb. 8 Beispiel für das Binary

Im zweiten Schritt wählten wir einen Bereich von einer Größe von $1,5 \times 1,5 \mu\text{m}$, also $2,25 \mu\text{m}^2$, aus. Dieser Bereich wurde so ausgewählt, dass sich nur quer angeschnittene Fibrillen innerhalb dieser Fläche befanden. Daraufhin führten wir die Funktion „Watershed“ durch. Hierbei fügt das Programm bei sich berührenden Fibrillen eine Grenze zur Trennung dieser Beiden ein.

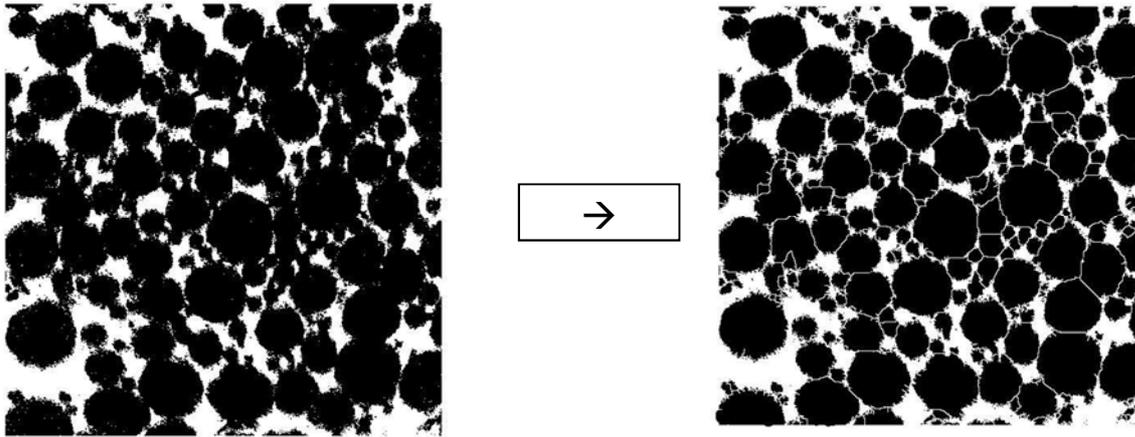


Abb. 9 Beispiel für das Watershed

Daraufhin beginnt die Analyse des ausgewählten Bildbereichs. Das Programm bestimmt folgende Parameter:

- Anzahl der Fibrillen
- absolute (in μm^2) und relative (in %) Fläche, die von Fibrillen bedeckt ist
- Fläche jeder Fibrille in μm^2
- durchschnittliche Fläche in μm^2 aller Fibrillen
- Durchmesser jeder Fibrille in μm
- durchschnittlicher Durchmesser in μm aller Fibrillen
- Umfang jeder Fibrille in μm
- durchschnittlicher Umfang in μm aller Fibrillen

Diese Daten wurden in Excel weiter bearbeitet. Für die statistische Auswertung wurden der Mittelwert, die Standardabweichung, der Median, sowie das 1. und 3. Quartil bestimmt.

Außerdem berechneten wir die Fibrillendichte, indem die Fibrillenanzahl durch die Fläche des Bildes ($2,25\mu\text{m}^2$) dividiert wurde.

3.5. Statistik

Basis der nachfolgenden statistischen Analysen stellen Messungen von Fläche, Umfang und Durchmesser der Fibrillen bei 8 Pferden dar. Bei jeweils 4 Pferden wurden die Messungen entweder an einem Vorder- oder einem Hinterbein vorgenommen. Die Messungen erfolgten an acht verschiedenen Lokalisationen: proximal – lateral, proximal – medial, proximal – Mitte, Mitte – lateral, Mitte – medial, Mitte – Mitte, lateral – Schenkel und medial – Schenkel.

Pro Bein und Lokalisation sind jeweils vier Bilder für die Datenerhebung einbezogen worden. Die innerhalb eines Bildes vorzufindende Anzahl der Fibrillen, deren Fläche, Durchmesser und Umfang wurden bestimmt. Insgesamt lagen Kennwerte zu 68.303 Fibrillen vor. Da auf Grundlage einer solch hohen Zahl von Messungen statistische Analysen mit praxisrelevantem Aussagegehalt kaum möglich sind – selbst minimale Unterschiede zwischen den Fibrillen würden sich aufgrund der hohen Fallzahl als statistisch signifikant erweisen – stellen in den nachfolgenden Ergebnisdarstellungen nicht die Fibrillen selbst, sondern deren Durchschnittswerte pro Bild die zu analysierende Stichprobe dar. Somit stehen pro Lokalisation insgesamt jeweils 16 Fälle (4 Bilder pro Lokalisation von je 4 verschiedenen Beinen) für die Auswertungen zur Verfügung. Die Werte für die Fläche, den Umfang und den Durchmesser dieser 16 Fälle ergeben sich jeweils aus dem Durchschnitt aller Fibrillen des entsprechenden Bildes. Darüber hinaus ist der Fibrillenflächenanteil und die Fibrillendichte für jedes einzelne Bild (Fall) errechnet worden.

Für den Vergleich des Fibrillenflächenanteils, der Fibrillendichte, der Fibrillenfläche, des Fibrillenumfangs und des Fibrillendurchmessers der verschiedenen Lokalisationen von Vorder- und Hinterbein wurden eine Reihe statistischer Kennwerte – der Mittelwert, das Minimum, das Maximum, der Median und die Standardabweichung – berechnet. Für die Prüfung statistisch bedeutsamer Unterschiede von Vorder- und Hinterbein kam ein paarweiser Mittwerttest (Anova) mit anschließender Alpha-Fehler-Adjustierung (aufgrund des multiplen Testens) mit der Methode nach Hommel zur Anwendung. Lag zu einem der zu

untersuchenden Kennwerte (z.B. der Fläche) keine Varianzhomogenität zwischen Vorder- und Hinterbein vor, so ist die Varianzanalyse unter Einbeziehung eines robusten Schätzverfahrens (Sandwich) durchgeführt worden. Das Verfahren von Hommel ist gewählt worden, da es sich in einem Test verschiedener Adjustierungsmethoden der klassischen Bonferonie-Korrektur als überlegen zeigte (Blakesley et al. 2009). Dies gilt insbesondere dann, wenn die zu vergleichenden Teilstichproben keine Varianzhomogenität aufweisen.

In einem weiteren Analyseschritt wird aufgezeigt, wie stark die Kennwerte Fläche, Umfang und Durchmesser pro Lokalisation und Bein variieren. Hierzu wurden der Mittelwert, der Median, das Maximum, das Minimum, die Varianz, das erste und dritte Perzentil und der mittlere Quartilsabstand (MQA) berechnet. Um eine erste optische Veranschaulichung der Variation in den vorliegenden Daten zu ermöglichen, sind eine Reihe von Box-Plots erstellt worden. Diese geben den Bereich zwischen dem ersten und dem dritten Quartil wieder. Belastbare statistische Tests auf Varianzunterschiede erfolgen mit Hilfe des Levene-Tests. Da hierfür im Gegensatz zum Quartilsabstand (Box-Plot) alle Fälle betrachtet werden (auch Extremwerte, welche sich per definitionem außerhalb des ersten bis dritten Quartils befinden) ist nicht auszuschließen, dass man bei Betrachtung der Ergebnisse beider Verfahren zu unterschiedlichen Schlussfolgerungen kommt. Da der Levene-Test im Gegensatz zu dem Vergleich der Quartilsabstände ein hinreichend geprüftes und häufig angewandtes statistisches Instrument darstellt, werden im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit die Ergebnisse des Levene-Tests als die valideren erachtet.

Die Aufbereitung der Daten, die Berechnung von Kennwerten (wie z.B. Mittelwerte, Varianzen, Quartile, usw.) sowie die Durchführung der Levene-Tests erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS in der Version 15. Alle anderen Analysen als auch die Erstellung der Forest- bzw. Box-Plots sind mit dem freien Statistikprogramm R durchgeführt worden.

Bei der Bewertung der statistischen Signifikanz ist jeweils ein Niveau von $p < 0,05$ zugrunde gelegt worden. Das heisst alle Ergebnisse mit $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

4. Ergebnisse

Es wurden insgesamt 68302 Fibrillen gezählt und ausgemessen.

4.1. Fibrillenflächenanteil

Der Anteil der Fibrillenfläche im Vergleich zum Anteil der nicht-kollagenen Matrix liegt am Hinterbein zwischen 61,4 und 69,7% und am Vorderbein zwischen 54,5 und 62,3%. Der Kollagengehalt ist somit am Hinterbein höher als am Vorderbein. Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte, den Median, das Minimum, das Maximum und die Standardabweichungen der Verteilung des Fibrillenflächenanteils an den 8 verschiedenen Lokalisationen.

	Vorderbein						Hinterbein					
	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD
proximal - lateral	62,1	50,5	72,8	63	16	7,5	64,9	44,7	81,5	63,4	16	10,5
proximal - medial	62,3	50,4	76,5	61,6	16	9,3	69,7	44,7	86,2	73	16	10,8
proximal - Mitte	54,5	38,9	67,5	54,9	16	10	66,2	53,6	75,5	66,7	16	6,8
Mitte - lateral	55,7	38,7	76,3	55,5	16	11,4	68,6	48	82,4	68,6	16	8,4
Mitte - medial	58,3	38,3	75,6	57,2	16	10,5	61,4	47,9	81	62,8	16	9,6
Mitte - Mitte	59,6	38	71,1	63,3	16	10,5	62	39,9	74,3	64,8	16	10,8
lateral - Schenkel	61,5	48,1	75,3	59,7	16	7,8	65,5	38	82,6	66,7	16	12,6
medial - Schenkel	58,3	37	75,4	60,9	16	12,4	63,5	45,7	73,8	65,9	16	8,4
Gesamt	59	37	76,5	58,5	128	10,1	65,2	38	86,2	65,7	128	10

Tab. 1 Flächenanteil der Fibrillen in % nach Lokalisation

Die Lokalisationen mit dem höchsten Fibrillenflächenanteil sind am Hinterbein „proximal medial“ und „Mitte lateral“ und am Vorderbein „proximal lateral“ und „proximal medial“. Den geringsten Fibrillenflächenanteil zeigen die Lokalisationen „proximal Mitte“ am Vorderbein und „Mitte Mitte“ und „Mitte medial“ am Hinterbein. Die graphische Darstellung des kollagenen Anteils am Vorder- und Hinterbein zeigt Abbildung 10.

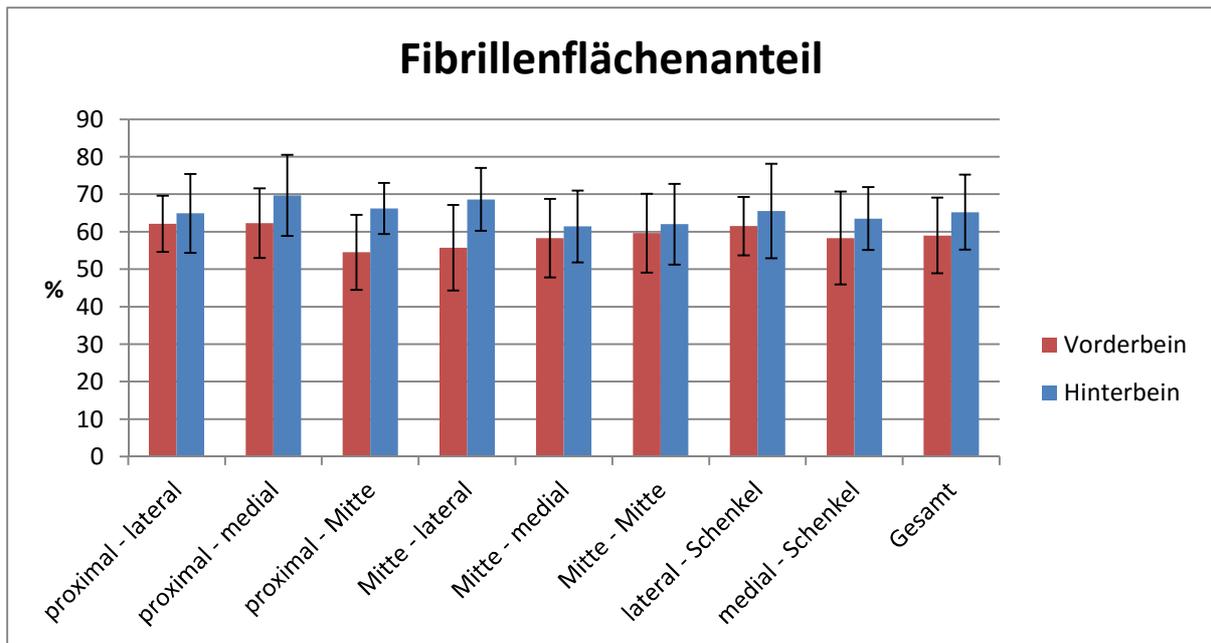


Abb. 10 Fibrillenflächenanteil in % am Vorder- und Hinterbein, Mittelwert \pm SD

Die Abbildungen 11 und 12 sind Beispiele für Ausschnitte aus unterschiedlichen Lokalisationen des Fesselträgers. Die Lokalisation mit dem geringsten Fibrillenflächenanteil (Abb. 11) und die mit dem höchsten Fibrillenflächenanteil (Abb. 12).

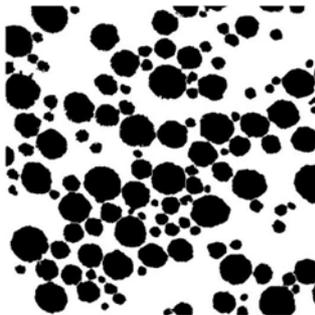


Abb. 11 Vorderbein proximal Mitte

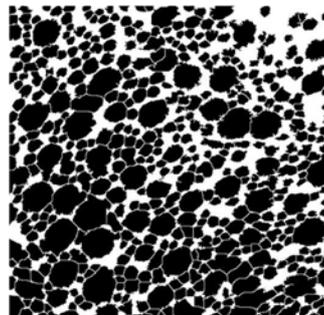


Abb. 12 Hinterbein proximal medial

Der Vergleich der Lokalisationen am Vorder- und am Hinterbein im Bezug auf den Fibrillenflächenanteil ist in Tabelle 2 dargestellt. Er zeigt an 2 Lokalisationen signifikante Unterschiede. Der Fibrillenflächenanteil an der Lokalisation „proximal Mitte“ und „Mitte lateral“ ist am Hinterbein signifikant höher als der am Vorderbein.

	Estimate	Std. Error	t value	p-Wert
proximal - lateral == 0	2.84	3.12	0.91	0.50804
proximal - medial == 0	7.35	3.45	2.13	0.20658
proximal - Mitte == 0	11.62	2.92	3.98	0.00074 ***
Mitte - lateral == 0	12.93	3.43	3.77	0.00143 **
Mitte - medial == 0	3.15	3.44	0.92	0.50804
Mitte - Mitte == 0	2.41	3.64	0.66	0.50804
lateral - Schenkel == 0	3.99	3.58	1.11	0.50804
medial - Schenkel == 0	5.22	3.62	1.44	0.48448

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tab. 2 Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests (Anova): Vergleich der Lokalisationen des Vorderbeines mit denen des Hinterbeines im Bezug auf den Fibrillenflächenanteil, p-Wert < 0,05 statistisch signifikant

In Abbildung 13 zeigen sich die Mittelwertunterschiede an den einzelnen Lokalisationen.

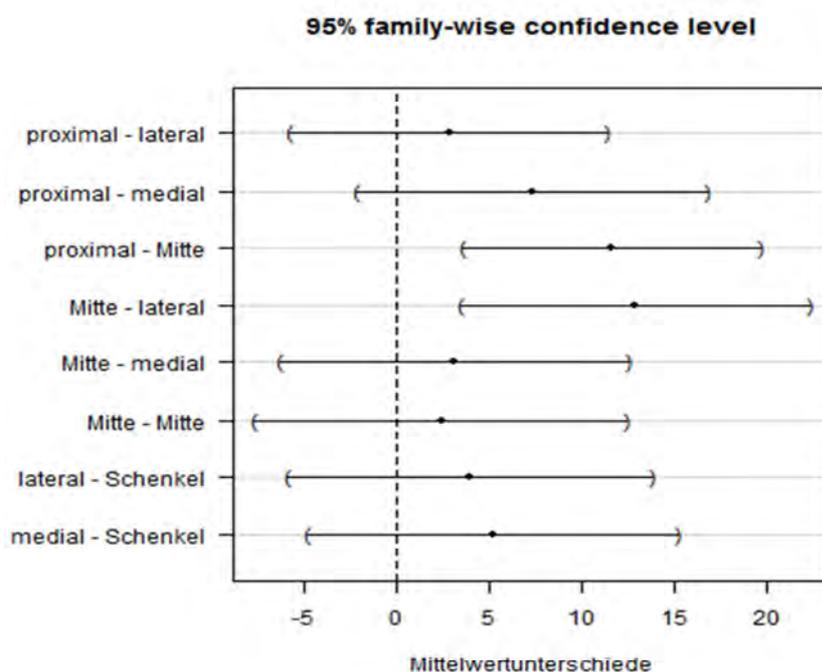


Abb. 13 Unterschiede des durchschnittlichen Flächenanteils von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (inkl. 95%-Konfidenzintervall der Mittelwertunterschiede)

4.2. Fibrillendichte

Die Fibrillendichte ist die Anzahl der Fibrillen dividiert durch die Größe des Bildausschnittes. Sie liegt am Vorderbein zwischen 94,6 und 163 Fibrillen pro Flächeneinheit. Am Hinterbein zwischen 64,6 und 145,4 Fibrillen pro Flächeneinheit. Der Mittelwert, der Median, das Minimum, das Maximum und die Standardabweichung der Fibrillendichte sind in Tabelle 3 aufgelistet.

	Vorderbein						Hinterbein					
	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD
proximal - lateral	94,6	41,8	145,8	95,6	16	28,6	83,9	40,4	190,7	68,9	16	39,4
proximal - medial	136,4	58,2	313,3	112,7	16	76,8	129,2	75,1	243,1	114,7	16	44,5
proximal - Mitte	95,7	57,3	147,1	92	16	25,8	131,8	78,7	215,6	127,3	16	44,2
Mitte - lateral	163	56,9	339,1	159,1	16	77,2	107,7	33,8	184,9	114,4	16	40,7
Mitte - medial	130,4	60,4	234,2	132	16	52,2	145,4	98,2	199,1	142,7	16	29,5
Mitte - Mitte	136,2	67,6	217,8	132,4	16	48,9	118,4	56,9	185,8	114,4	16	44,3
lateral - Schenkel	114,7	34,7	236	105,6	16	53	131,7	52,4	238,2	123,6	16	57,1
medial - Schenkel	113,6	71,6	172	111,1	16	33	64,6	27,1	87,6	68,2	16	16
Gesamt	123,1	34,7	339,1	107,6	128	55,8	114,1	27,1	243,1	111,1	128	47,5

Tab. 3 Fibrillendichte nach Lokalisation

Die höchste Fibrillendichte ist am Vorderbein an der Lokalisation „Mitte lateral“ ($163 \pm 77,2$ Fibrillen pro Flächeneinheit) und am Hinterbein „Mitte medial“ ($145,4 \pm 29,5$ Fibrillen pro Flächeneinheit). Abbildung 14 zeigt die Fibrillendichte als Graphik.

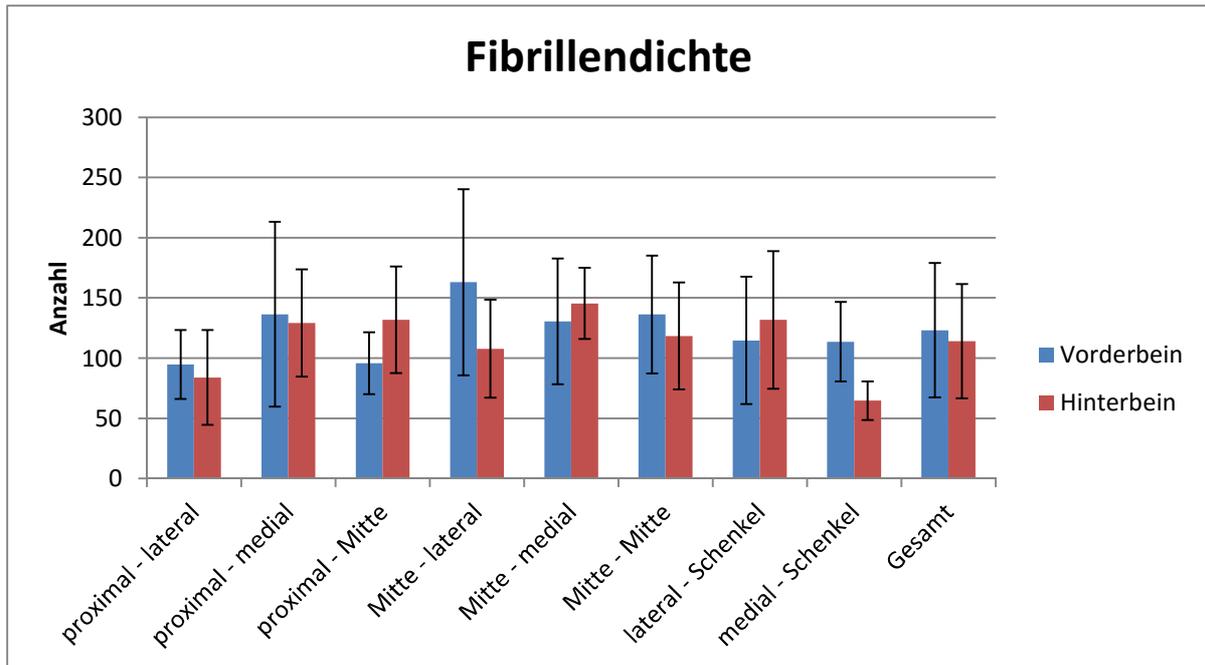


Abb. 14 Fibrillendichte am Vorder- und Hinterbein, Mittelwert \pm SD

Ein Beispiel für eine hohe Fibrillendichte zeigt Abbildung 16 am Hinterbein Mitte medial. Eine niedrige Fibrillendichte am medialen Schenkel des Hinterbeins ist in Abbildung 15 zu sehen.

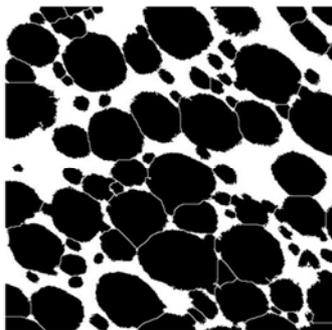


Abb. 15 Hinterbein medialer Schenkel

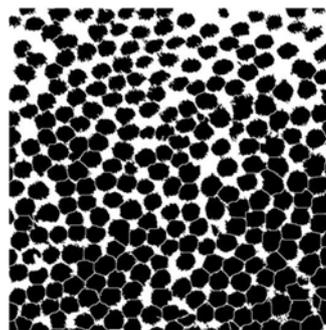


Abb. 16 Hinterbein Mitte medial

In Tabelle 4 sind die Ergebnisse des Vergleichs der Lokalisationen von Vorder- und Hinterbein in Bezug auf die Fibrillendichte zu sehen. Die Fibrillendichte ist an der Lokalisation „proximal Mitte“ am Hinterbein signifikant höher als am Vorderbein. Am medialen Schenkel ist die Fibrillendichte am Vorderbein signifikant höher als am Hinterbein.

	Estimate	Std. Error	t value	p-Wert
proximal - lateral == 0	-10.75	11.79	-0.91	0.725
proximal - medial == 0	-7.17	21.50	-0.33	0.739
proximal - Mitte == 0	36.08	12.39	2.91	0.027 *
Mitte - lateral == 0	-55.25	21.14	-2.61	0.057
Mitte - medial == 0	15.00	14.52	1.03	0.605
Mitte - Mitte == 0	-17.81	15.97	-1.11	0.551
lateral - Schenkel == 0	17.03	18.85	0.90	0.735
medial - Schenkel == 0	-49.03	8.88	-5.52	0.000007 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tab. 4 Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests (Anova): Vergleich der Lokalisationen des Vorderbeines mit denen des Hinterbeines im Bezug auf die Fibrillendichte, p-Wert < 0,05 statistisch signifikant

In Abbildung 17 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

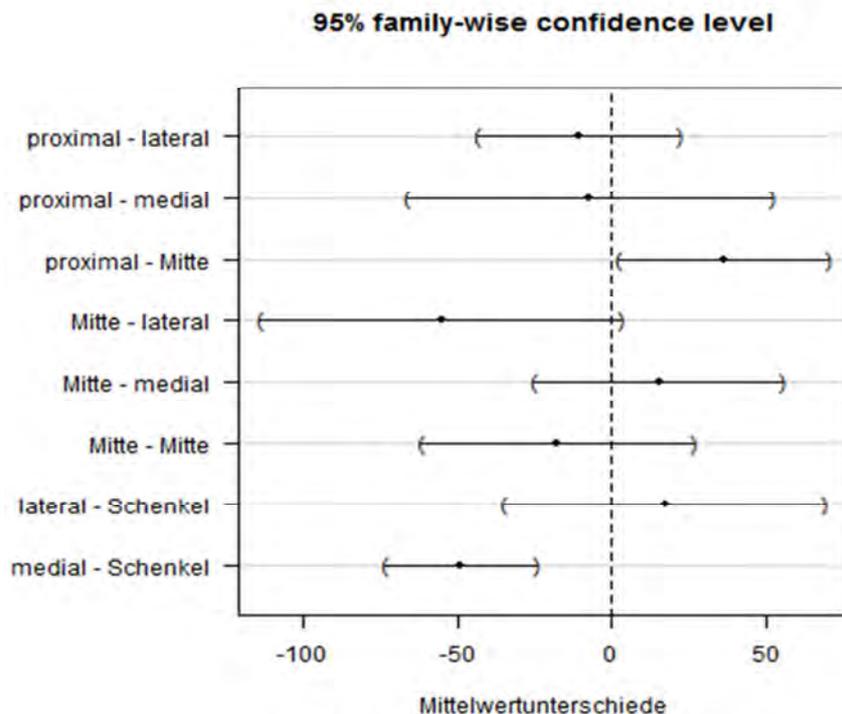


Abb. 17 Unterschiede der durchschnittlichen Dichte von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (inkl. 95%-Konfidenzintervall der Mittelwertunterschiede)

4.3. Fibrillenfläche

Die Fibrillenfläche am Vorderbein beträgt zwischen 4113nm² und 7186nm², am Hinterbein liegt sie zwischen 4403nm² und 10636nm² an den unterschiedlichen Lokalisationen. Die größte Fibrillenfläche (10636nm²) am Hinterbein befindet sich am medialen Schenkel und am Vorderbein (7186nm²) an der Lokalisation „proximal lateral“. Die Mittelwerte, Standardabweichungen und Mediane, sowie das Minimum und Maximum der Fibrillenfläche am Vorder- und Hinterbein sind in Tabelle 5 aufgelistet.

	Vorderbein						Hinterbein					
	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD
proximal - lateral	7186,3	4111,2	12354,2	6310,7	16	2358,1	9475,6	2738,8	16023,1	9393,6	16	4488,4
proximal - medial	5820,5	1681,8	11937,7	4712	16	2942,5	5835,5	2949,8	8018,8	6041,7	16	1642,5
proximal - Mitte	6019,5	3014,1	9097,7	5841,2	16	1625,8	5629,1	2871,9	9161,2	5455,5	16	2085,6
Mitte - lateral	4113,1	1644,1	7509,6	4130,3	16	1752,5	7909,3	2775,9	23145	6081,2	16	5045,2
Mitte - medial	5208,3	2284,5	10029,9	4676,9	16	2347,1	4403,3	2574,4	6518	4549,5	16	1168,9
Mitte - Mitte	4806,1	2904	8442,5	4331,8	16	1568,6	6147,8	3404,7	13002	4334	16	3155,3
lateral - Schenkel	6650,2	2461,7	18393,8	5561	16	3874,9	6195,8	1870,9	14792	6110,2	16	3464,1
medial - Schenkel	5687,3	2947,2	10157,4	5138,5	16	2424	10636	6715	19430,5	9035	16	3813,6
Gesamt	5686,4	1644,1	18393,8	5245,6	128	2572,5	7029	1870,9	23145	6054,3	128	3829

Tab. 5 Fibrillenfläche in nm² nach Lokalisation

In Abbildung 18 sind die Mittelwerte ± SD der Fibrillenfläche an den einzelnen Lokalisationen graphisch dargestellt.

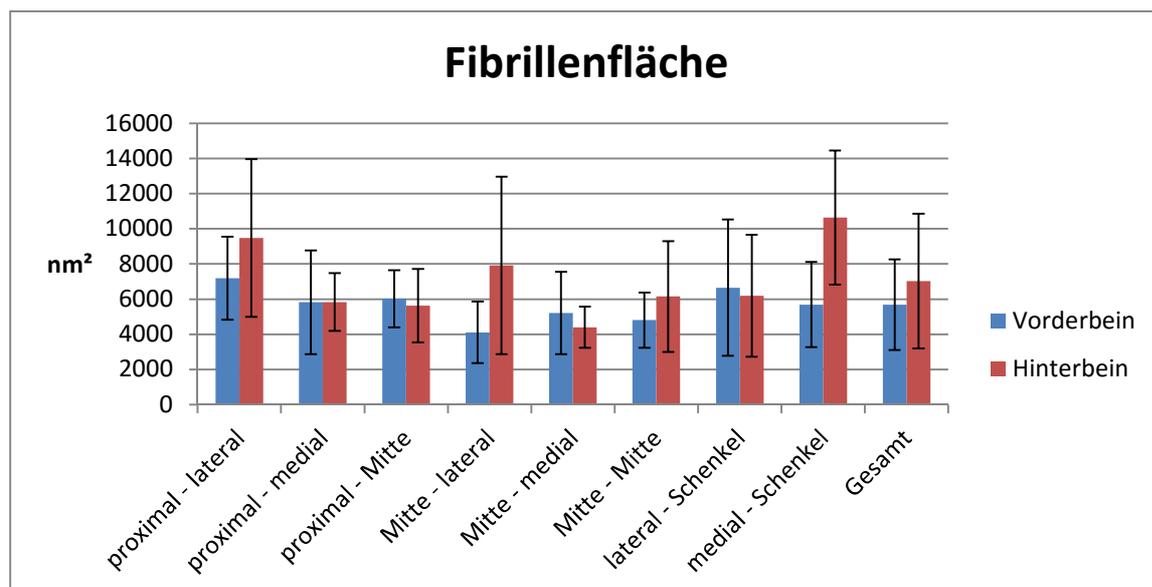


Abb. 18 Fibrillenfläche in nm² am Vorder- und Hinterbein, Mittelwert ± SD

Die Lokalisation mit der niedrigsten Fibrillenfläche ist in Abbildung 20 dargestellt und Abbildung 19 zeigt die Lokalisation mit der höchsten Fibrillenfläche.

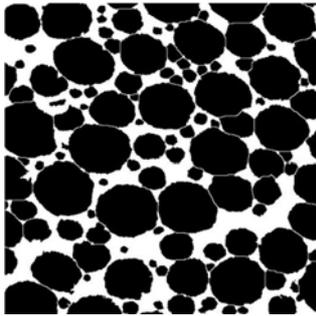


Abb. 19 Hinterbein medialer Schenkel

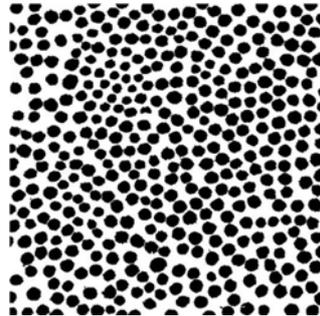


Abb. 20 Vorderbein Mitte lateral

Der Vergleich der Lokalisationen im Bezug auf die Fibrillenfläche zeigt Tabelle 6. Die Fibrillenfläche ist am medialen Schenkel des Hinterbeins signifikant höher als am Vorderbein. An der Lokalisation „Mitte lateral“ ist die Fibrillenfläche ebenfalls hinten signifikant höher als vorne.

	Estimate	Std. Error	t value	p-Wert
proximal - lateral == 0	2289	1227	1.87	0.351
proximal - medial == 0	15	816	0.02	0.985
proximal - Mitte == 0	-390	640	-0.61	0.985
Mitte - lateral == 0	3796	1293	2.94	0.026 *
Mitte - medial == 0	-805	635	-1.27	0.823
Mitte - Mitte == 0	1342	853	1.57	0.515
lateral - Schenkel == 0	-454	1258	-0.36	0.985
medial - Schenkel == 0	4948	1094	4.52	0.000076 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tab. 6 Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests (Anova): Vergleich der Lokalisationen des Vorderbeines mit denen des Hinterbeines im Bezug auf die Fibrillenfläche, p-Wert < 0,05 statistisch signifikant

Abbildung 21 zeigt die Ergebnisse graphisch.

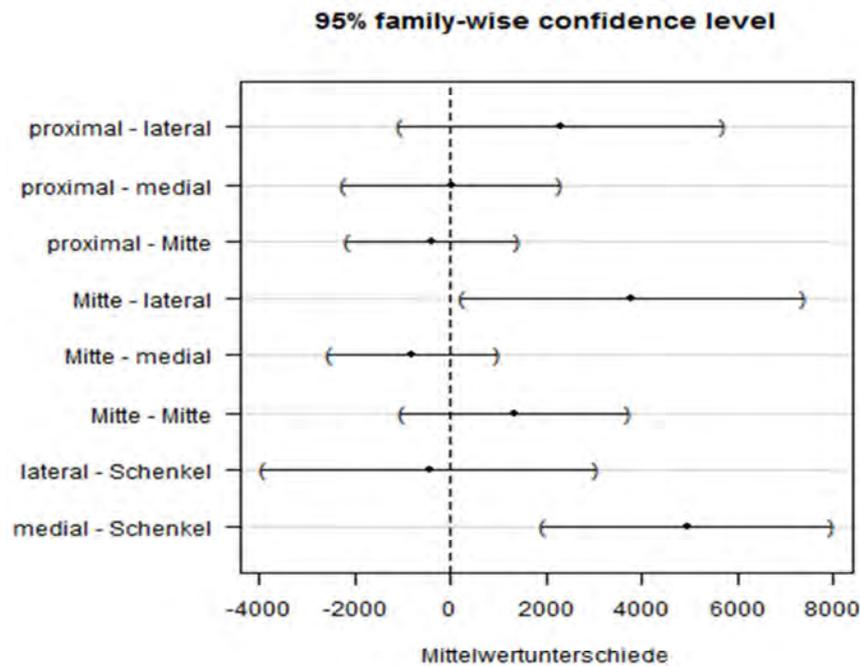


Abb. 21 Unterschiede der durchschnittlichen Fibrillenfläche von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (inkl. 95%-Konfidenzintervall der Mittelwertunterschiede)

4.4. Fibrillenumfang

Der Umfang der Kollagenfibrillen ist am medialen Schenkel des Hinterbeins mit 426,5nm am größten. Der geringste Fibrillenumfang, 255,2nm, wurde an der Lokalisation „Mitte lateral“ am Vorderbein gemessen. Tabelle 7 zeigt Mittelwerte, Standardabweichungen, Mediane, das Minimum und das Maximum des Fibrillenumfangs.

	Vorderbein						Hinterbein					
	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD
proximal - lateral	326,2	256,2	438,2	317,7	16	53,5	383,3	214,1	591,4	380,8	16	115,2
proximal - medial	300,3	169,2	452,3	284,2	16	84,4	324	223,9	402,5	340,8	16	57,9
proximal - Mitte	305,1	215	379,9	308,6	16	41,6	298,4	196,3	427,8	290	16	73,1
Mitte - lateral	255,2	153,7	355,2	261	16	58,5	350,8	223,3	675,2	329,4	16	103,6
Mitte - medial	282,8	190,1	403,1	270,1	16	64	267,3	182,2	342,1	270,1	16	56,7
Mitte - Mitte	278,4	211,6	426,1	272,3	16	56,3	308,7	218,7	443,5	293,1	16	69
lateral - Schenkel	322,9	182,4	707,2	297,2	16	122,8	313,4	162,5	583,1	313,9	16	110,1
medial - Schenkel	293	201,8	426,6	286,8	16	66,1	426,5	303,8	593,9	419,1	16	74,9
Gesamt	295,5	153,7	707,2	286,6	128	73,7	334,1	162,5	675,2	321,9	128	95,9

Tab. 7 Fibrillenumfang in nm nach Lokalisation

Die Mittelwerte des Fibrillenumfangs \pm SD sind in Abbildung 22 graphisch dargestellt.

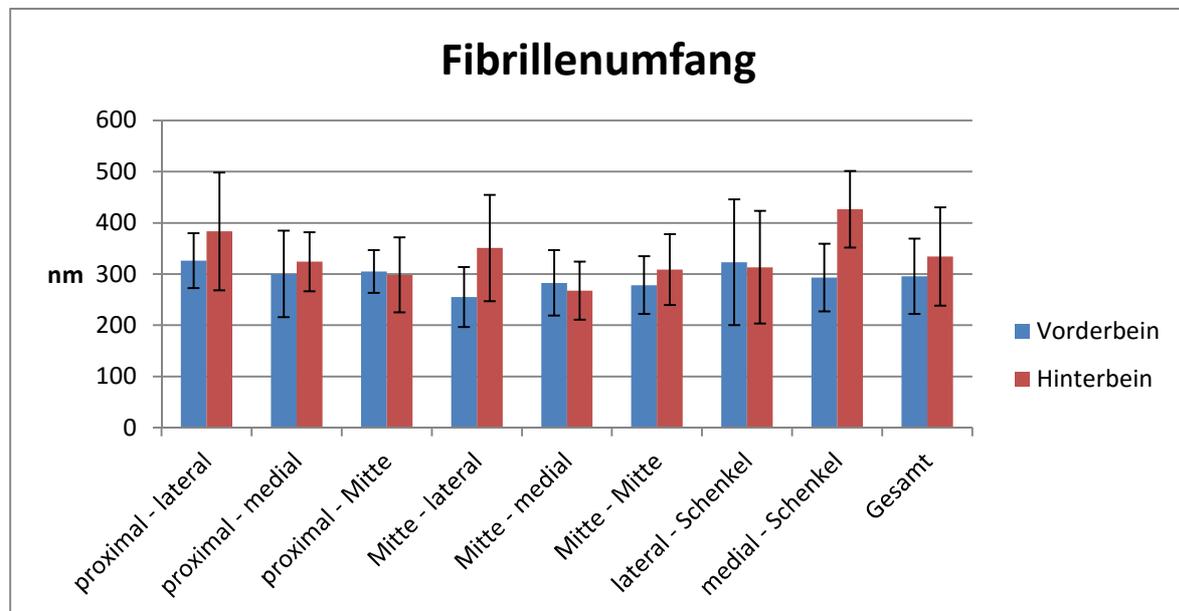


Abb. 22 Fibrillenumfang in nm am Vorder- und Hinterbein, Mittelwert \pm SD

Die Ergebnisse des paarweisen Mittelwerttest zeigt Tabelle 8. Das Hinterbein hat an den Lokalisationen „Mitte lateral“ und „Schenkel medial“ einen signifikant größeren Fibrillenumfang als am Vorderbein.

	Estimate	Std. Error	t value	p-Wert
proximal - lateral == 0	57.12	30.75	1.86	0.3865
proximal - medial == 0	23.70	24.77	0.96	0.8114
proximal - Mitte == 0	-6.73	20.37	-0.33	0.8114
Mitte - lateral == 0	95.65	28.81	3.32	0.0073 **
Mitte - medial == 0	-15.52	20.69	-0.75	0.8114
Mitte - Mitte == 0	30.35	21.55	1.41	0.7569
lateral - Schenkel == 0	-9.54	39.92	-0.24	0.8114
medial - Schenkel == 0	133.55	24.18	5.52	0.00000069 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tab. 8 Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests (Anova): Vergleich der Lokalisationen des Vorderbeines mit denen des Hinterbeines im Bezug auf den Fibrillenumfang, p-Wert < 0,05 statistisch signifikant

Die signifikanten Unterschiede sind ebenfalls in Abbildung 23 deutlich zu erkennen.

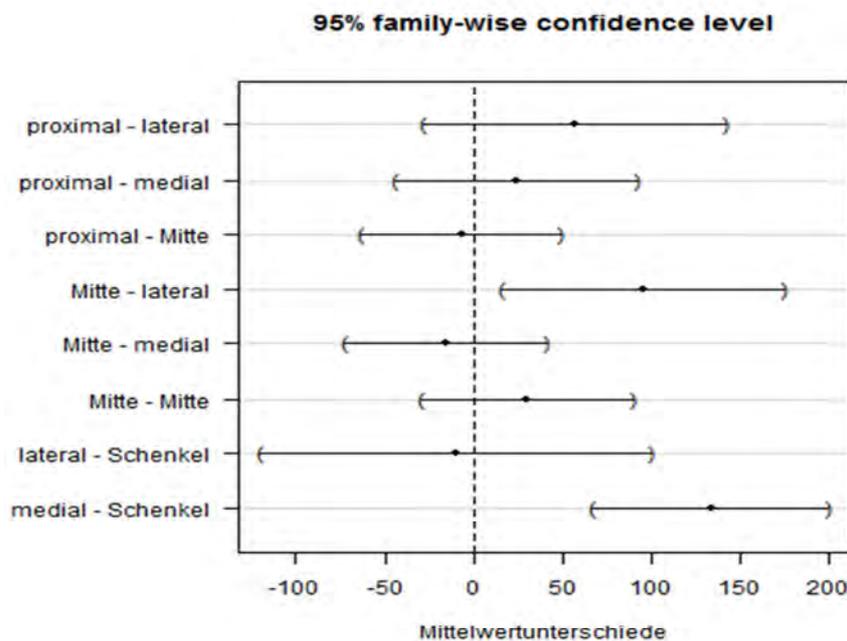


Abb. 23 Unterschiede des durchschnittlichen Fibrillenumfangs von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (inkl. 95%-Konfidenzintervall der Mittelwertunterschiede)

4.5. Fibrillendurchmesser

Der Fibrillendurchmesser liegt am Vorderbein zwischen 82,2nm und 104,7nm und am Hinterbein zwischen 85,7nm und 123,7nm. In Tabelle 9 sind die einzelnen Werte des Fibrillendurchmessers aufgelistet.

	Vorderbein						Hinterbein					
	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD	Ø	MIN	MAX	Median	N	SD
proximal - lateral	104,7	84,3	138,8	101,7	16	16	119,5	72	163,3	119,5	16	29,4
proximal - medial	94,6	55,2	141,3	89,1	16	23	100,6	75,5	121,8	104,7	16	15,6
proximal - Mitte	96,7	72,5	123,5	95,5	16	12,4	92,6	67,7	121,7	91,5	16	18,3
Mitte - lateral	82,2	54,3	112,2	83,1	16	15	104,7	68,5	191,8	94,9	16	29,6
Mitte - medial	89,3	65,1	126,5	88,1	16	17,2	85,7	63,3	104,9	91,1	16	14,9
Mitte - Mitte	88,4	72,3	119,8	87	16	14,5	94,9	72,3	134,8	88,9	16	20
lateral - Schenkel	99,8	63,9	172,3	95,8	16	25,8	96,9	56,7	151,6	100,7	16	26,7
medial - Schenkel	94	67,7	126,9	91,9	16	18,6	123,7	98,5	170,5	115,4	16	22,1
Gesamt	93,7	54,3	172,3	91,1	128	19	102,3	56,7	191,8	98,8	128	25,4

Tab. 9 Fibrillendurchmesser in nm nach Lokalisation

Abbildung 24 zeigt die Mittelwerte \pm SD vergleichend an den verschiedenen Lokalisationen.

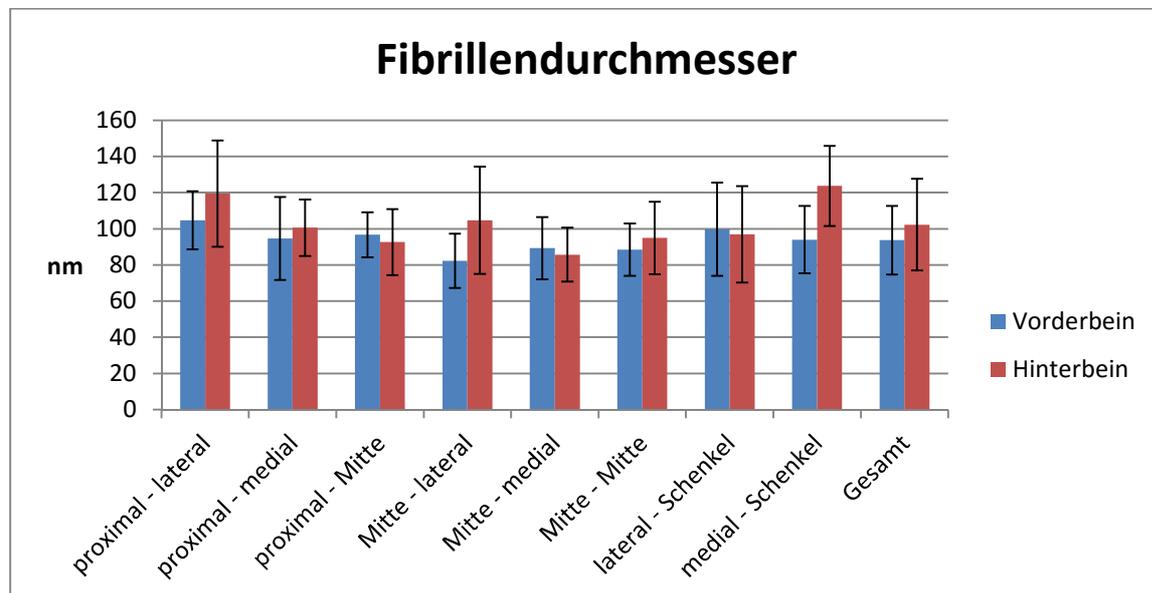


Abb. 24 Fibrillendurchmesser in nm am Vorder- und Hinterbein, Mittelwert \pm SD

Die Ergebnisse des Vergleichs der Lokalisationen zeigen Tabelle 10. Die Lokalisationen „Mitte lateral“ und „Schenkel medial“ zeigen am Hinterbein einen signifikant höheren Durchmesser der Fibrillen als am Vorderbein. Die graphische Darstellung ist in Abbildung 25 zu sehen.

	Estimate	Std. Error	t value	p-Wert
proximal - lateral == 0	14.84	8.11	1.83	0.40968
proximal - medial == 0	5.98	6.74	0.89	0.74692
proximal - Mitte == 0	-4.17	5.35	-0.78	0.74692
Mitte - lateral == 0	22.49	8.04	2.80	0.03901 *
Mitte - medial == 0	-3.62	5.50	-0.66	0.74692
Mitte - Mitte == 0	6.49	5.99	1.08	0.74692
lateral - Schenkel == 0	-2.91	8.99	-0.32	0.74692
medial - Schenkel == 0	29.73	7.00	4.25	0.00025 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tab. 10 Ergebnisse der paarweisen Mittelwerttests (Anova): Vergleich der Lokalisationen des Vorderbeines mit denen des Hinterbeines im Bezug auf den Fibrillendurchmesser, p-Wert < 0,05 statistisch signifikant

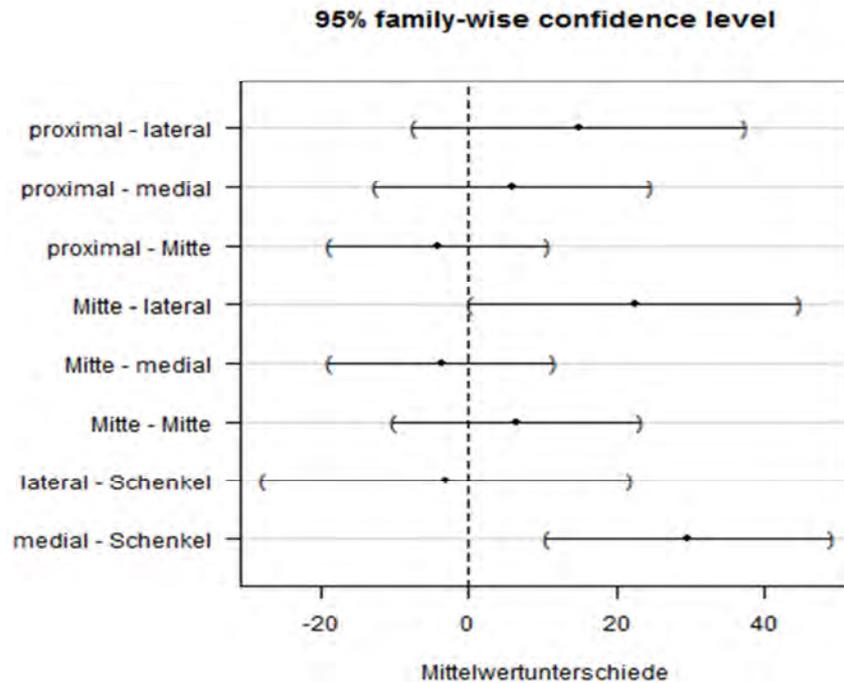


Abb. 25 Unterschiede des durchschnittlichen Fibrillendurchmessers von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (inkl. 95%-Konfidenzintervall der Mittelwertunterschiede)

4.6. Verteilung Fibrillendurchmesser

Bei der Verteilung des Fibrillendurchmessers haben wir 4 Gruppen gewählt, in die wir die Fibrillen eingeordnet haben, die kleinsten Fibrillen mit einem Durchmesser unter 80nm, kleine Fibrillen zwischen 80 und 100nm, mittlere Fibrillen zwischen 100 und 120nm und große Fibrillen über 120nm.

4.6.1. Vorderbein

In Tabelle 11 sind die Anteile der Kollagenfibrillen in % mit entsprechendem Durchmesser an der jeweiligen Lokalisation aufgelistet.

	Durchmesser			
	<80nm	80-100nm	100-120nm	>120nm
Proximal lateral	52,61	14,68	6,49	26,22
Proximal Mitte	57,30	11,00	6,85	24,85
Proximal medial	62,61	13,85	9,65	13,89
Mitte lateral	73,98	12,90	4,09	9,03
Mitte Mitte	69,32	11,26	4,28	15,14
Mitte medial	69,07	11,42	4,47	15,04
Schenkel lateral	63,37	13,41	5,23	17,99
Schenkel medial	63,49	14,38	5,21	16,92

Tab. 11 Verteilung Fibrillendurchmesser Vorderbein

Abbildung 26 zeigt die Verteilung graphisch. Man erkennt deutlich die hohe Anzahl kleinster Fibrillen, unter 80nm. Der Anteil liegt an den einzelnen Lokalisationen zwischen 52% und 73%. Die Gruppe mittlerer Fibrillen ist am geringsten vertreten. Der Anteil liegt überall unter 10%. Große Fibrillen wurden vor allem im proximalen Bereich, lateral und in der Mitte, gemessen, 24 bzw. 26%.

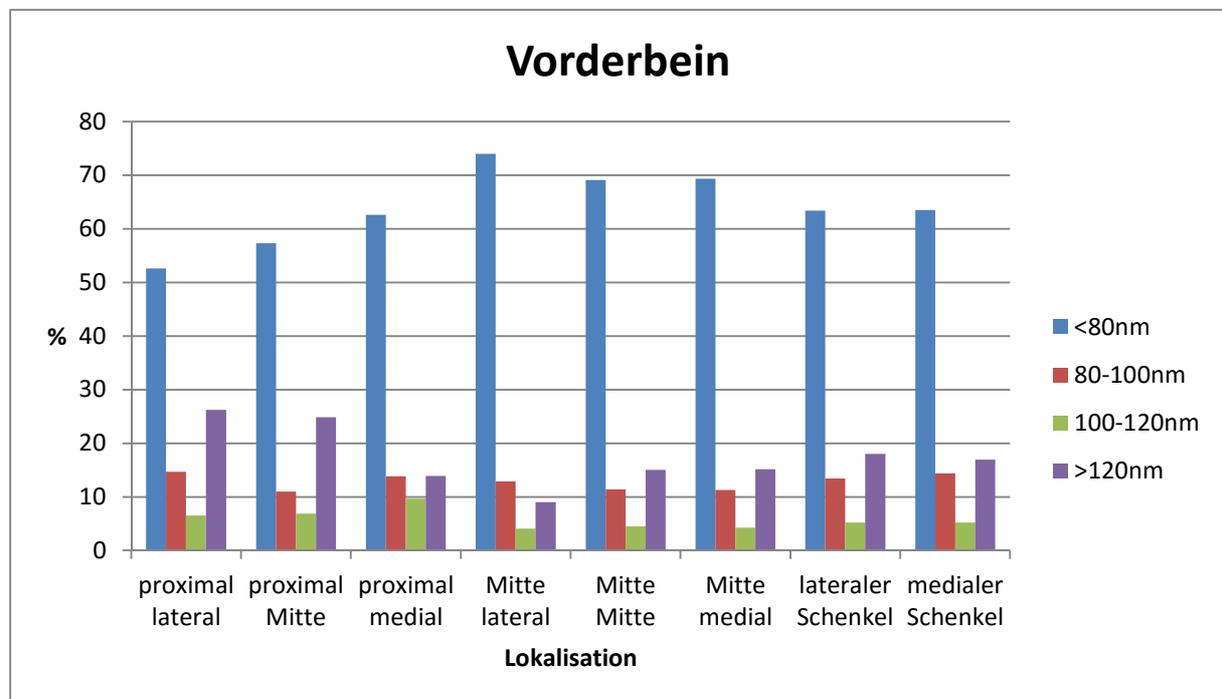


Abb. 26 Verteilung Fibrillendurchmesser in % am Vorderbein

Die Lokalisation mit dem höchsten Anteil an kleinen Kollagenfibrillen ist in Abbildung 28 und die mit dem höchsten Anteil an großen Kollagenfibrillen am Vorderbein ist in Abbildung 27 dargestellt.

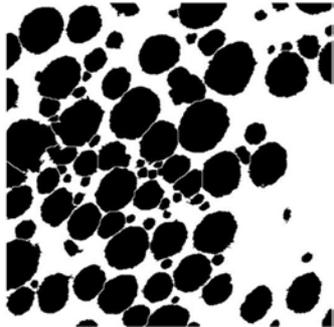


Abb. 27 Vorderbein proximal lateral

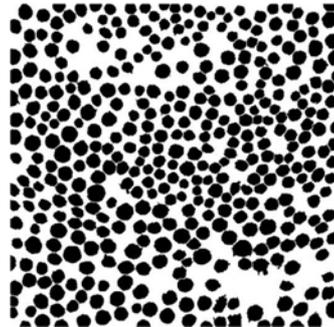


Abb. 28 Vorderbein Mitte lateral

4.6.2. Hinterbein

Der prozentuale Anteil der unterschiedlich großen Fibrillen ist in Tabelle 12 dargestellt.

	Durchmesser			
	<80nm	80-100nm	100-120nm	>120nm
Proximal lateral	49,5	14,2	6,6	29,6
Proximal Mitte	63,9	11,8	6,5	17,8
Proximal medial	49,7	17,1	10,5	22,8
Mitte lateral	62,7	13,3	4,2	19,8
Mitte Mitte	63,6	13,1	6,8	16,5
Mitte medial	59,4	15,7	13,3	11,6
Schenkel lateral	64,7	10,0	5,4	19,9
Schenkel medial	47,4	13,6	5,0	34,0

Tab. 12 Verteilung Fibrillendurchmesser Hinterbein

Der Anteil kleinster Fibrillen ist am Hinterbein an fast allen Lokalisationen niedriger als am Vorderbein. Große Fibrillen wurden hingegen überall mit einem höheren Anteil gemessen. Dieser liegt zwischen 11,6 und 34%. Abbildung 29 zeigt die Verteilung.

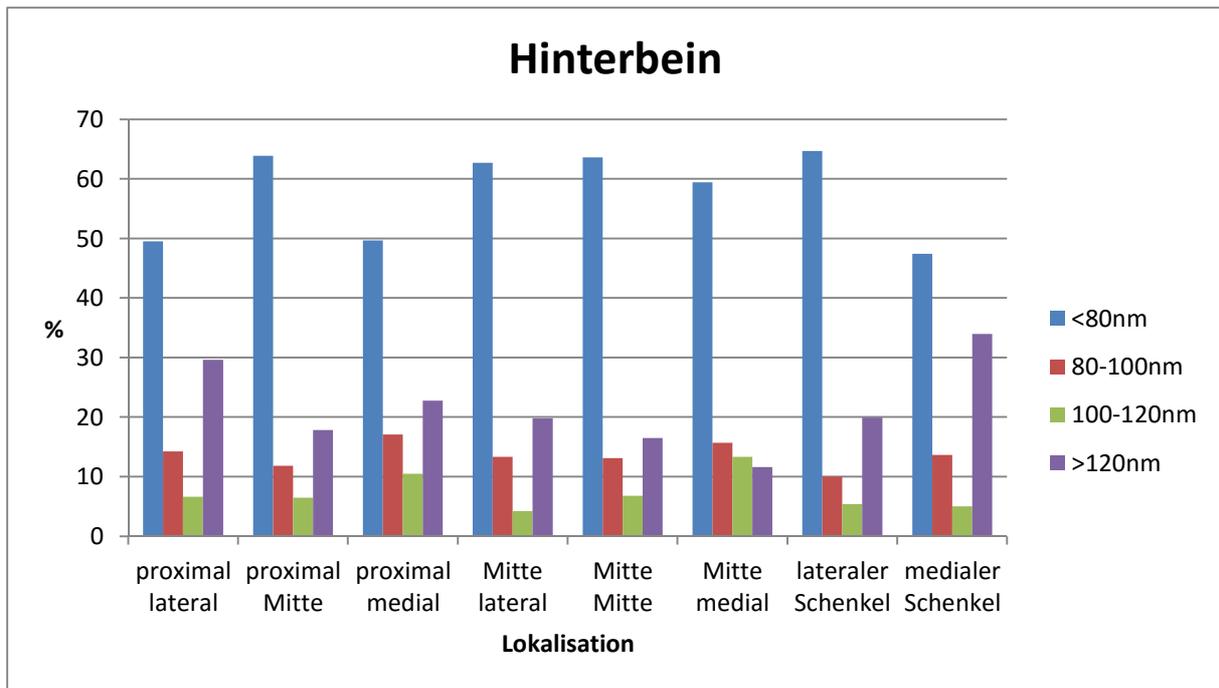


Abb. 29 Verteilung Fibrillendurchmesser Hinterbein

Die unterschiedliche Verteilung der Kollagenfibrillen am Hinterbein wird an den Beispielbildern in Abbildung 30 und 31 deutlich.

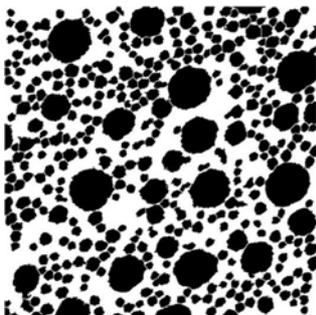


Abb. 30 Hinterbein Mitte medial

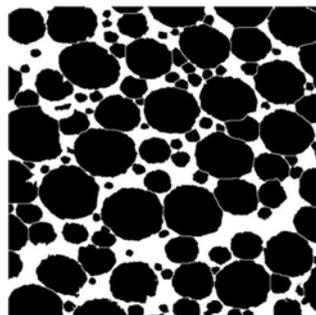


Abb. 31 Hinterbein medialer Schenkel

4.7. Vergleich Fibrillenfläche, -umfang und -durchmesser

4.7.1. Vorderbein

Der Vergleich der unterschiedlichen Werte zeigt am Vorderbein einen ähnlichen Verlauf von Fibrillenfläche und Fibrillenumfang. Diese beiden Werte sind abhängig voneinander. Die Werte des Durchmessers der Kollagenfibrillen hingegen zeigen sich im Verlauf nicht sehr

deutlich an den Umfang und die Fläche angepasst. Die Tendenz jedoch ist ähnlich. Abbildung 32 zeigt den graphischen Verlauf des Vergleiches.

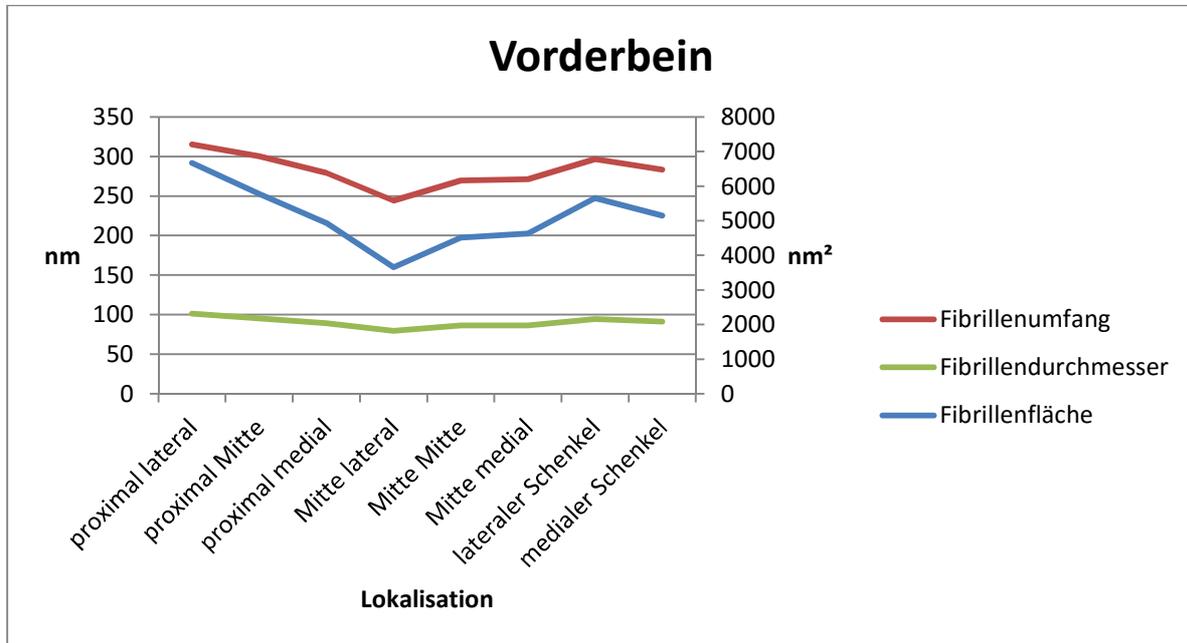


Abb. 32 Vergleich von Fibrillenfläche, -umfang und -durchmesser am Vorderbein

4.7.2. Hinterbein

Am Hinterbein zeigt sich im Vergleich der einzelnen Werte ein ähnliches Bild wie am Vorderbein. Auch hier scheinen Fibrillenfläche und Fibrillendurchmesser sich abhängig voneinander an den einzelnen Lokalisationen zu verändern. Die Unterschiede im Bereich des Fibrillenumfangs sind auch am Hinterbein nicht so deutlich sichtbar. Die Graphik hierzu ist in Abbildung 33 dargestellt.

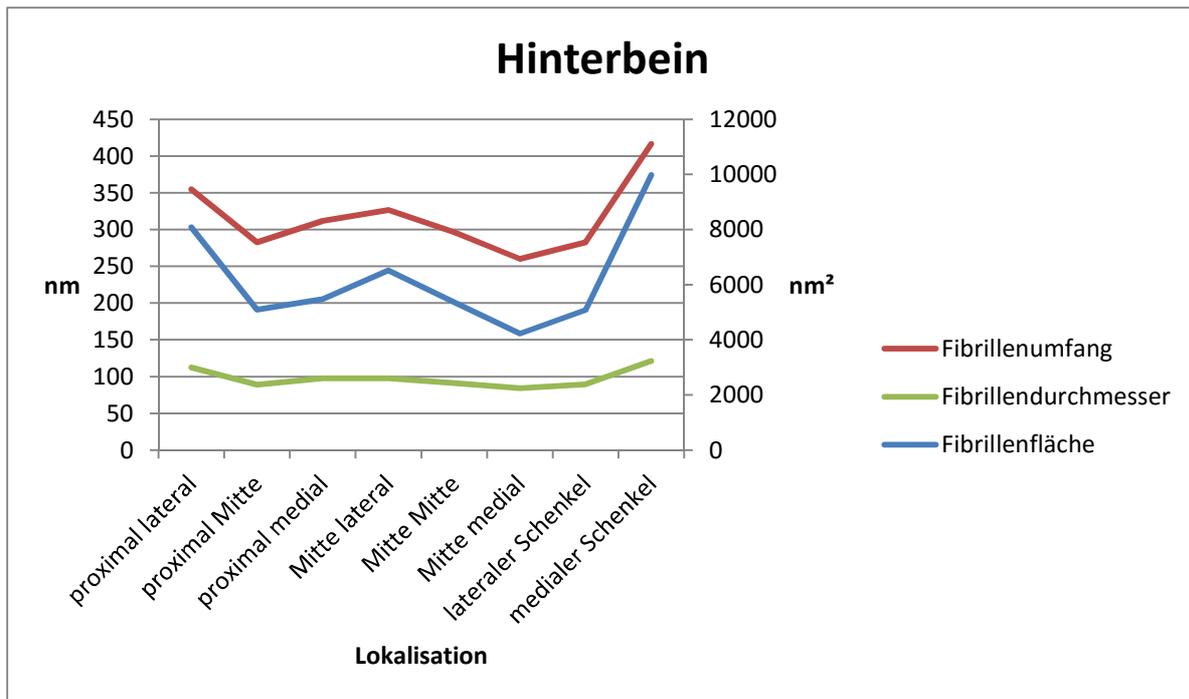


Abb. 33 Vergleich von Fibrillenfläche, -umfang und -durchmesser am Hinterbein

4.8. Fibrillenflächenverteilung

4.8.1. Vorderbein

Der prozentuale Anteil der unterschiedlich großen Kollagenfibrillen wurde gemessen an der gesamten Fläche, die von Fibrillen bedeckt war. An allen Lokalisationen wurden zum größten Teil Kollagenfibrillen mit einer Fläche zwischen 900 und 5000nm² gemessen. Tabelle 13 zeigt die Aufteilung der einzelnen Kollagenfibrillen an den verschiedenen Lokalisationen.

Fläche in nm ²	prox. lat.	prox. Mitte	prox. med.	Mitte lat.	Mitte Mitte	Mitte med.	Schenkel lat.	Schenkel med.
900-5000	24,0	24,8	34,6	56,7	37,0	37,3	31,3	33,8
5000-10000	11,2	14,3	23,1	10,5	10,1	9,3	9,6	7,3
10000-15000	12,0	16,1	10,0	7,8	11,3	9,1	6,6	7,6
15000-20000	11,3	12,5	5,0	7,7	7,0	9,8	8,9	9,4
20000-25000	10,1	10,6	6,2	4,6	8,1	8,2	8,8	9,4
25000-30000	10,2	8,7	6,5	4,1	6,5	7,2	6,8	10,0
30000-35000	8,6	6,9	6,0	2,6	7,9	6,8	8,0	9,6
35000-40000	4,8	3,4	2,6	4,1	5,6	4,8	6,0	6,6
40000-45000	4,9	1,0	3,5	1,7	4,3	3,7	5,4	3,6
45000-50000	2,3	1,2	0,9	0,2	1,1	1,4	3,4	2,5
50000-55000	0,5	0,5	0,9	0,0	0,2	0,8	1,6	0,2
55000-60000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	2,3	0,0
60000-65000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,6	0,0
65000-70000	0,0	0,0	0,3	0,0	0,3	0,6	0,3	0,0
70000-75000	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0
75000-80000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
80000-85000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
85000-90000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
90000-95000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
95000- 100000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0

Tab. 13 Anteil der Kollagenfibrillen in % am Vorderbein

An den Lokalisationen „proximal lateral“ und „proximal Mitte“ bedecken kleine Kollagenfibrillen zwischen 900nm² und 5000nm² 23,9% bzw. 24,8% des gesamten Fibrillenflächenanteils. Die größten Fibrillen sind zwischen 50000nm² und 55000nm² und machen nur einen Anteil von 0,5% aus. An der Lokalisation proximal medial ist der Anteil kleiner Fibrillen deutlich höher (34,6%). Hier sind die größten Fibrillen zwischen 65000nm² und 75000nm² und bedecken etwa 0,6% des Fibrillenflächenanteils. Die Verteilung der einzelnen Kollagenfibrillen im proximalen Bereich ist in Abbildung 34 dargestellt.

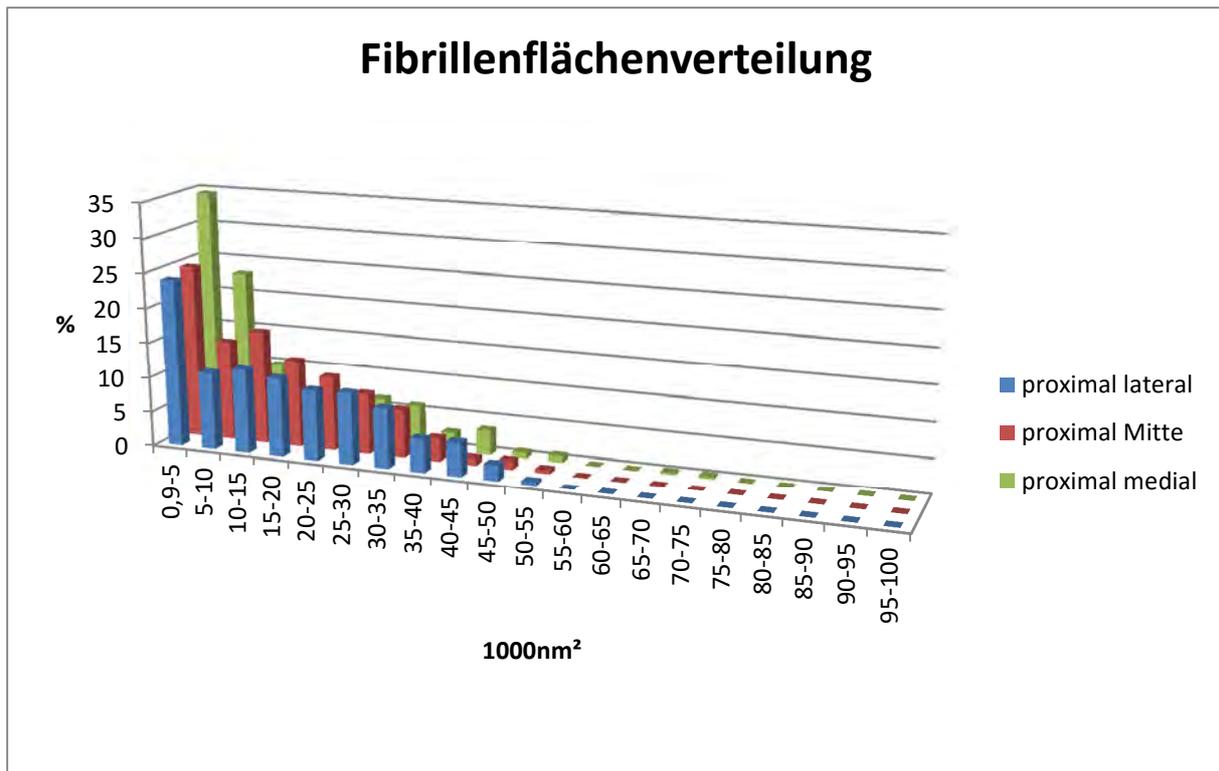


Abb. 34 Fibrillenflächenverteilung in % am Vorderbein proximal

Beispielbilder für den Bereich des Fesselträgerursprungs sind in den Abbildungen 35 bis 37 zu sehen.

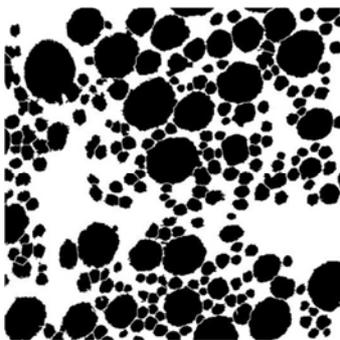


Abb. 35 Vorderbein

proximal lateral

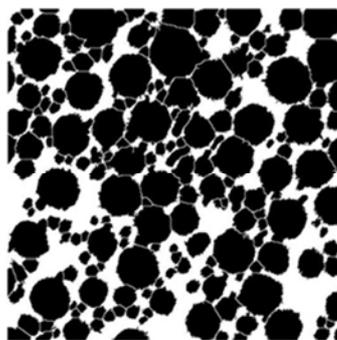


Abb. 36 Vorderbein

proximal Mitte

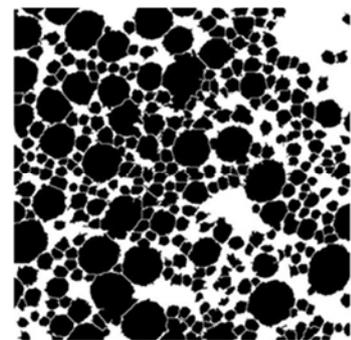


Abb. 37 Vorderbein

proximal medial

Der Anteil kleiner Fibrillen ist mit 56,7% an der Lokalisation „Mitte lateral“ am größten. An den Lokalisationen „Mitte Mitte“ und „Mitte medial“ liegt dieser bei 37%. Die größten Fibrillen (95000nm² bis 100000nm²) liegen „Mitte medial“ und machen einen Anteil von 0,5% aus. Die Kollagenfibrillenverteilung am Vorderbein im mittleren Bereich des Fesselträgers ist in Abbildung 38 gezeigt.

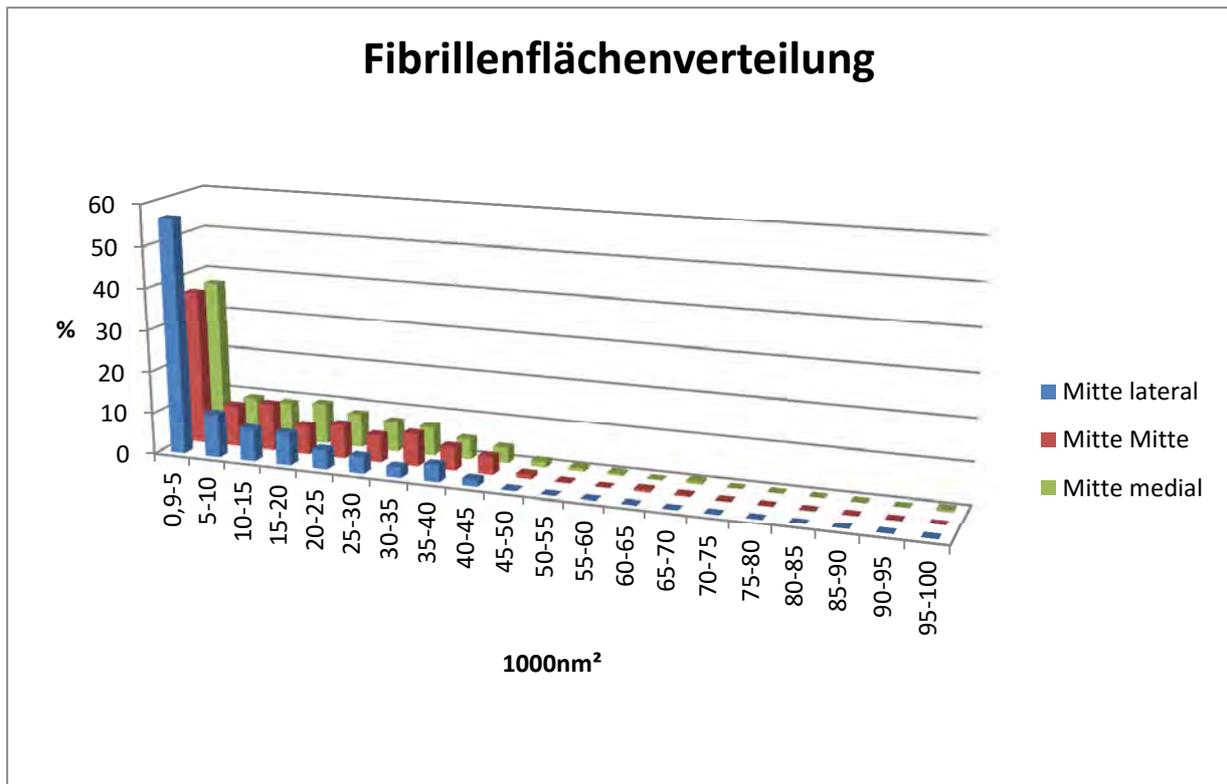


Abb. 38 Fibrillenflächenverteilung in % am Vorderbein Mitte

In den Abbildungen 39 bis 41 sind ELMI-Bilder des Fesselträgerskörpers dargestellt.

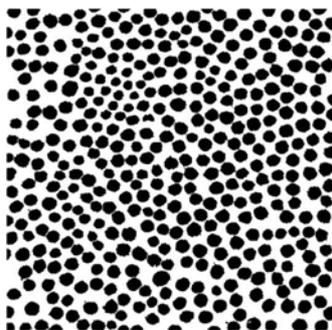


Abb. 39 Vorderbein

Mitte lateral

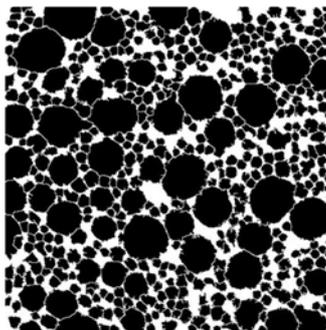


Abb. 40 Vorderbein

Mitte Mitte

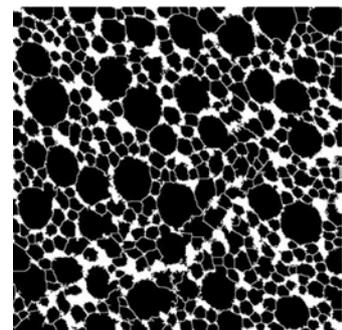


Abb. 41 Vorderbein

Mitte medial

Die Verteilung der Kollagenfibrillen ist im Bereich der Fesselträgerschenkel relativ ähnlich. Kleine Kollagenfibrillen sind mit 31,3% (lateral) bzw. 33,8% (medial) annähernd gleich verteilt. Der Anteil großer Fibrillen unterscheidet sich allerdings etwas. Am lateralen Schenkel sind die größten Fibrillen zwischen 60000nm² und 75000nm² und machen einen Anteil von ca. 1% aus. Medial sind diese nur zwischen 50000nm² und 55000nm² und

bedecken nur etwa 0,3% des gesamten Fibrillenflächenanteils. Abbildung 42 zeigt die Kollagenfibrillenverteilung der Schenkel.

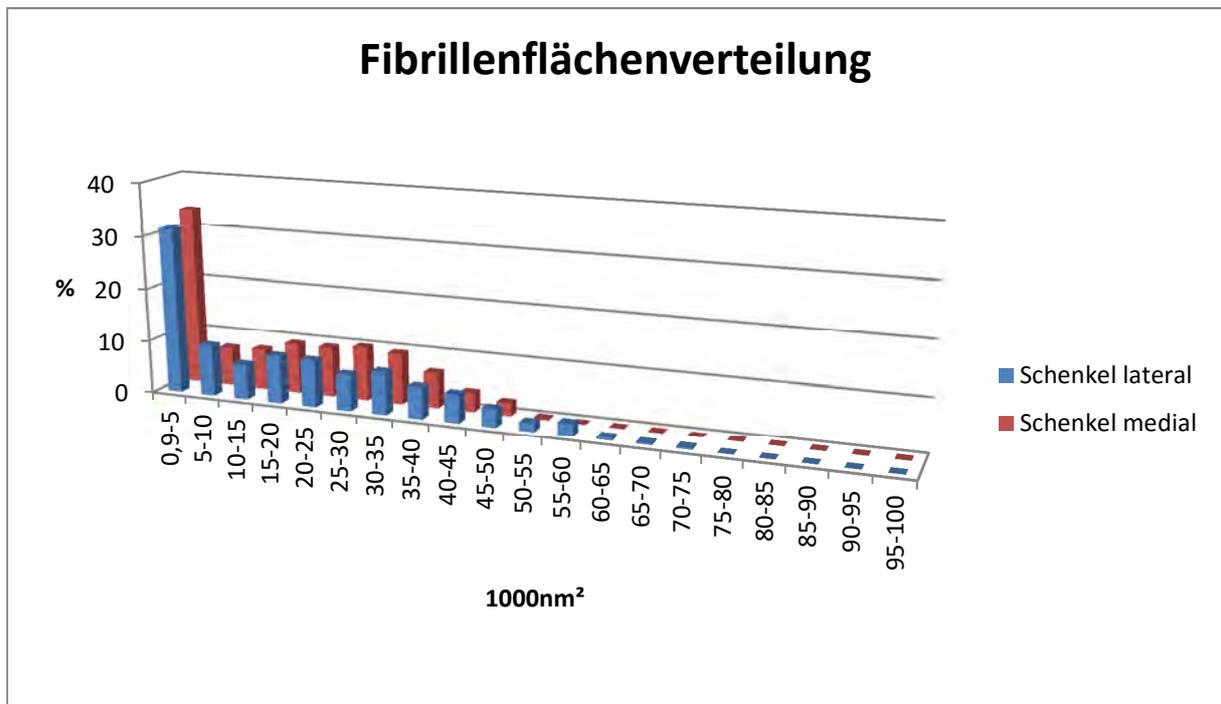


Abb. 42 Fibrillenflächenverteilung in % am Fesselträgerschenkel des Vorderbeins

Beispielbilder für die Fesselträgerschenkel am Vorderbein zeigen die Abbildungen 43 und 44.

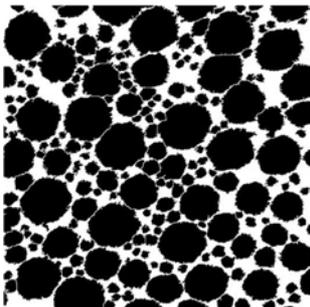


Abb. 43 Vorderbein lateraler Schenkel

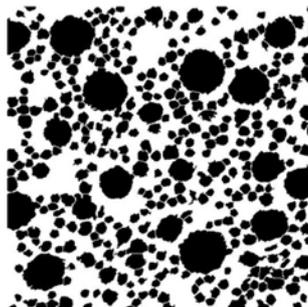


Abb. 44 Vorderbein medialer Schenkel

4.8.2. Hinterbein

Am Hinterbein ist der Anteil größerer Kollagenfibrillen (>60000nm²) insgesamt höher als am Vorderbein. Der prozentuale Anteil der einzelnen Kollagenfibrillen an den verschiedenen Lokalisationen ist in Tabelle 14 aufgelistet.

Fläche in nm ²	prox. lat.	prox.	prox.	Mitte	Mitte	Mitte	Schenkel	Schenkel
		Mitte	med.	lat.	Mitte	med.	lat.	med.
900-5000	19,7	33,7	30,7	25,6	31,6	39,1	30,8	13,9
5000-10000	8,8	13,0	19,9	6,1	12,2	24,7	12,6	4,7
10000-15000	9,8	10,5	15,1	7,2	8,2	4,8	13,5	7,0
15000-20000	11,1	10,2	9,3	6,4	5,7	4,1	12,0	9,4
20000-25000	9,8	9,3	6,1	7,0	5,2	4,3	10,8	10,2
25000-30000	8,0	6,5	4,3	8,2	6,6	4,1	7,1	11,0
30000-35000	8,5	6,9	2,3	6,6	6,3	5,6	4,5	8,1
35000-40000	7,4	4,6	2,1	7,9	4,0	3,4	3,2	6,0
40000-45000	6,2	2,7	2,5	8,5	5,9	2,1	2,5	5,8
45000-50000	4,9	1,9	1,9	4,6	3,8	1,7	1,2	8,1
50000-55000	2,9	0,2	2,1	4,3	5,2	1,9	1,1	5,4
55000-60000	1,7	0,2	0,7	2,6	1,5	1,3	0,5	5,8
60000-65000	1,1	0,3	0,5	1,5	1,1	0,3	0,0	1,9
65000-70000	0,3	0,0	0,3	0,8	1,2	0,9	0,3	0,6
70000-75000	0,0	0,0	0,6	0,6	1,0	0,0	0,0	1,0
75000-80000	0,0	0,0	0,9	0,0	0,7	0,3	0,0	0,3
80000-85000	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,4	0,0	0,7
85000-90000	0,0	0,0	0,4	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0
90000-95000	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,0	0,0
95000-100000	0,0	0,0	0,5	0,4	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 14 Anteil der Kollagenfibrillen in % am Hinterbein

Der Anteil kleiner Fibrillen im proximalen Bereich liegt in der Mitte und medial bei über 30%, lateral bei nur ca. 19%. Große Fibrillen (>60000nm²) zeigen sich vor allem proximal medial mit 3,2%. Die Verteilung am Fesselträgerursprung am Hinterbein zeigt Abbildung 45.

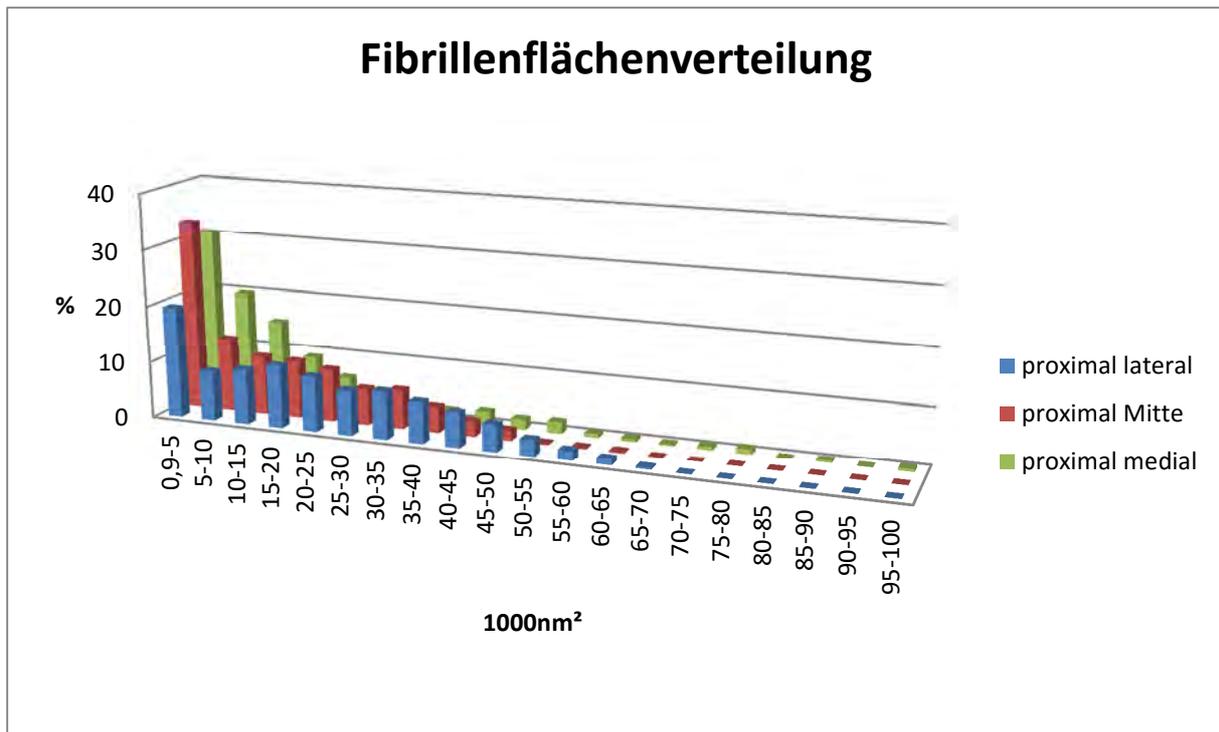


Abb. 45 Fibrillenflächenverteilung in % am Hinterbein proximal

Beispiele für die unterschiedliche Kollagenfibrillenverteilung im proximalen Bereich des Fesselträgers am Hinterbein zeigen die Abbildungen 46, 47 und 48.

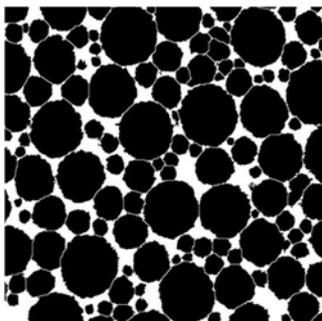


Abb. 46 Hinterbein

proximal lateral

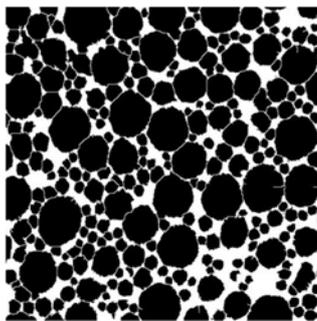


Abb. 47 Hinterbein

proximal Mitte

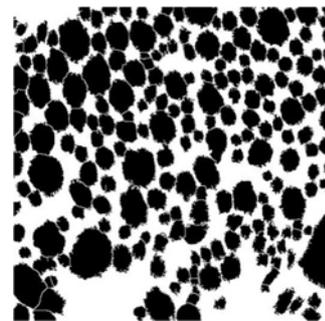


Abb. 48 Hinterbein

proximal medial

An der medialen Lokalisation beträgt im Bereich des Fesselträgerkörpers der Anteil kleiner Fibrillen sogar fast 40%. In der Mitte und lateral hingegen bei 31% bzw. 25%. Im Bereich des Fesselträgerkörpers am Hinterbein wurde der größte Anteil an großen Kollagenfibrillen

gemessen. Die Verteilung der Kollagenfibrillen im Bereich der Mitte des Fesselträgers zeigt Abbildung 49.

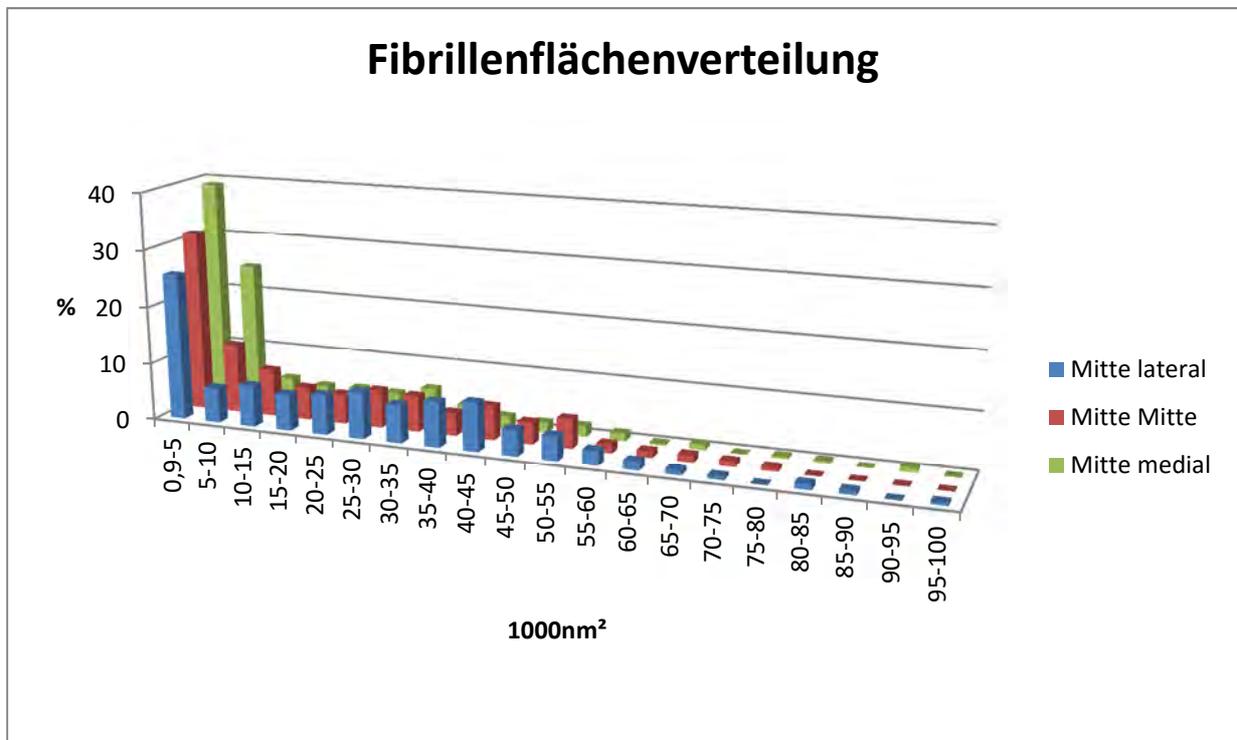


Abb. 49 Fibrillenflächenverteilung in % am Hinterbein Mitte

Die ELMI-Bilder des Fesselträgerkörpers am Hinterbein sind in den Abbildungen 50 bis 52 dargestellt.

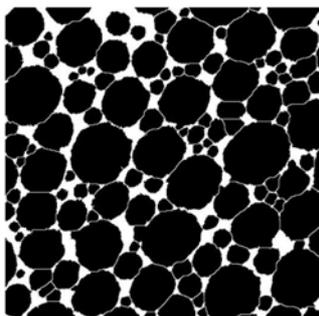


Abb. 50 Hinterbein

Mitte lateral

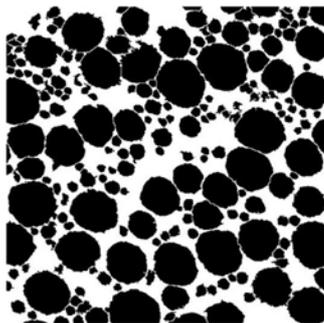


Abb. 51 Hinterbein

Mitte Mitte

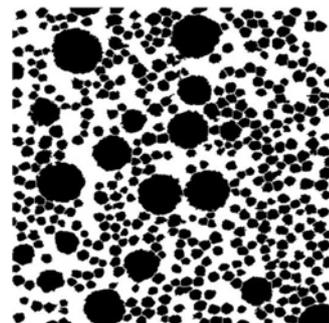


Abb. 52 Hinterbein

Mitte medial

Der laterale und mediale Schenkel am Hinterbein unterscheiden sich in der Verteilung der Kollagenfibrillen sehr deutlich. Der mediale Schenkel zeigt nur einen geringen Anteil an kleinen Kollagenfibrillen (13,9%), aber einen größeren Anteil an großen Kollagenfibrillen

(4,5%). Der laterale Schenkel hat im Vergleich dazu einen höheren Anteil an kleinen Fibrillen (30%). Mit 0,3% ist der Anteil großer Fibrillen im lateralen Schenkel sehr gering. In Abbildung 53 sind die Anteile der Kollagenfibrillen graphisch dargestellt.

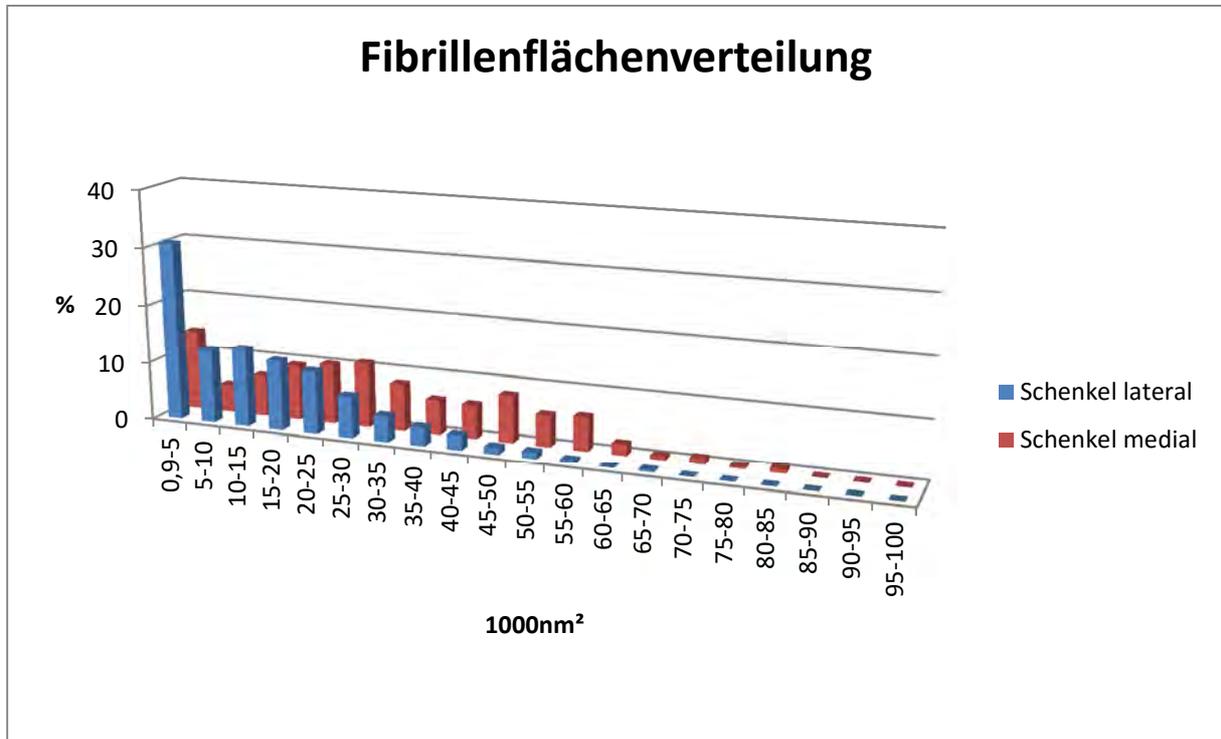


Abb. 53 Fibrillenflächenverteilung in % am Fesselträgerschenkel des Hinterbeins

Den lateralen Fesselträgerschenkel des Hinterbeins mit einem deutlich höheren Anteil an kleinen Fibrillen zeigt Abbildung 54. Im Vergleich dazu in Abbildung 55 der mediale Schenkel mit einem hohen Anteil an großen Fibrillen.

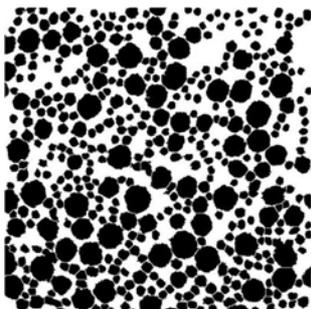


Abb. 54 Hinterbein lateraler Schenkel

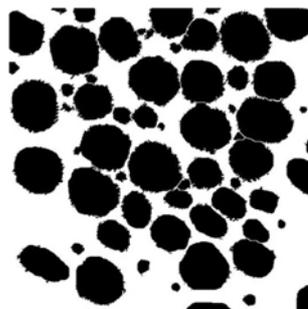


Abb. 55 Hinterbein medialer Schenkel

4.8.3. Vergleich Vorder- und Hinterbein

Der Vergleich der Kollagenfibrillenverteilung am Vorder- und Hinterbein wurde mit Hilfe des Levene-Tests durchgeführt. Das ist ein Test auf Gleichheit der Varianzen. Er wurde bezogen auf die Fibrillenfläche, -durchmesser und -umfang genutzt. Außerdem wurde für alle 3 Maße ein Box-Plot erstellt. Hier wird der Median, das erste und dritte Perzentil dargestellt. Somit wird der Quartilsabstand ersichtlich.

	Mittelwert	Median	Gültige N	Maximum	Minimum	Varianz	Perzentil 25	Perzentil 75	SD	Mittlerer Quartilsabstand (MQA)
vorne - proximal - lateral	7.186,3	6.310,71	16	12.354,20	4.111,21	5.560.644,70	5.740,21	8.432,35	2358,101928	1346
vorne - proximal - medial	5.820,5	4.712,01	16	11.937,73	1.681,85	8.658.138,31	3.754,68	7.998,14	2942,471463	2122
vorne - proximal - Mitte	6.019,5	5.841,20	16	9.097,74	3.014,12	2.643.086,23	5.015,95	7.234,89	1625,757125	1109
vorne - Mitte - lateral	4.113,1	4.130,31	16	7.509,63	1.644,05	3.071.427,65	2.603,15	5.434,03	1752,548902	1415
vorne - Mitte - medial	5.208,3	4.676,86	16	10.029,88	2.284,49	5.508.938,21	3.474,80	6.299,04	2347,112739	1412
vorne - Mitte - Mitte	4.806,1	4.331,76	16	8.442,50	2.904,04	2.460.562,54	3.488,12	5.884,47	1568,618037	1198
vorne - lateral - Schenkel	6.650,2	5.560,99	16	18.393,82	2.461,74	15.014.889,09	4.569,47	7.414,06	3874,905042	1422
vorne - medial - Schenkel	5.687,3	5.138,52	16	10.157,36	2.947,20	5.875.551,96	3.473,64	7.710,54	2423,953787	2118
hinten - proximal - lateral	9.475,6	9.393,64	16	16.023,08	2.738,77	20.145.539,97	5.075,11	13.429,99	4488,378323	4177
hinten - proximal - medial	5.835,5	6.041,74	16	8.018,80	2.949,84	2.697.887,58	4.725,38	7.061,89	1642,524757	1168
hinten - proximal - Mitte	5.629,1	5.455,47	16	9.161,19	2.871,88	4.349.712,78	3.491,80	7.147,32	2085,596504	1828
hinten - Mitte - lateral	7.909,3	6.081,16	16	23.145,03	2.775,93	25.454.176,20	5.361,04	8.931,20	5045,213197	1785
hinten - Mitte - medial	4.403,3	4.549,48	16	6.518,03	2.574,45	1.366.439,82	3.268,07	5.287,96	1168,948169	1010
hinten - Mitte - Mitte	6.147,8	4.333,99	16	13.002,04	3.404,65	9.955.893,72	3.710,29	8.299,02	3155,296139	2294
hinten - lateral - Schenkel	6.195,8	6.110,22	16	14.791,95	1.870,89	11.999.871,39	3.343,89	7.106,83	3464,083052	1881
hinten - medial - Schenkel	10.635,9	9.034,98	16	19.430,51	6.714,99	14.543.775,39	8.171,36	12.809,47	3813,630212	2319
Gesamt	6.357,7	5.642,31	256	23.145,03	1.644,05	11.050.399,17	4.055,90	7.760,57	3324,214067	1852

Tab. 15 Ergebnisse Fibrillenfläche am Vorder- und Hinterbein

Aus den Box-Plots in Abbildung 56 lassen sich sowohl Unterschiede hinsichtlich des Medians als auch in Bezug auf die Streuung der Messwerte gut erkennen. So wird beispielsweise deutlich, dass sich die Fibrillen von Vorder- und Hinterbein an der Lokalisation „Schenkel medial“ hinsichtlich ihrer mittleren Fläche (Median) deutlich voneinander unterscheiden. Der Quartilsabstand (Fläche des Box-Plots) ist hingegen auf annähernd gleichem Niveau. Umgekehrt verhält es sich bzgl. der Lokalisation „Mitte Mitte“. Hier sind die Mediane nahezu gleich, jedoch variieren die Werte an den Hinterbeinen offensichtlich stärker als an den Vorderbeinen. Bei der Lokalisation „proximal lateral“ sind sowohl relevante Unterschiede in Bezug auf die Mediane als auch auf die Quartilsabstände zu erkennen.

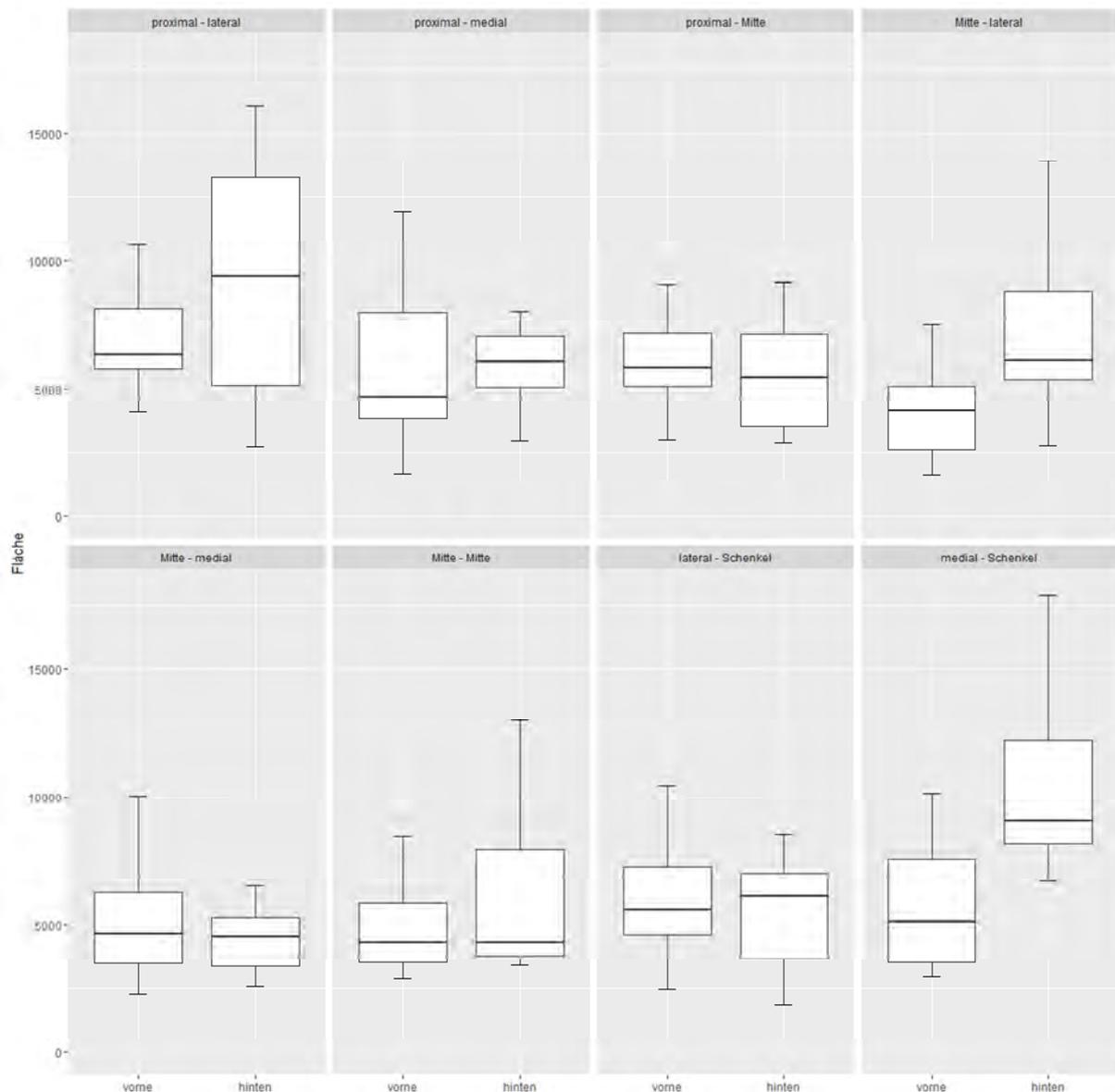


Abb. 56 Vergleich des Medians und des Quartilsabstandes der Fibrillenfläche von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (Box-Plots)

In Tabelle 16 sind die Ergebnisse des Levene-Test auf Gleichheit der Varianzen von Vorder- und Hinterbein für die verschiedenen Lokalisationen wiedergegeben. Am Hinterbein ist die Varianz an den Lokalisationen „proximal lateral“, „Mitte lateral“ und „Mitte Mitte“ signifikant höher als am Vorderbein. Die Lokalisationen „proximal medial“ und „Mitte medial“ zeigen am Vorderbein eine signifikant höhere Varianz als am Hinterbein. Mit Blick

auf die Box-Plots etwas überraschend ist die fehlende Signifikanz der Lokalisation „proximal Mitte“, da zumindest optisch der Quartilsabstand sich größer darstellt als beispielsweise bei der im Levene-Test signifikanten Lokalisation „Mitte medial“. Die Grund hierfür ist in der Gesamtvariation der Daten zu finden. Während bei der letztgenannten Lokalisation die Fläche am Vorderbein hohe Extremwerte aufweist und gleichzeitig die Werte für das Hinterbein nur leicht variieren, unterscheiden sich die Extremwerte für die Lokalisation „Mitte medial“ nur geringfügig voneinander. Entsprechend fallen die Varianzunterschiede geringer aus.

	p-Wert
proximal - lateral	0,002
proximal - medial	0,019
proximal - Mitte	0,229
Mitte - lateral	0,035
Mitte - medial	0,024
Mitte - Mitte	0,007
lateral - Schenkel	0,851
medial - Schenkel	0,165

Tab. 16 Test auf Gleichheit der Varianzen (Levene-Test), statistisch signifikant für p-Wert < 0,05, Fibrillenfläche

	Mittelwert	Median	Gültige N	Maximum	Minimum	Varianz	Perzentil 25	Perzentil 75	SD	Mittlerer Quartilsabstand (MQA)
vorne - proximal - lateral	104,7	101,71	16	138,78	84,28	257,15	93,59	116,45	16,04	11,43
vorne - proximal - medial	94,6	89,06	16	141,28	55,17	530,92	80,46	110,56	23,04	15,05
vorne - proximal - Mitte	96,7	95,50	16	123,54	72,50	153,67	87,83	105,34	12,40	8,75
vorne - Mitte - lateral	82,2	83,09	16	112,20	54,35	226,12	68,51	92,60	15,04	12,04
vorne - Mitte - medial	89,3	88,09	16	126,51	65,09	295,50	77,88	96,25	17,19	9,19
vorne - Mitte - Mitte	88,4	86,98	16	119,79	72,34	211,67	76,90	98,23	14,55	10,66
vorne - lateral - Schenkel	99,8	95,80	16	172,26	63,88	666,50	87,46	103,68	25,82	8,11
vorne - medial - Schenkel	94,0	91,87	16	126,85	67,66	346,16	75,62	110,05	18,61	17,21
hinten - proximal - lateral	119,5	119,51	16	163,25	72,02	864,14	92,12	144,91	29,40	26,39
hinten - proximal - medial	100,6	104,70	16	121,75	75,45	244,52	86,91	112,10	15,64	12,59
hinten - proximal - Mitte	92,6	91,47	16	121,73	67,70	335,52	75,34	109,49	18,32	17,07
hinten - Mitte - lateral	104,7	94,90	16	191,76	68,53	877,08	90,27	111,97	29,62	10,85
hinten - Mitte - medial	85,7	91,07	16	104,90	63,30	221,09	71,98	98,43	14,87	13,22
hinten - Mitte - Mitte	94,9	88,92	16	134,82	72,30	400,07	78,60	111,27	20,00	16,34
hinten - lateral - Schenkel	96,9	100,74	16	151,57	56,71	714,21	75,76	106,14	26,72	15,19
hinten - medial - Schenkel	123,7	115,44	16	170,49	98,54	489,57	110,17	133,82	22,13	11,83
Gesamt	98,0	94,58	256	191,76	54,35	518,64	82,34	110,01	22,77	13,84

Tab. 17 Ergebnisse Fibrillendurchmesser am Vorder- und Hinterbein

Der Box-Plot des Fibrillendurchmessers (Abbildung 57) zeigt ähnliche Werte wie der der Fibrillenfläche. Auch hier zeigen sich deutliche Unterschiede an den Lokalisationen „proximal lateral“, „Mitte lateral“ und „medialer Schenkel“. Der Durchmesser der Kollagenfibrillen zeigt hier am Hinterbein insgesamt höhere Werte als am Vorderbein.

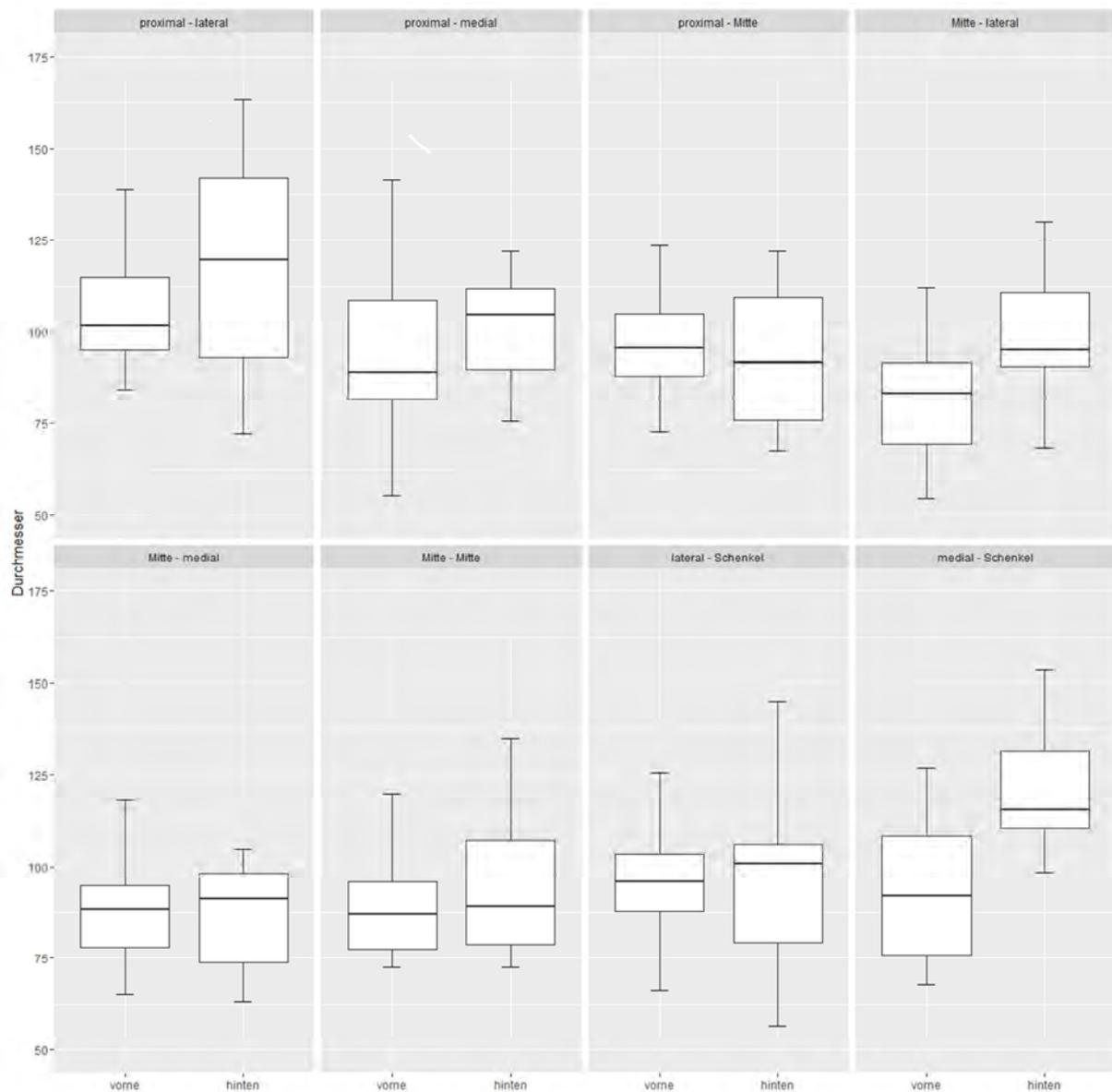


Abb. 57 Vergleich des Medians und des Quartilsabstandes des Fibrillendurchmessers von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (Box-Plots)

Die Varianzen des Fibrillendurchmessers sind in Tabelle 18 dargestellt. Sie zeigen nur an einer Lokalisation einen statistisch signifikanten Unterschied. „Proximal lateral“ ist die Streuung am Hinterbein signifikant höher als am Vorderbein.

	p-Wert
proximal - lateral	0,008
proximal - medial	0,148
proximal - Mitte	0,083
Mitte - lateral	0,134
Mitte - medial	0,889
Mitte - Mitte	0,197
lateral - Schenkel	0,661
medial - Schenkel	0,642

Tab. 18 Test auf Gleichheit der Varianzen (Levene-Test), statistisch signifikant für p-Wert < 0,05, Fibrillendurchmesser

	Mittelwert	Median	Gültige N	Maximum	Minimum	Varianz	Perzentil 25	Perzentil 75	SD	Mittlerer Quartilsabstand (MQA)
vorne - proximal - lateral	326,2	317,72	16	438,20	256,21	2.860,91	287,57	357,16	53,49	35
vorne - proximal - medial	300,3	284,20	16	452,29	169,22	7.119,25	247,34	338,19	84,38	45
vorne - proximal - Mitte	305,1	308,63	16	379,91	215,02	1.727,93	275,59	330,81	41,57	28
vorne - Mitte - lateral	255,2	261,00	16	355,15	153,67	3.421,33	197,01	298,51	58,49	51
vorne - Mitte - medial	282,8	270,10	16	403,14	190,06	4.095,99	233,14	317,13	64,00	42
vorne - Mitte - Mitte	278,4	272,33	16	426,13	211,63	3.166,16	233,76	313,89	56,27	40
vorne - lateral - Schenkel	322,9	297,17	16	707,20	182,36	15.080,24	262,41	339,05	122,80	38
vorne - medial - Schenkel	293,0	286,83	16	426,58	201,84	4.374,46	239,70	347,08	66,14	54
hinten - proximal - lateral	383,3	380,81	16	591,35	214,06	13.274,88	281,10	458,48	115,22	89
hinten - proximal - medial	324,0	340,75	16	402,54	223,89	3.352,59	266,96	371,14	57,90	52
hinten - proximal - Mitte	298,4	289,98	16	427,77	196,32	5.350,80	241,73	372,90	73,15	66
hinten - Mitte - lateral	350,8	329,41	16	675,20	223,32	10.741,09	286,36	390,15	103,64	52
hinten - Mitte - medial	267,3	270,09	16	342,14	182,19	3.213,06	213,46	320,84	56,68	54
hinten - Mitte - Mitte	308,7	293,12	16	443,55	218,72	4.757,99	248,68	364,77	68,98	58
hinten - lateral - Schenkel	313,4	313,88	16	583,11	162,49	12.122,59	228,12	354,15	110,10	63
hinten - medial - Schenkel	426,5	419,15	16	593,91	303,82	5.605,82	387,16	452,25	74,87	33
Gesamt	314,8	306,16	256	707,20	153,67	7.655,81	257,20	360,87	87,50	52

Tab. 19 Ergebnisse Fibrillenumfang am Vorder- und Hinterbein

Die Unterschiede an den 3 Lokalisationen „proximal lateral“, „Mitte lateral“ und „medialer Schenkel“ zeigen sich im Box-Plot (Abbildung 58) bezogen auf den Umfang ebenso wie bei der Fläche und des Durchmessers. Allerdings ist die Abweichung in der Verteilung des Fibrillenumfangs am medialen Schenkel zwischen Vorder- und Hinterbein noch etwas deutlicher.

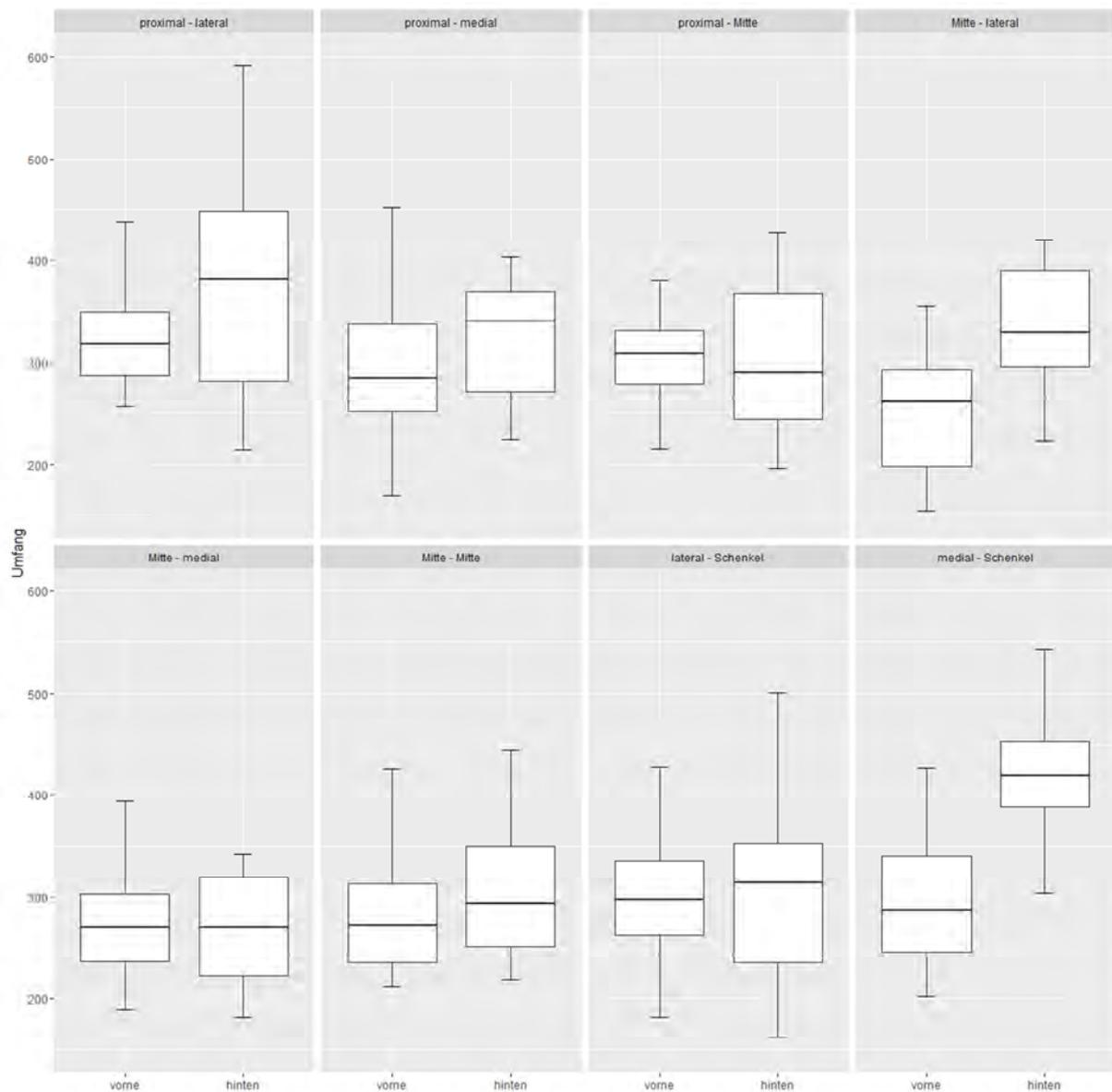


Abb. 58 Vergleich des Medians und des Quartilsabstandes des Fibrillenumfangs von Vorder- und Hinterbein nach Lokalisation (Box-Plots)

Am Hinterbein ist an den Lokalisationen „proximal lateral“ und „proximal Mitte“ die Varianz des Fibrillenumfangs signifikant höher als am Vorderbein. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 zu sehen.

	p-Wert
proximal - lateral	0,002
proximal - medial	0,189
proximal - Mitte	0,023
Mitte - lateral	0,33
Mitte - medial	0,905
Mitte - Mitte	0,359
lateral - Schenkel	0,954
medial - Schenkel	0,971

Tab. 20 Test auf Gleichheit der Varianzen (Levene-Test), statistisch signifikant für p-Wert < 0,05, Fibrillenumfang

5. Diskussion

5.1. Methode

Bisher sucht man in der Literatur vergeblich nach einer Darstellung der Ultrastruktur des *M. interosseus medius*. Deshalb war die Erfassung der Ultrastruktur das Hauptziel dieser Arbeit. Die von uns verwendete Methode entspricht dem in der Literatur beschriebenen Standard. Sie ähnelt der von Rigozzi et al. (2010).

In dieser Studie nutzten die Autoren für die Erfassung der Kollagenmorphologie eine ähnliche Methode. Jeweils 4 Vorder- und Hinterbeine von Schlachtpferden wurden zunächst so weit präpariert, dass wir eine freie Sicht auf den Fesselträger hatten. Nach eingehender makroskopischer Untersuchung, beurteilten wir die Unversehrtheit des Fesselträgers. Sofern dies der Fall war, konnte die Probenentnahme beginnen. Hierbei achteten wir darauf, dass wir an allen Beinen die gleichen Lokalisationen wählten. Die Erstellung der Elektronenmikroskopischen Bilder erfolgte nach Standardarbeitsanweisung. Mit dem Einscannen der Bilder erzielten wir eine gute Qualität, die für das Arbeiten mit dem Programm „Image J“ sehr von Vorteil war. Für die Erstellung des Binary, mussten wir einige Bilder im Vorfeld etwas bearbeiten, da der Kontrast hier nicht so eindeutig war. Die Auswahl des $2,25\mu\text{m}^2$ großen Feldes erfolgte weitestgehend zufällig. Da das Feld im Vergleich zu dem ganzen Bild relativ klein war, gestaltete sich auch dieser Schritt als komplikationslos. Mit der Größe des Feldes erzielten wir eine Anzahl von 64 bis 163 Fibrillen pro Flächeneinheit. Für die Bestimmung der Parameter, erwies sich dies als eine ausreichende Menge. Die Bedienung des Programmes „Image J“ ist sehr einfach gestaltet und für die Erfassung unserer Parameter völlig zufriedenstellend.

Bei der Auswahl des Materials zeigt sich, dass die Anzahl der Beine für eine erste morphologische Grundklassifizierung als Datengrundlage ausreichend ist. Um einen Einfluss des Geschlechts, des Alters oder der Nutzung (Dressur, Springen, etc.) auf den Aufbau des Fesselträgers festzustellen, wäre eine größere Anzahl wünschenswert.

5.2. Ergebnisse

In einem 500kg schweren Pferd sind über 1000J elastische Energie in den Beugesehnen und dem Fesselträger in jedem Bein bei jedem Schritt gespeichert. Das wird erreicht durch die Gravitations- und Trägheitskräfte, welche das Carpalgelenk strecken und die kollagenen Strukturen dehnen (Wilson et al. 2001). Tiere, die elastische Energie in ihren Sehnen speichern, haben konforme, nachgiebige Sehnen (Biewener et al. 2000) und minimieren Längenveränderungen in dem dazugehörigen Muskel (Biewener 1998, Hof 1998, Kurokawa et al. 2001). Im Gegensatz dazu spannt der Muskel vor (Grandage 1981, Hermanson et al. 1992) und/oder versorgt das System durch Verkürzung bei geringer Belastung der Sehne (Biewener 1998). Ein weiterer Gewinn an Leistung wird durch Verkürzung oder Entfernung von Muskelfasern erreicht, weil die energetische Belastung der erzeugenden, isometrischen Kraft eine Funktion der Länge der Muskelfasern über einen aktivierten Umfang ist (Alexander et al. 1977, Alexander 1988, Biewener et al. 2000). Der Endpunkt dieser Optimierung findet sich in dem komplett kollagenen Fesselträger eines erwachsenen Pferdes (Wilson et al. 2001). Um die Funktion des Fesselträgers noch besser zu verstehen, ist die Kenntnis des Aufbaus auf kleinstmöglicher Ebene, der Elektronenmikroskopie, essentiell. Ebenso ist die Ultrastruktur für die Evaluierung der biomechanischen Eigenschaften einer kollagenen Struktur genauso wichtig wie die histologischen Kenntnisse (Butler et al. 1978). Die Erfassung dieser sollte anhand der Auswertung elektronenmikroskopischer Bilder des M. interosseus medius im Querschnitt geschehen, um erstens eine Datengrundlage des kollagenen Aufbaus des Fesselträgers zu erheben und um zweitens Kontrolldaten für den Vergleich in der Folgestudie zu haben. In dieser sollen die Werte des gesunden Fesselträgers mit denen eines geschädigten Fesselträgers verglichen werden.

Der Fibrillenflächenanteil in % beschreibt den Teil, welcher von Kollagenfibrillen bedeckt ist. Das bedeutet, dass die restliche Fläche aus amorpher Grundsubstanz besteht, welche sich aus dem zellulären Bestandteil, Sehnenfibroblasten und Tendozyten (Williams et al. 1980, McIlwraith 2002) und verschiedenen Proteinen zusammensetzt (Smith et al. 2002). Der Fibrillenflächenanteil beträgt am Vorderbein zwischen 54,5% und 62,2%, am Hinterbein liegt er zwischen 61,3% und 69,6%. An allen Lokalisationen wurde am Hinterbein ein höherer Fibrillenflächenanteil gefunden als am Vorderbein. Dieser ist an den Lokalisationen „proximal Mitte“ und „Mitte lateral“ am Hinterbein sogar signifikant höher als am

Vorderbein. Der höhere Fibrillenflächenanteil am Hinterbein bedeutet, dass der Fesselträger hier eine höhere Dichte an Kollagenfibrillen als am Vorderbein besitzt. Da prozentual mehr Gewicht auf den Vorderbeinen eines Pferdes lastet, ist es denkbar, dass der nicht-kollagene Anteil einen erheblichen Beitrag für die Tragefunktion leistet. Ebenso ist es möglich, dass im Gegensatz zum Kollagenfibrillenanteil, der Anteil der Muskelfasern in den Vorderbeinen höher ist. Bisherige Studien haben über den Muskelfasergehalt im M. interosseus medius sehr unterschiedliche Ergebnisse hervorgebracht. Wilson et al. (1991) beispielsweise haben in der Vordergliedmaße einen Muskelfaseranteil von 31% und im Hinterbein von 41% gemessen. Der höhere Anteil von Kollagenfibrillen am Hinterbein hat eine größere Oberfläche und damit mehr Stärke und Stabilität des Fesselträgers zur Folge. Das wiederum unterstützt nicht die Behauptung, dass ein Fesselträgerschaden an den Hinterbeinen häufiger auftritt als an den Vorderbeinen. Es sei denn, der Grund hierfür ist der größere Anteil an Kollagenfibrillen. Das würde bedeuten, dass der höhere Anteil an amorpher Grundsubstanz sich positiv auf die Funktion und die Haltbarkeit des Fesselträgers auswirkt. Der größte Fibrillenflächenanteil wurde am Vorder- und am Hinterbein an der Lokalisation „proximal medial“ gemessen. Das könnte bedeuten, dass der mediale Bereich des Fesselträgerursprungs am meisten beansprucht ist, was wiederum dazu führt, dass hier häufiger Faserrisse vorkommen.

Die Fibrillendichte beschreibt die Anzahl der Fibrillen pro Fläche. Die Fibrillenanzahl korreliert mit ihrer Größe. Also je mehr kleine Kollagenfibrillen, desto höher die Fibrillendichte und umgekehrt. Das spiegelt sich auch in der Fibrillenflächenverteilung wieder. Die höchste Anzahl an dicken Kollagenfibrillen wurde am medialen Schenkel des Hinterbeins gemessen. Hier wurde auch die niedrigste Fibrillendichte mit 64,6 gezählt. Der Vergleich von Vorder- und Hinterbein zeigt hier auch einen signifikanten Unterschied. Vorne ist die Dichte am medialen Schenkel signifikant höher als am Hinterbein. Die Lokalisation mit dem höchsten Anteil an kleinen Fibrillen ($900 - 5000\text{nm}^2$) ist „Mitte lateral“ am Vorderbein. Hier ist die Fibrillendichte mit 163 die höchste.

Die Fibrillenfläche beschreibt den Mittelwert der Fläche der gemessenen Fibrillen. Am Vorderbein liegt sie zwischen $3649,9\text{nm}^2$ und $6667,8\text{nm}^2$. Die Lokalisation „Mitte lateral“ am Vorderbein hat die geringste Fibrillenfläche. Das zeigte sich schon in der Fibrillendichte. In diesem Bereich sind die Kollagenfibrillen am dünnsten. Verglichen mit dem Hinterbein ist

dieser Unterschied signifikant. Der Grund hierfür könnte sein, dass die Bewegung im Fesselträger hier am höchsten ist. An den Lokalisationen „medialer Schenkel“ und „proximal lateral“ am Hinterbein wurden die größten Fibrillenflächen gemessen. Am medialen Schenkel des Hinterbeins ist die Fibrillenfläche sogar signifikant größer als am Vorderbein. Das Ergebnis deckt sich mit dem der gemessenen Fibrillendichte, da an diesen beiden Lokalisationen die geringste Dichte an Fibrillen gemessen wurde. Das bedeutet, je mehr dicke Fibrillen, desto geringer ihre Gesamtanzahl. Ein hoher Anteil an dicken Fibrillen bedingt aber nicht zwangsläufig einen hohen Fibrillenflächenanteil, da diese Lokalisationen nicht den höchsten Wert in diesem Bereich ergeben haben.

Die Ergebnisse des Fibrillenumfangs zeigen am Vorderbein Werte zwischen 244nm und 314nm und am Hinterbein zwischen 260nm und 416nm. Der Fibrillendurchmesser liegt am Vorderbein zwischen 79,3nm und 101,3nm und am Hinterbein zwischen 84,1nm und 120,9nm. Die signifikanten Unterschiede sind die Gleichen wie bei der Fibrillenfläche. Abbildung 27 und 28 zeigen, dass die Fibrillenfläche, der Fibrillenumfang und der Fibrillendurchmesser voneinander abhängig sind, was eine Bestätigung für richtige Messungen innerhalb der Studie ist. Die gleichen Signifikanzen bei allen 3 Messwerten unterstützen das ebenso. Es zeigt sich hierdurch außerdem, dass alle 3 Werte für Vergleiche herangezogen werden können. In früheren Studien wurde vor allem der Wert des Fibrillendurchmessers für Vergleiche genutzt. Aufgrund dessen wählten wir die Einteilung in 4 Gruppen mit unterschiedlichem Durchmesser. Diese Aufteilung der Kollagenfibrillen zeigt, dass am Vorderbein der Anteil kleinster Fibrillen (unter 80nm) deutlich höher ist als am Hinterbein. Große Fibrillen über 120nm wurden hingegen zu einem höheren Prozentsatz am Hinterbein gemessen. Das zeigt, dass große Fibrillen eine hohe Fibrillengesamtfläche begünstigen. Viele kleine Fibrillen können nicht die gleiche Fläche bedecken.

Die Fibrillenflächenverteilung zeigt ebenfalls eine Aufteilung von kleinen, mittleren und großen Fibrillen. Ein Vergleich der einzelnen Lokalisationen am Vorderbein ergibt, dass die höchste Anzahl an kleinen Fibrillen in der Mitte lateral gemessen wurde. Das spiegelt sich auch in der Verteilung des Fibrillendurchmessers wider. Hier hat diese Lokalisation ebenfalls den größten Anteil kleinster Fibrillen (unter 80nm). Große Fibrillen, zwischen 60000 und 100000nm² wurden nur zu einem sehr geringen Anteil gemessen (0,6 – 1,2%). Am Hinterbein wurden mit 39,1% an der Lokalisation „Mitte medial“ die höchste Anzahl an kleinen Fibrillen

gemessen. Am medialen Schenkel hingegen nur 13,9% und „proximal lateral“ nur 19,7%. Der Anteil großer Fibrillen ist am Hinterbein wesentlich höher als am Vorderbein. Er liegt hier zwischen 0,3 und 4,5%. Der mediale Schenkel ist die Lokalisation mit der höchsten Dichte an dicken Fibrillen. Das ist vor allem im Boxplot-Diagramm der Fibrillenfläche, des -umfangs und des -durchmessers sehr gut sichtbar. Bei dem Vergleich der Fibrillenverteilung am Vorder- und Hinterbein zeigen die Varianzen der Fibrillenfläche an fast allen Lokalisationen, außer „proximal Mitte“, „lateraler“ und „medialer Schenkel“, signifikante Unterschiede. Das macht sehr gut deutlich, dass die Verteilung der Fibrillen innerhalb des Fesselträgers sehr stark variiert. Möglicherweise liegt das daran, dass die einzelnen Lokalisationen sich entsprechend ihrer Belastung unterschiedlich anpassen. Somit ist der Gehalt an kleinen bzw. großen Fibrillen abhängig von der Belastung. Das wiederum spiegelt die Anpassungsfähigkeit des Fesselträgers wieder. Die Varianzen des Fibrillendurchmessers und -umfangs sind nicht so deutlich. Das liegt daran, dass die Zahlen der Fläche sehr viel höher sind. Die Bedeutung der Aufteilung der unterschiedlich großen Kollagenfibrillen zeigt sich in der Funktion dieser. Um das genauer zu beschreiben, ist zunächst die Bedeutung des „stress“ (Stärke pro Flächeneinheit) und des „strains“ (Streckung oder Dehnung pro Längeneinheit) zu erklären. Stress beschreibt die Stärke pro Flächeneinheit eines Materials und strain beschreibt die Dehnbarkeit pro Längeneinheit eines Materials. Stress ist proportional zu strain. Das beschreibt die stress-strain-Kurve ($E = \text{stress} / \text{strain}$) (Johnson et al. 2006).

Belastungsexperimente in vitro generieren eine Belastungs-Deformierungs-Kurve, von welcher die strukturellen Eigenschaften der sehnigen Stärke und Steifheit abgeleitet werden können. Die stress-strain-Kurve für Bänder (Abbildung 59) hat 4 Zonen. Zone 1 bezieht sich auf die Zehenregion, welche mit der Aufhebung des Wellenmusters (crimp) assoziiert wird. Zone 2 zeigt die lineare Phase, von welcher die Steifheit bestimmt wird (Belastung geteilt durch die Deformation für den linearen Bereich der Kurve). Der genaue Mechanismus für die Ausdehnung ist nicht bekannt, aber er entsteht durch die Dehnung der Kollagenfibrillen und/oder durch das Gleiten der Fibrillen aneinander. Zone 3 bezeichnet die Dehngrenze nach welcher ein irreversibler Schaden auftritt, vermutlich durch die Ruptur von kovalenten cross-links und das Nachgeben der Kollagenfibrillen. Und Zone 4 bezeichnet schließlich die Ruptur der Kollagenfibrillen, welche zu einem kompletten Defekt führt.

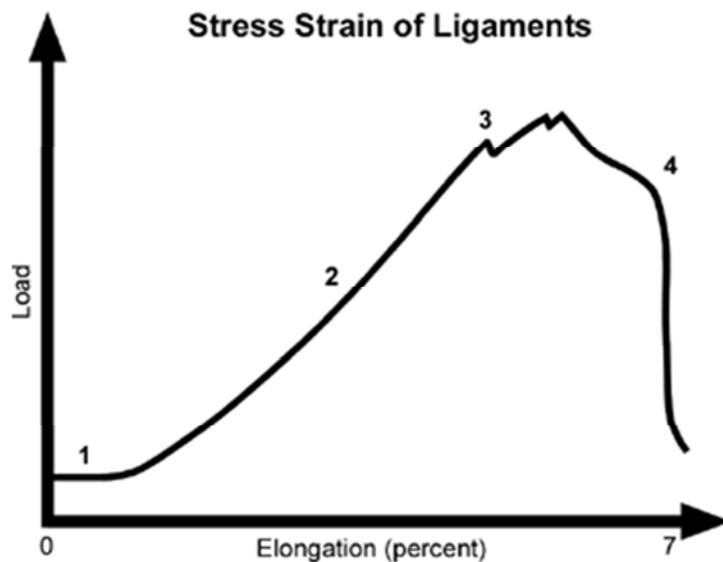


Abb. 59 stress-strain-Kurve für Bänder (Johnson et al. 2006)

Wenn also der Querschnitt und die Länge einer Sehne/eines Bandes bekannt sind, kann die Stärke (stress) gegen die Dehnung (strain) gezeichnet werden. Von dieser können die materiellen Eigenschaften der endgültigen sehnigen Stärke (N/mm^2) und der Young's modulus der Elastizität ($\text{E}:\text{MPa}$) berechnet werden (Smith 2002).

Dicke Fibrillen bestimmen die dehbare Stärke einer Sehne (stress) und dünne Fibrillen sind verantwortlich dafür einer Überdehnung zu widerstehen (strain) (Parry et al. 1978b). Je weniger große Fibrillen, desto geringer die dehbare Kraft. Das wiederum kann die Entstehung einer Desmitis begünstigen (Becker 1996). Der Fesselträger und die oberflächliche Beugesehne sind einer längerfristigen, hohen Belastung ausgesetzt, die Strecksehne hingegen einer kurzfristigen hohen Belastung (Parry et al. 1978a). Je mehr dicke Fibrillen, desto höher der stress, weil die Konzentration an kollagen-kovalenten Quervernetzungen höher ist (Parry et al. 1988). Je mehr dünne Fibrillen, desto höher ist der strain durch eine hohe Anzahl an nicht-kovalenten Quervernetzungen zwischen Kollagen und Matrix (Parry et al. 1978b). In der oben erwähnten Studie von Rigozzi et al. (2010) wurden ähnliche Beobachtungen gemacht. Hier zeigte sich, dass Sehnen mit dicken Fibrillen steifer und weniger elastisch sind.

Diese Kenntnisse über dicke und dünne Fibrillen zeigen, dass der Fesselträger am Vorderbein dehnungsfähiger und am Hinterbein stärker ist. Bezogen auf die unterschiedlichen Lokalisationen ist der mediale Schenkel am Hinterbein der Bereich, der den höchsten Anteil an dicken Fibrillen aufweist und somit am stärksten ist. Die Lokalisation „Mitte lateral“ am

Vorderbein hat die meisten dünnen Fibrillen und ist daher der Bereich, der am dehnungsfähigsten ist. Bei dem Vergleich der Fibrillenflächenverteilung mit dem Fibrillenflächenanteil zeigt sich, dass weder der Anteil kleiner Fibrillen noch der Anteil großer Fibrillen einen Einfluss auf den Fibrillenflächenanteil haben.

Es stellt sich die Frage warum der Anteil der Fibrillenfläche insgesamt am Hinterbein höher ist als am Vorderbein? Das Protein COMP ist essentiell für die Kollagenfibrillogenese. Je mehr COMP während des Wachstums vorhanden ist, desto stärker wird die Sehne (Briggs et al. 1995). Es ist vorwiegend in der Wachstumsphase vorhanden (Smith et al. 2002, Goodship et al. 1994). Also ist es denkbar, dass im juvenilen Alter in den Hintergliedmaßen mehr COMP vorhanden ist als im Vorderbein. Das könnte den höheren Anteil an Kollagen im Hinterbein erklären. Warum ist der Anteil großer Fibrillen (Durchmesser über 120nm) am Hinterbein höher als am Vorderbein? Fesselträgerschäden treten häufiger am Hinterbein auf, außerdem heilen sie am Hinterbein schlechter aus und neigen häufiger zu Rezidiven. Am Vorderbein heilen sie in der Regel schneller aus (Nowak 1993, Dyson et al. 1995, Lischer et al. 2006b). Die Prognose eines Fesselträgerschadens am Hinterbein ist allgemein schlecht (Dyson 2000). In unserer Studie wurden mehr Pferde mit Fesselträgerschäden am Hinterbein (21) als am Vorderbein (9) aufgenommen. Obwohl die Anzahl von insgesamt 30 Pferden eher gering ist, spiegelt das jedoch die Häufigkeit der Betroffenheit des Hinterbeins wieder. Es ist denkbar, dass das Hinterbein im Laufe der Entwicklung einen höheren Anteil an Kollagenfibrillen entwickelt hat, damit hier der Fesselträger mehr stress aushalten kann. Der Kollagenfibrillenanteil und die Menge an großen Fibrillen begünstigen das. Je mehr dicke Fibrillen in einer kollagenen Struktur vorhanden sind, desto höher die Stärke pro Flächeneinheit (stress). Diese Gegebenheiten erscheinen zunächst paradox, da die Vordergliedmaße durch das einwirkende höhere Körpergewicht und durch die diffizileren Bewegungsabläufe einer wesentlich höheren Belastung ausgesetzt sind (Dämmrich 1991). Obwohl im Stand prozentual ein höherer Anteil des Körpergewichts auf den Vorderbeinen lastet, sieht das in der Bewegung allerdings etwas anders aus. Vor allem bei Dressurpferden, bei denen es gewünscht ist, dass sie vermehrt Last auf die Hinterbeine aufnehmen. Somit kann die vermehrte Belastung der Hinterbeine in der Bewegung außerdem ein Grund für den höheren stress sein. Bezogen auf die Lokalisationen sind der laterale Ursprung am Hinterbein und der mediale Ursprung am Vorderbein die Bereiche, welche wesentlich häufiger betroffen sind (Butler et al. 1996). Am Hinterbein hat die Lokalisation „proximal

lateral“ einen niedrigeren Fibrillenflächenanteil (64,8%) als „proximal medial“ (69,6%). Am Vorderbein sind der laterale (62%) und der mediale Ursprung (62,2%) annähernd gleich. Somit kann der geringere Fibrillenflächenanteil nur als Erklärung für die Gegebenheiten am Hinterbein geltend gemacht werden. Studien, in denen die oberflächliche Beugesehne ultrastrukturell untersucht wurde, haben ergeben, dass fetale und neugeborene Fohlen eine einheitliche Fibrillengröße mit einem moderaten Durchmesser besitzen (Parry et al. 1978a, Woo et al. 1982). Während des Wachstums entwickelt sich eine bimodale Verteilung in der Größe der Kollagenfibrillen, mit der größten Anzahl kleiner Fibrillen mit einem Durchmesser unter 40nm und einer geringeren Anzahl großer Fibrillen mit einem Durchmesser über 200nm. Dieses Muster tritt innerhalb des ersten Lebensjahres auf (Woo et al. 1982). Die kleinen Fibrillen repräsentieren entweder neue Kollagenfibrillen, welche darauf warten in große Fibrillen eingebaut zu werden oder einen unterschiedlichen Kollagentyp (Typ III hat einen kleineren Durchmesser als Typ I) oder die Zerreißung von großen Fibrillen (Smith 2002). Die Veränderung des Fibrillendurchmessers scheint durch Belastung und Arbeit beeinflusst zu werden, da unterschiedliche Bewegungsregime die Zeit des Auftretens kleiner Fibrillen verändern (Woo et al. 1982). Studien, in denen Fohlen unterschiedlicher Arbeit ausgesetzt wurden, haben diese Veränderung gezeigt. Fohlen, die auf einer Weide gehalten wurden, entwickelten sehr schnell eine Dominanz der kleinen Fibrillen, in einem Alter von 5 Monaten. Fohlen, die in der Box gehalten wurden, zeigten eine verzögerten Ansatz des adulten Phenotyps (Kasashima et al. 2002). Oberflächliche Beugesehnen von Adulten zeigen eine bimodale Verteilung mit einer hohen Anzahl von kleinen Fibrillen (40nm) und einer geringeren Anzahl, aber einer umfassenderen Größenordnung von großen Fibrillen. Alte Sehnen zeigen hingegen eine unimodale Verteilung der Fibrillen, genau wie die einer fetalen oder neugeborenen Sehne (Parry et al. 1978a). In einer Studie, in der 3 jährige Pferde über 18 Monate ein Laufbandtrainingsprogramm erhielten, zeigte sich eine Verschiebung der Kollagenfibrillen zu einem geringeren Durchmesser (Birch et al. 1997a). Dieser Effekt wurde aufgrund einer Spaltung großer Fibrillen und nicht durch die Formation neuer Fibrillen vermutet. Überträgt man diese Kenntnis auf den Fesselträger, so ist es möglich, dass die vermehrte Belastung der Vorderbeine eine Erklärung für den höheren Anteil kleinster Fibrillen ist. Somit könnte die Entstehung der Fibrillenverteilung in der Wachstumsphase eine Ursache für den Unterschied zwischen Vorder- und Hinterextremität sein.

Das Wissen über die Verteilung der Kollagenfibrillen könnte auch von Bedeutung für die Auswahl der Therapie sein. Die Lokalisationen, die einen hohen Anteil an dicken Fibrillen haben, sollten daher eher mit polysulfatierten Glykosaminoglykanen (PSGAG) behandelt werden, der mediale Schenkel am Hinterbein beispielsweise. Überträgt man die pharmakologischen Effekte von PSGAG, welche in Gelenken nachgewiesen wurden, auf andere Gewebe, so wird die mögliche Wirkung verständlich. PSGAG stimuliert die Matrixbiosynthese von Bindegewebszellen (Proteoglykane, Fibronectin), wirkt antiinflammatorisch und hemmt die katabolen Enzyme (Trotter 1996). Diese Wirkung wäre ebenso in einer Sehne zu erwarten. Bestimmte Proteoglykane, v.a. Fibromodulin sollen den Durchmesser der Kollagenfibrillen erhöhen (Smith 2002). Durch eine vermehrte Synthese dieser könnte eine größere Menge an Fibrillen mit großem Durchmesser erreicht werden. Ein hoher Anteil kleinster Fibrillen würde hingegen eine Hyaluronsäure-Behandlung bevorzugen, da diese die Neubildung von Kollagenfibrillen mit kleinem Durchmesser begünstigt. Morphometrische Untersuchungen belegen, dass 6 Tage nach einer Hylartil®-Applikation in die oberflächliche Beugesehne, Kollagenfibrillen mit einem Durchmesser von 30 bis 60nm gemessen wurden. Kontrollsehnen, welche eine Injektion mit Kochsalz erhielten, zeigten demgegenüber einen Fibrillendurchmesser zwischen 80 und 100nm (Haack 1992). Morphologische Untersuchungen über die Wirkung von Hylartil® bei chronischen Tendinitiden deuten auf eine verstärkte Aktivierung der Tendozyten, der Makrophagen und des Gefäßapparates hin. Hier wurden ebenso mehr Kollagenfibrillen mit kleinem Durchmesser beobachtet, was höchstwahrscheinlich auf eine gesteigerte Kollagensynthese zurück zu führen ist (Drommer et al. 1990). Bezieht man nun die Kenntnis des ultrastrukturellen Aufbaus des Fesselträgers in die Auswahl seiner Therapie mit ein, so ist es am Vorderbein eher sinnvoll auf die Injektion einer Hyaluronsäure zurückzugreifen.

Die Daten der vorliegenden Arbeit liefern eine erste Grundlage für die Kenntnis der Ultrastruktur des M. interosseus medius. Diese Datengrundlage kann weitere Einblicke in die Möglichkeiten der Diagnostik, Behandlung und Vermeidung von Fesselträgerschäden ermöglichen. Diese Studie soll einen Anstoß für weitere ultrastrukturelle Untersuchungen geben, um den Fesselträger auf seiner kleinsten Ebene noch besser zu verstehen.

6. Zusammenfassung

Läsionen des M. interosseus medius sind eine häufige Ursache für Lahmheiten und Verlust der Sporttauglichkeit des Pferdes. Die natürliche Heilung des Fesselträgers ist langsam und von schlechter Qualität, was zu langen Ausfällen führt und in einer Prädisposition für Rezidivkrankungen resultiert. Für die Evaluierung der biomechanischen Eigenschaften einer kollagenen Struktur ist die Kenntnis über dessen Ultrastruktur essentiell. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Darstellung des M. interosseus medius auf ultrastruktureller Ebene, der Elektronenmikroskopie. Sie soll damit einen Beitrag zum Verständnis der Funktion und Heilung des Fesselträgers leisten. Außerdem dienen die Ergebnisse als Datengrundlage für den Vergleich von gesunden mit geschädigten Fesselträgern. Bisherige Studien haben ergeben, dass die Auswertung elektronenmikroskopischer Bilder eine gute Möglichkeit ist, um ein Verständnis über die Funktion unterschiedlicher Gewebe zu liefern. Es wurden insgesamt 4 Vorderbeine und 4 Hinterbeine von gesunden Pferden untersucht. An insgesamt 8 Lokalisationen wurden Proben des M. interosseus medius entnommen, um sie für die Elektronenmikroskopie vorzubereiten. Nach dem Einlegen in eine Fixierlösung (3% Glutaraldehyd/0,05ml Phosphatpuffer), wurden die Präparate nachfixiert (2% OsO₄ und 0,2m Phosphatpuffer/Saccharose) und entwässert. Dann folgte die Einbettung in Kunstharz, die Herstellung des Semidünnschnitts, die Färbung mit Toluidin und der Ultradünnschnitt. Die Bilder wurden unter dem Transmissionselektronenmikroskop Philips CM 100 angefertigt. Nach dem Ausdrucken und Einscannen erfolgte die Auswertung mit dem Programm Image J. Folgende Parameter wurden berechnet: Fibrillenflächenanteil; Fibrillendichte; Fläche, Durchmesser und Umfang jeder Kollagenfibrille und die Fibrillenflächenverteilung. Die Ergebnisse zeigen einen Fibrillenflächenanteil am Vorderbein zwischen 54,5% und 62,2% und am Hinterbein zwischen 61,3% und 69,9%. Der Vergleich zeigt, dass an allen Lokalisationen am Hinterbein ein höherer Fibrillenflächenanteil als am Vorderbein gemessen wurde. Das bedeutet, dass der Fesselträger aufgrund seines höheren Anteils an Kollagenfibrillen stabiler und kräftiger sein müsste. Die Fibrillendichte beträgt am Vorderbein zwischen 94,6 und 163 Fibrillen pro Fläche (µm²) und am Hinterbein zwischen 64,6 und 145,4. Bei diesen Ergebnissen zeigt sich, je mehr kleine Fibrillen, desto größer die Fibrillendichte. Der Fibrillendurchmesser, sowie die Fibrillenfläche zeigen, dass am Hinterbein im Allgemeinen der Gehalt an dickeren Kollagenfibrillen höher ist als am Vorderbein. Der mediale Schenkel

des Hinterbeins ist die Lokalisation mit dem höchsten Anteil dicker Fibrillen. An der Lokalisation Mitte lateral am Vorderbein wurden die meisten dünnen Fibrillen gemessen. Der Fibrillendurchmesser beträgt vorne zwischen 79,3nm und 101,3nm und hinten zwischen 84,1nm und 120,9nm. Dicke Fibrillen sind für die dehnbare Kraft einer Sehne (stress) und dünne Fibrillen dafür einer Überdehnung zu widerstehen (strain). Das bedeutet, dass der Fesselträger des Vorderbeins dehnbarer und der des Hinterbeins kräftiger ist. Der höhere Kollagenanteil am Hinterbein könnte eventuell durch das Protein COMP erklärt werden, welches für die Kollagenfibrillogenese von großer Bedeutung ist. Es ist möglich, dass im juvenilen Alter in der Hinterextremität mehr COMP vorhanden ist. Der höhere Anteil an dicken Fibrillen am Hinterbein könnte sich im Laufe der Zeit entwickelt haben, da Fesselträgerschäden hier häufiger auftreten und v.a. Dressurpferde vermehrt Last auf die Hinterbeine aufnehmen sollen. Das könnte eine Erklärung dafür sein, dass sich der ultrastrukturelle Aufbau des M. interosseus medius hinten im Vergleich zum Vorderbein verändert hat. Andererseits ist es ebenso denkbar, dass die vermehrte Belastung der Vorhand zu einer Spaltung großer Fibrillen führt. Das würde in einem höheren Anteil kleiner Fibrillen resultieren. Die unterschiedliche Verteilung der Kollagenfibrillen könnte die Therapiewahl beeinflussen, indem am Hinterbein die Behandlung mit PSGAG vorgezogen würde und am Vorderbein die mit Hyaluronsäure.

Die Arbeit hat einen ersten Einblick in den ultrastrukturellen Aufbau des Fesselträgers ermöglicht. Sie soll einerseits ein Anstoss für weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen geben, um den Aufbau des M. interosseus medius noch besser zu verstehen und andererseits eine Vergleichsgrundlage für die ELMI-Bilder geschädigter Fesselträger sein.

7. Summary

Lesions of the M. interosseus medius are a frequent reason for lameness and loss of suitability of sports of the horse. The natural healing of the suspensory ligament is slow and of bad quality, what leads to long failures and results in a predisposition for recurrent diseases. The knowledge of the ultrastructure is essential for the evaluation of the biomechanic properties of the collagenous structure. This dissertation is concerned with the presentation of the M. interosseus medius on the ultrastructural level, the electron microscopy. The dissertation should be helpful as a contribution of comprehension for the function and the healing of the suspensory ligament. Furthermore the results serve as a data base for the comparison of a healthy and a damaged suspensory ligament. Past Studies have shown that the evaluation of electron microscope pictures are a good possibility to get a better understanding of the different tissues. 4 front legs and 4 hind legs of healthy horses were examined. On 8 localisations of the M. interosseus medius samples were abstracted to prepare them for the electron microscope. After inserting the samples in a fixer (3% glutaraldehyde/0,05ml phosphate buffer), the anatomical preparations were fixed again (2% OsO₄ and 0,2m phosphate buffer/saccharose) and dehydrated. After that the preparations were embedded in synthetic resin, the preparation of the semi thin section, the colourisation with Toluidin and the ultra thin section. The pictures were taken under the transmission electron microscope Philipps CM 100. The evaluation with the software Image J followed after printing and scanning the pictures. The following parameters were calculated: fibril area fraction; fibril density; area, diameter and scope of each collagen fibril and the fibril area distribution. The results show that the fibril area fraction in the forelimb is between 54.5% and 62.2% and in the hindlimb between 61.3% and 69.9%. The comparison shows that on each localisation of the hindlimb the fibril area fraction is higher than measured on the forelimb. This means that the suspensory ligament because of its higher proportion on collagen fibrils must be more stable and powerful. The fibril density on the forelimb is between 94.6 and 163 fibrils per area (μm^2) and on the hindlimb between 64.6 and 145.4. The results show that in case of more smaller fibrils the fibril density is bigger. The fibril diameter as well as the fibril area show that the concentration of thicker collagen fibrils on the hindlimb are higher than on the forelimb. The medial branche of the hindlimb is the location with the highest amount of thick fibrils. On the localisation middle lateral most

of the thin fibrils were measured. The fibril diameter in the forelimb is between 79.3nm and 101.3nm and on the hindlimb between 84.1nm and 120.9nm. The thick fibrils are for the tensile strength of a tendon (stress) and the thin fibrils to withstand a hyperextension (strain). This means that the suspensory ligament of the forelimb is more tensile and the one of the hindlimb is more powerful. The protein COMP could be a reason for the higher amount of collagen on the hindlimb and is also important for the collagen fibrillogenesis . It seems to be possible that in the juvenile age the hindlimb contained more COMP. The higher amount of thick fibrils in the hindlimb could be a part of an evolution process, as damages on suspensory ligament are more frequently because dressage horses take more load on the hind legs. This could be a reason for the fact that the ultrastructural constitution of the M. interosseus medius on the hind in comparison to the front leg has changed. On the other hand it is also thinkable that the increased load on the front hand caused a split of the fibrils. The consequence of this would be a bigger part of small fibrils. The different distribution of the collagen fibrils could influence the therapy, by using PSGAG for the treatment on the hindlimb and hyaluronic acid for the forelimb. This dissertation provides an insight into the ultrastructural constitution of the suspensory ligament. On the one hand this dissertation should initiate more electron microscope studies for a better understanding of the structure of the M. interosseus medius and on the other hand as a basis of comparison for electron microscope pictures of damaged suspensory ligament.

8. Literaturverzeichnis

ALEXANDER, R. McN.; BENNET-CLARK, H. C. (1977):

Storage of elastic strain energy in muscle and other tissues.

In: Nature, Vol. 265, S. 114-117.

ALEXANDER, R. McN. (1988):

Elastic Mechanisms in Animal Movement.

In: Cambridge Univ. Press, Cambridge, S. 231.

BANSE, M. (2011):

Der Einfluss von regenerativen Therapie auf die Heilung des Musculus interosseus medius beim Pferd: Eine kontrollierte prospektive klinische und sonographische Studie.

Dissertation. Gießen. Justus-Liebig-Universität Gießen, Fachbereich Veterinärmedizin, Institut für Veterinär-Anatomie, -Histologie und –Embryologie.

BATTAGLIA, T. C.; CLARK, R. T.; CHHABRA, A.; GASCHEN, V.; HUNZIKER, E. B.; MIKIC, B. (2003):

Ultrastructural determinants of murine achilles tendon strength during healing.

In: Connective tissue research, Jg. 44, H. 5, S. 218-224.

BECKER, C. K. (1996):

Function and dysfunction of the accessory ligament of the deep digital flexor tendons in horses.

PhD. Utrecht. Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University. Department of General and Large Animal Surgery, S. 60.

BERENSON, M. C.; BLEVINS, F. T.; PLAAS, A. H.; VOGEL, K. G. (1996):

Proteoglycans of human rotator cuff tendons.

In: Journal of Orthopaedic Research, Jg. 14, H. 4, S. 518-525.

BIEWENER, A. A. (1998):

Muscle-tendon stresses and elastic energy storage during locomotion in the horse.

In: Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, Jg. 120, H. 1, S. 73-87.

BIEWENER, A. A.; ROBERTS, T. J. (2000):

Muscle and tendon contributions to force, work and elastic energy savings: a comparative perspective.

In: Exercise and sport sciences reviews, Jg. 28, H. 3, S. 99-107.

BIRCH, H. L.; WILSON, A.M.; GOODSHIP, A. E. (1997a):

Physical training induces alterations in tendon matrix composition which are structure specific.

In: Proceedings of the British Orthopedic Research Society, 1997.

BIRCH, H. L.; WILSON, A. M.; GOODSHIP, A. E. (1997b):

The effect of exercise-induced localised hyperthermia on tendon cell survival.

In: The Journal of experimental biology, Jg. 200, H. Pt 11, S. 1703-1708.

BISCHOFBERGER, A. S.; KONAR, M.; OHLERTH, S.; GEYER, H.; LANG, J.; UELTSCHI, G.; LISCHER, C. J. (2006):

Magnetic resonance imaging, ultrasonography and histology of the suspensory ligament origin: a comparative study of normal anatomy of warmblood horses.

In: Equine veterinary journal, Jg. 38, H. 6, S. 508-516.

BLAKESLEY, R. E.; MAZUMDAR, S.; DEW, M. A.; HOUCK, P. R.; TANG, G.; REYNOLDS, C. F. 3rd; BUTTERS, M. A. (2009):

Comparisons of methods for multiple hypothesis testing in neuropsychological research.

In: Neuropsychology, Jg. 23, H. 2, S. 255-264.

BOSCH, G.; VAN SCHIE, H. T. M.; GROOT, M. W. DE; CADBY, J. A.; VAN DE LEST, C. H. A.; BARNEVELD, A.; VAN WEEREN, P. R. (2010):

Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: A placebo-controlled experimental study.

In: Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 28, H. 2, S. 211-217.

BREHM, W. (1996):

Auswirkungen von Sehnenerkrankungen auf die Rennkarriere von Trabrennpferden.

In: Tagungsbericht der 14. Arbeitstagung der Fachgruppe „Pferdekrankheiten“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e. V., Wiesbaden, S. 258-265.

BRIGGS, M.D.; HOFFMAN, S. M. G.; KING, L. M.; OLSEN, A.S.; MOHRENWEISER, H.; LEROY, J.G.; MORTIER, G.R.; RIMOIN, D.L.; LACHMAN, R.S.; GAINES, E.S.; CEKLENIK, J.A.; KNOWLTON, R.G.; COHN, D.H. (1995):

Pseudoachondroplasia and multiple epiphyseal dysplasia due to mutations in the cartilage oligomeric matrix protein gene.

In: Nature Genetics, Jg. 10, S. 330-336.

BROWN, N. A. T.; PANDY, M. G.; KAWCAK, C. E.; MCILWRAITH, C. W. (2003):

Force- and moment-generating capacities of muscles in the distal forelimb of the horse.

In: Journal of anatomy, Jg. 203, H. 1, S. 101-113.

BUDRAS, K.-D.; RÖCK, S. (HG.) (2000):

Atlas der Anatomie des Pferdes. Lehrbuch für Tierärzte und Studierende.

4. Aufl. Hannover: Schlütersche GmbH & Co. KG.

BUDRAS, K.-D.; BUDA, S.; SCHNITKER, P.; PATAN, B.; SCHEIBE, K. (2003):

Die phylogenetische Entwicklung des Pferdes zum Fluchttier und daraus resultierende Krankheitsrisiken am Bewegungsapparat und Huf.

In: Wissenschaftliche Vortragsreihe des Fördervereins Mensch und Tier e.V. in Kooperation mit dem „Pferdeprojekt“ der Freien Universität Berlin, S.11-23.

BUTLER, D. L.; GROUD, D. S.; NOYES, F.R. (1978):

Biomechanics of ligaments and tendons.

In: Exercise and sport sciences reviews, Jg. 6, S. 125-181.

BUTLER, J. A.; COLLES, C. M.; DYSON, S. J.; KOLD, S. E.; POULOS, P. W. (1996):

Clinical radiology of the horse.

In: Blackwell Wissenschaftsverlag, 2. Aufl., Berlin-Wien, S. 344-378.

CANTY, E.G.; KADLER, K. E. (2002):

Collagen fibril biosynthesis in tendon: a review and recent insights.

In: Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, Jg. 133, H. 4, S. 979-985.

CAPLAN, A. I. (1991):

Mesenchymal stem cells.

In: Journal Orthopedics Research, Jg. 9, S. 641-650.

CHANG, J.; MOST, D.; STELNICKI, E. (1997):

Gene expression of transforming growth factor Beta-1 in rabbit zone II flexor tendon wound healing: Evidence for dual mechanism of repair.

In: Plastic & Reconstructive Surgery, Jg. 100, S. 937-944.

CHAPLIN, D. M.; GREENLEE, JR, T. K. (1975):

The development of the human digital tendons.

In: Journal of Anatomy, Jg. 120, H. 2, S. 253-274.

CHERDCHUTHAM, W.; BECKER, C.K.; SPEK, E.R.; VOORHOUT, W.F.; VAN WEEREN, P.R. (2001):

The effect of three exercise levels on the collagen fibril diameter distribution in the central core and periphery of immature equine superficial digital flexor tendons.

In: The equine superficial digital flexor tendon, Ph.D. Thesis. Utrecht University, Department of Equine Sciences, S. 71-90.

COLAHAN, P. T.; MERRITT, A. M.; MOORE, J. N.; MAYHEW, G. (HG.) (1999):

Diseases of the Metacarpus and Metatarsus.

In: Equine medicine and surgery, Vol. 2, St Louis: Mosby (2), S.297-326.

CREVIER-DENOIX, N.; POURCELOT, P. (1997):

Additional research on tendon strain and stresses.

In: American journal of veterinary research, Jg. 58, H. 6, S. 569-570.

CROVACE, A.; LACITIGNOLA, L.; SIENA, R. DE; ROSSI, G.; FRANCIOSO, E. (2007):

Cell therapy for tendon repair in horses: an experimental study.

In: Veterinary research communications, Jg. 31 Suppl. 1, S. 281-283.

DAHLGREN, L. A.; NIXON, A. J.; BROWER-TOLAND, B. D. (2001):

Effects of beta-aminopropionitrile on equine tendon metabolism in vitro and on effects of insulin-like growth factor I on matrix production by equine tenocytes.

In: American journal of veterinary research, Jg. 62, H. 10, S. 1557-1562.

DAHLGREN, L. A.; VAN DER MEULEN, M. C. H.; BERTRAM, J. E. A.; STARRAK, G. S.; NIXON, A. J. (2002):

Insulin-like growth factor I improves cellular and molecular aspects of healing in a collagenase-induced model of flexor tendinitis.

In: Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 20, H. 5, S. 910-919.

DÄMMRICH, K. (1991):

Orthologie und Pathologie der Insertion bei Tieren.

In: IX Tagung Pferdekrankheiten Equitana in Essen.

DEMEL, Z.; BÀLINT, B. J.; JÄRVINEN, M.; KVIST, M.; RÈFFY, A.; JÓZSA, L. (1982):

Quantitative electron microscopic examinations of collagen fibers of intact, degenerated and paralytic human tendons.

In: Traumatologia, Jg. 25, S. 263-266.

DENOIX, J.M. (1994):

Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes).

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 10, H. 2, S. 273-322.

DERWIN, K. A.; SOSLOWSKY, L. J. (1999):

A quantitative investigation of structure-function relationships in a tendon fascicle model.

In: Journal of biomechanical engineering, Jg. 121, H. 6, S. 598-604.

DIXON, W. J. (1993):

BMDP Statistical Software Manual, Volume 1 and 2. University of California Press, Berkeley, Los Angeles, London

DROMMER, W.; DAMSCH, S.; HERTSCH, B.; SCHMIDT, W.; KAUP, F.J. (1990):

Ultrastruktur der gesunden und erkrankten Sehne des Pferdes unter dem Einfluß einer Hylartil-Therapie.

In: 11. Arbeitstagung der Fachgruppe Pferdekrankheiten, Wiesbaden, 8.-9. März 1990.

DYSON, S. J. (1991):

Proximal suspensory desmitis: Clinical, ultrasonographic and radiographic features.

In: Equine veterinary journal, Jg. 23, H. 1, S. 25-31.

DYSON, S. J. (1994):

Proximal suspensory desmitis in the hindlimb: 42 cases.

In: The British veterinary journal, Jg. 150, H. 3, S. 279-291.

DYSON, S. J.; ARTHUR, R. M.; PALMER, S. E.; RICHARDSON, D. (1995):

Suspensory ligament desmitis.

In: The Veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 11, H. 2, S. 177-215.

DYSON, S. J. (2000):

Proximal suspensory desmitis in the forelimb and the hindlimb.

In: Proceedings of the Annual Convention of the AAEP 2000, Jg. 46, S. 137-142.

DYSON, S.; GENOVESE, R. L. (2002):

The Suspensory Apparatus.

In: Ross, M. W.; Dyson, S. J. (Hg.): Diagnosis and Management of Lameness in the Horse.

USA: Saunders, S. 654-666.

FACKELMANN, G. E. (1973):

The nature of tendon damage and its repair.

In: Equine veterinary journal, Jg. 5, H. 4, S. 141-149.

FARRY, P. J.; PRENTICE, N. G.; HUNTER, A. C.; WAKELIN, C. A. (1980):

Ice treatment of injured ligaments: an experimental model.

In: New Zealand Medical Journal, Jg. 91, S. 12-14.

FRIEDENSTEIN, A. J.; GORSKAJA, J. F.; KULAGINA, N. N. (1976):

Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs.

In: Exp. Hematol., Jg. 4, S. 267-274.

GENOVESE, R. L.; RANTANEN, N. W.; HAUSER, M. L.; SIMPSON, B. S. (1986):

Diagnostic ultrasonography of equine limbs.

In: The veterinary clinics of North America. Equine practice, Jg. 2, H. 1, S. 145-226.

GIRTLER, D. (2001):

Zur Biomechanik der Zehengelenke beim Pferd. Biomechanics of the digit in the horse.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 17, H. 4, S. 357-360.

GOLETZ, I. (2009):

Isolierung und Charakterisierung equiner mesenchymaler Stammzellen für einen möglichen Einsatz im Tissue Engineering.

Dissertation. Betreut von Prof. Dr. Dr. S. Arnhold. Gießen. Justus-Liebig Universität Gießen, Institut für Veterinäranatomie.

GOODSHIP, A. E.; BIRCH, H. L.; WILSON, A.M. (1994):

The pathobiology and repair of tendon and ligament injury.

In: The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice, Jg. 10, H. 2, S. 323-349.

GRAHAM, H. K.; HOLMES, D. F.; WATSON, R. B.; KADLER, K. E. (2000):

Identification of collagen fibril fusion during vertebrate tendon morphogenesis. The process relies on unipolar fibrils and is regulated by collagen-proteoglycan interaction.

In: Journal of Molecular Biology, Jg. 295, H. 4, S. 891-902.

GRANDAGE, J. (1981):

Penniform muscles of the horses forelimb.

In: Journal of Anatomy Abstract, Jg. 132, S. 318.

HAACK, B. (1992):

Einfluß von hochmolekularem Natrium-Hyaluronat auf Kollagenfibrillendurchmesser der gesunden tiefen Beugesehne

Dissertation, Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover

HART, R. A., AKESON, W. H.; SPRATT, K.; AMIEL, D. (1999):

Collagen fibril diameter distributions in rabbit anterior cruciate and medial collateral ligaments: Changes with maturation.

In: The Iowa orthopaedic journal, Jg. 19, S. 66-70.

HAUSER, M. L.; RANTANEN, N. W.; GENOVESE, R. L. (1984):

Suspensory desmitis: diagnosis using real-time ultrasound imaging.

In: Journal of equine veterinary science, H. 4, S. 258-262.

HAUT, R. C. (1983):

Age-dependent influence of strain rate on the tensile failure of rat-tail tendon.

In: Journal of biomechanical engineering, Jg. 105, H. 3, S. 296-299.

HERMANSON, J. W., COBB, M. A. (1992):

Four forearm flexor muscles of the horse, *Equus caballus*: anatomy and histochemistry.

In: *Journal of morphology*, Jg. 212, H. 3, S. 269-280.

HERTHEL, D. J. (2001):

Enhanced suspensory ligament healing in 100 horses by stem cells and other bone marrow components.

In: *American Association of Equine Practitioners*, Jg. 2001, Ausgabe 47, S.319-321.

HOF, A. L. (1998):

In vivo measurement of the series elasticity release curve of human triceps surae muscle.

In: *Journal of Biomechanics*, Jg. 31, H. 9, S. 793-800.

HUSKAMP, B.; NOWAK, M. (1988):

Insertionsdesmopathien beim Pferd und einige ihrer Lokalisationen.

In: *Pferdeheilkunde*, Jg. 4, S. 3-12.

IONITA, J.-D. (2010):

Ausblick in die regenerative Medizin.

Veranstaltung vom 07.10.2010. Bonn. Veranstalter: Merial GmbH

JANSEN, M. O.; VAN BUITEN, A.; VAN DEN BOGERT, A. J.; SCHAMHARDT, H. C. (1993):

Strain of the musculusinterosseusmedius and its rami extensorii in the horse, deduced from in vivo kinematics.

In: Actaanatomica, Jg. 147, H. 2, S. 118-124.

JANSEN, M. O.; SCHAMHARDT, H. C.; VAN DEN BOGERT, A. J.; HARTMAN, W. (1998):

Mechanical properties of the tendinous equine interosseus muscle are affected by in vivo transducer implantation.

In: Journal of biomechanics, Jg. 31, H. 5, S. 485-490.

JOHNSON, D. H.; PEDOWITZ, R. A. (2006):

The stress/strain curve of ligaments.

In: Practical Orthopaedic Sports Medicine and Arthroscopy, Lippincott Raven, Auflage: Anniversary, S. 568.

JÓZSA, L. G.; KANNUS, P. (1997):

Structure and metabolism of normal tendons.

In: Human Tendons: Anatomy, Physiology and Pathology, Eds: L. G. Józsa and P. Kannus, Human Kinetics Inc. Illinois, S. 46-95.

KADLER, K. E.; HOLMES, D.F.; GRAHAM, H.; STARBORG, T. (2000):

Tip-mediated fusion involving unipolar collagen fibrils accounts for rapid fibril elongation, the occurrence of fibrillar branched networks in skin and the paucity of collagen fibril ends in vertebrates.

In: Matrix Biology, Jg. 19, H. 4, S. 359-365.

KAINER, R. A. (1989):

Funktionelle Anatomie des Bewegungsapparates.

In: Stashak, T. S. (Hg.): Adam's Lahmheiten bei Pferden. Deutsche Bearbeitung. 4. Aufl.
Hannover: M. & H. Schaper GmbH, S. 38.

KANNUS, P. (2000):

Structure of the tendon connective tissue.

In: Scandinavian Journal of medicine and science in sports, Jg. 10, H. 6, S. 312-320.

KASASHIMA, Y.; SMITH, R. K. W.; BIRCH, H. L. (2002):

Exercise-induced tendon hypertrophy: cross-sectional area changes during growth are influenced by exercise.

In: Equine Veterinary Journal, Supplement, Jg. 34, S. 264-268.

KASTELIC, J.; GALESKI, A.; BAER, E. (1978):

The multicomposite structure of tendon.

In: Connective Tissue Research, Jg. 6, H. 1, S. 11-23.

KETCHUM, L. D. (1979):

Tendon healing. Fundamentals of wound management in surgery.

In: 1st Edition K. Hunt and J. E. Dunphy, Appleton-Century-Crofts, New York, S. 500-523.

KUROKAWA, S.; FUKUNAGA, T.; FUKASHIRO, S. (2001):

Behaviour of fascicles and tendinous structures of human gastrocnemius during vertical jumping.

In: Journal of applied physiology, Jg. 90, H. 4, S. 1349-1358.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. (2005):

Anatomie der Haussäugetiere.

3. Aufl. Stuttgart, Germany: Schattauer GmbH.

LEMPE, R. A. (2007):

Vergleichende magnetresonanztomographische Untersuchung am plantaren Aspekt des Tarsus des Pferdes – sonographische und histologische Korrelation des M. interosseus medius an der Hintergliedmaße des Pferdes.

Dissertation. Leipzig. Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig, Chirurgische Tierklinik.

LIAO, J.; VESELY, I. (2003):

A structural basis for the size-related mechanical properties of mitral valve chordae tendinae.

In: Journal of Biomechanics, Jg. 36, H. 8, S. 1125-1133.

LIN, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. (2004):

Biomechanics of tendon injury and repair.

In: Journal of Biomechanics, Jg. 37, H. 6, S. 865-877.

LISCHER, C. J.; BISCHOFBERGER, A. S.; FÜRST, A.; LANG, J., UELTSCHI, G. (2006a):

Disorders of the origin of the suspensory ligament in the horse: a diagnostic challenge.

In: Schweizer Archiv für Tierheilkunde, Jg. 148, H. 2, S. 86-97.

LISCHER, C. J.; RINGER, S. K.; SCHNEWLIN, M.; IMBODEN, I.; FÜRST, A.; STÖCKLI, M.; AUER, J. (2006b):

Treatment of chronic proximal suspensory desmitis in horses using focused electrohydraulic shockwave therapy.

In: Schweizer Archiv für Tierheilkunde, Jg. 148, H. 10, S. 561-568.

LISCHER, CH. J. (2010):

Ultraschalldiagnostik des Fesselträgers.

In: Pferdeheilkunde, Jg. 26, H. 3, S. 428-429.

MCCULLAGH, K. G.; GOODSHIP, A. E.; SILVER, I. A. (1979):

Tendon injuries and their treatment in the horse.

In: The Veterinary record, Jg. 105, H. 3, S. 54-57.

MCILWRAITH, C. W. (2002):

Erkrankungen der Gelenke, Sehnen, Bänder sowie ihrer Hilfseinrichtungen.

In: Ross, M. W.; Dyson, S. J. (Hg.): Diagnosis and Management of Lameness in the Horse. USA: Saunders, S. 447-448.

MIKIC, B.; SCHALET, B. J.; CLARK, R. T.; GASCHEN, V.; HUNZIKER, E. B. (2001):

GDF-5 deficiency in mice alters the ultrastructure, mechanical properties and composition of the Achilles tendon.

In: Journal of Orthopaedic research, Jg. 19, H. 3, S. 365-371.

MISHRA, A.; WOODALL, J.; VIEIRA, A. (2009):

Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma.

In: Clinics in sports medicine, Jg. 28, H. 1, S. 113-125.

MOYER, W.; RAKER, C. W. (1980):

Diseases of the suspensory apparatus.

In: The Veterinary clinics of North America. Large animal practice, Jg. 2, H. 1, S. 61-80.

MURPHY, D. J.; NIXON, A. J. (1997):

Biochemical and site-specific effects of insulin-like growth factor I on intrinsic tenocyte activity in equine flexor tendons.

In: American journal of veterinary research, Jg. 58, H. 1, S. 103-109.

NAGY, A; DYSON, S. (2009):

Magnetic resonance anatomy of the proximal metacarpal region of the horse described from images acquired from low- and high-field magnets.

In: Veterinary Radiology & Ultrasound, Jg. 50, H. 6, S. 595-605.

NICKEL, R.; SCHUMMER A.; SEIFERLE E. (HG.) (2001):

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere

Bewegungsapparat. 6. Aufl. Berlin: Parey Buchverlag Berlin (1).

NOWAK, M. (1993):

Langzeitergebnisse bei der Behandlung von Insertionsdesmopathien des Fesselträgerursprungs beim Pferd.

In: X. Tagung Pferdekrankheiten Equitana Essen.

PARRY, D. A.; CRAIG, A. S. (1977):

Quantitative electron microscope observations of the collagen fibrils in rat-tail tendon.

In: Biopolymers, Jg. 16, H. 5, S. 1015-1031.

PARRY, D. A.; CRAIG, A. S.; BARNES, G. R. (1978a):

Tendon and ligament from the horse: an ultrastructural study of collagen fibrils and elastic fibers as a function of age.

In: Proceedings of the royal society B: Biological sciences, Jg. 203, S. 293-303

PARRY, D. A.; BARNES, G. R.; CRAIG, A. S. (1978b):

A comparison of the size distribution of collagen fibrils in connective tissues as a function of age and a possible relation between fibril size distribution and mechanical properties.

In: Proceedings of the royal society B: Biological sciences, Jg. 203, S. 305-321.

PARRY, D. A.; CRAIG, A. S.; BARNES, G. R. (1980):

Fibrillar collagen in connective tissue.

In: Fibrous protein: scientific, industrial and medical aspects. Eds. D. A. Parry and L. K. Creamer, Academic Press, London, S. 77-88.

PARRY, D. A.; CRAIG, A. S. (1984):

Growth and development of collagen fibrils in connective tissue.

In: Ultrastructure of the connective tissue matrix, Eds: A. Ruggeri and P. M. Motta, Boston, Martinus Nijhoff, S. 34-64.

PARRY, D. A. (1988):

The molecular and fibrillar structure of collagen and its relationship to the mechanical properties of connective tissue.

In: Biophysical Chemistry, Jg. 29, H. 1-2, S. 195-209.

PARRY, D. A.; CRAIG, A. S. (1988):

Collagen fibrils during development and their contribution to the mechanical attributes of connective tissue.

In: Nimni ME, ed. Collagen Biochemistry and Biomechanics, H. 2, S. 1-23.

PLATT, D.; WILSON, A. (1994):

The role of biomechanics research in the understanding of equine lameness.

In: Equine veterinary journal, Jg. 26, H. 6, S. 435-436.

PROCKOP, D. J. (1997):

Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues.

In: Science, Jg. 276, S. 71-74.

RANTANEN, N. W.; MC KINNON, A. O. (1998):

In: Equine Diagnostic Ultrasonography, Williams & Wilkins Co.

REED, C. C.; IOZZO, R. V. (2003):

The role of decorin in collagen fibrillogenesis and skin homeostasis.

In: Glycoconjugate Journal, Jg. 19, H. 4-5, S. 249-255.

RICHTER, W. (1982):

Sehnenschäden.

In: O. Dietz und E. Wiesner (Hrsg.): Handbuch der Pferdekrankheiten für Wissenschaft und Praxis, 1. Aufl. Verlag Karger Basel, München, S. 988-996.

RIEMERSMA, D. J.; VAN DEN BOGERT, A. J.; JANSEN, M. O.; SCHAMHARDT, H. C. (1996):

Tendon strain in the forelimbs as a function of gait and ground characteristics and in vitro limb loading in ponies.

In: Equine veterinary journal, Jg. 28, H. 2, S. 133-138.

RIGOZZI, S.; MÜLLER, R.; SNEDEKER, J. G. (2009):

Local strain measurement reveals a varied regional dependence of tensile tendon mechanics on glycosaminoglycan content.

In: Journal of Biomechanics, Jg. 42, H. 10, S. 1547-1552.

RIGOZZI, S.; MÜLLER, R.; SNEDEKER, J. G. (2010):

Collagen fibril morphology and mechanical properties of the Achilles tendon in two inbred mouse strains.

In: Journal of Anatomy, Jg. 216, S. 724-731.

RIJKENHUIZEN, A. B. M.; GIETEMANN, I. V.; VAN DER REIJ, T. C. M. (2007):

Desmitits des Fesselträgers und Desmopathie des Fesselträgerursprungs an der Vorder- und Hintergliedmaße des Pferdes – eine retrospektive Studie über die Erfolge unterschiedlicher Behandlungen in der Praxis.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 23, H. 4, S. 357-365.

ROONEY, J. R. (1973):

Functional anatomy of the equine suspensory ligament.

In: Modern veterinary practice, Jg. 54, H. 6, S. 43-45.

ROSENBERG, K.; OLSSON, H.; MÖRGELIN, M.; HEINEGARD, D. (1998):

Cartilage oligomeric matrix protein shows high affinity zinc-dependent interaction with triple helical collagen.

In: The Journal of Biological Chemistry, Jg. 273, S. 20397-20403

ROSENBERG, K. (2001):

Cartilage oligomeric matrix protein (COMP): Functions in collagen binding and assembly.

In: PhD thesis, University of Lund, Sweden.

ROSENBROCK, A.; JACOBI, R.; PELLMANN, R.; JAUGSTETTER, H.; BREHM, W. (2004):

Der Einsatz der Übertragung autologen Knochenmarks in der Pferdeorthopädie.

In: DVG 18. Arbeitstagung der Fachgruppe „Pferdekrankheiten“ Hannover 04./05.03.2004.

ROSS, M.W. (2006):

Suspensory desmitis – management options.

In: Proceedings 20th North American Veterinary Conference 20, S. 198-200.

RYAN, J. M.; BARRY, F. P.; MURPHY, J. M.; MAHON, B. P. (2005):

Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection.

In: Journal of inflammation (London, England), Jg. 2, S. 8.

SAMPSON, S. N.; TUCKER, R. L. (2007):

Magnetic resonance imaging of the proximal metacarpal and metatarsal regions.

In: Clinical Techniques in Equine Practice, Jg. 6, H. 1, S. 78-85.

SCHNABEL, L. V.; MOHAMMED, H. O.; MILLER, B. J.; MCDERMOTT, W. G.; JACOBSON, M. S.; SANTANGELO, K. S.; FORTIER, L. A. (2007):

Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons.

In: Journal of orthopaedic research: Official publication of the Orthopaedic Research Society, Jg. 25, H. 2, S. 230-240.

SCHNEIDER, J. (2006):

Tendinitis

In: Dietz O., Huskamp B., Handbuch Pferdepraxis. Aufl. 3. Stuttgart: Verlag Enke; S. 928-933.

SCHULZE, T.; BUDRAS, K.-D. (2008):

Zur klinisch-funktionellen Anatomie des M. interosseus medius der Hintergliedmaße im Hinblick auf die Insertionsdesmopathie des Pferdes – Kernspin-, computertomographische und morphologische Untersuchungen. About the clinical and functional anatomy of the suspensory ligament (M. interosseus medius) in the hind limb in relation to high suspensory desmitis of the horse.

In: Pferdeheilkunde fundus, Jg. 24, H. 3, S. 343-350.

SCOTT, J. E.; ORFORD, C. R.; HUGHES, E. W. (1981):

Proteoglycancollagen arrangements in developing rat tail tendon.

In: Biochemical Journal, Jg. 195, H. 3, S. 573-581.

SILBERSIEPE, E.; BERGE, E.; MÜLLER, H. (1986):

Die Entzündung der Beugesehnen, Tendinitis.

In: Lehrbuch der speziellen Chirurgie für Tierärzte und Studierende. 16. Aufl. Verlag Enke, Stuttgart, S. 317-325.

SMITH, R. K. W. (2002):

Pathophysiology of Tendon Injury.

In: Diagnosis and Management of lameness in the horse, S. 616-626.

SMITH, R. K. W.; GERARD, M.; DOWLING, B.; DART, A. J.; BIRCH, H. L.; GOODSHIP, A. E. (2002):

Correlation of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) levels in equine tendon with mechanical properties: a proposed role for COMP in determining function-specific mechanical characteristics of locomotor tendons.

In: Equine Veterinary Journal, Jg. 34, H. 34, S. 241-244.

SMITH, R. K. W.; KORDA, M.; BLUNN, G. W.; GOODSHIP, A. E. (2003):

Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment.

In: Equine veterinary journal, Jg. 35, H. 1, S. 99-102.

SMITH, R. K. W. (2008):

Mesenchymal stem cell therapy for equine tendinopathy.

In: Disability and rehabilitation, Jg. 30, H. 20-22, S. 1752-1758.

SOFFLER, C.; HERMANSON, J. W. (2006):

Muscular design in the equine interosseus muscle.

In: Journal of morphology, Jg. 267, H. 6, S. 696-704.

SPAULDING, K. (1984):

Ultrasonographic anatomy of the tendons and ligaments in the distal metacarpal – metatarsal region of the equine limb.

In: vetRadiol Ultrasound, H. 25, S. 155-166.

STASHAK, T. S. (HG.) (1989):

Adam's Lahmheiten bei Pferden.

Deutsche Bearbeitung.

4. Aufl. Hannover: M. & H. Schaper GmbH.

SULLIVAN, L. H. (1896):

The tall office building artistically considered.

In: Lippincott's Magazine, S. 1-6.

TAYLOR, S. E.; SMITH, R. K. W.; CLEGG, P. D. (2007):

Mesenchymal stem cell therapy in equine musculoskeletal disease: scientific factor or clinical fiction?

In: Equine veterinary journal, Jg. 39, H. 2, S. 172-180.

TROTTER, G. W.; YOVICH, J. V.; MCLLWRAITH, C. W.; NORRDIN, R. W. (1996):

Effects of intramuscular polysulfated glycosaminoglycan on chemical and physical defects in equine articular cartilage.

In: Canadian Journal of Veterinary Research, Jg. 53, H. 2, S. 224-230.

VAN DEN BOGERT, A. J. (1989):

Computer simulation of locomotion in the horse.

1. Aufl. Utrecht: Rijksuniversiteit te Utrecht.

WASELAU, M.; SUTTER, W. W.; GENOVESE, R. L.; BERTONE, A. L. (2008):

Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses.

In: Journal of the American Veterinary Medical Association, Jg. 232, H. 10, S. 1515-1520.

WEBBON, P. M. (1973):

Equine tendon stress injuries.

In: Equine veterinary journal, Jg. 5, H. 2, S. 58-64.

WEILER, H. (2000):

Insertionsdesmopathien beim Pferd.

In: Warendorf: Fnverlag

WILLIAMS, I. F.; HEATON, A.; MCCULLAGH, K. G. (1980):

Cell morphology and collagen types in equine tendon scar.

In: Research in veterinary science, Jg. 28, H. 3, S. 302-310.

WILSON, D. A.; BAKER, G. J.; PIJANOWSKI, G. J.; BOERO, M. J.; BADERTSCHER, R. R. (1991):

Composition and morphologic features of the interosseus muscle in Standardbreds and Thoroughbreds.

In: American Journal of veterinary research, Jg. 52, H. 1, S. 133-139.

WILSON, A. M.; McGUIGAN, M. P.; VAN DEN BOGERT, A. S. & A. J. (2001):

Horses damp the spring in their step.

In: Nature, Vol. 414, 20/27, S. 895-898.

WOO, S. L.; GOMEZ, M. A.; WOO, Y. K. (1982):

Mechanical properties of tendon and ligaments. II. The relationships of immobilisation and exercise on tissue remodelling.

In: Biorheology, Jg. 19, H. 3, S. 397-408.

WOO, S. L.; HILDEBRAND, K.; WATANABE, N. (1999):

Tissue engineering of ligament and tendon healing.

In: Clinical Orthopaedics and related research, Suppl. 367, S. 312-323.

YOON, J. H.; HALPER, J. (2005):

Tendon proteoglycans: biochemistry and function.

In: Journal of musculoskeletal and neuronal interactions, Jg. 5; H. 1, S. 22-34.

ZACHOS, T. A.; BERTONE, A. L. (2005):

Growth factors and their potential therapeutic applications for healing of musculoskeletal and other connective tissues.

In: American journal of veterinary research, Jg. 66, H. 4, S. 727-738.

Danksagung

Als Erstes möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold für die Unterstützung bedanken.

Bei Frau Dr. Dr. Christina Becker bedanke ich mich für die Übernahme der externen Betreuung, das Korrekturlesen und die stetige Unterstützung während der gesamten Zeit. Vielen Dank auch für das dauerhafte Anspornen.

Ein weiterer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Ute Lockemann für die Korrekturvorschläge und Anregungen.

Ebenso möchte ich den Mitarbeitern des UKE, insbesondere Herrn Prof. Dr. Udo Schumacher und Frau Elke Schäfer für das Anfertigen der elektronenmikroskopischen Bilder ganz herzlich danken.

Einen riesigen Dank an die besten Kollegen der Welt für die aufbauenden Worte und die emotionale Unterstützung in dieser langen, langen Zeit. Ihr seid super!!!

Meiner Mutter danke ich für die Rechtschreibe- und Grammatik-Überprüfung und meinem Schwager, Holger für die Korrektur des Summary.

Meiner gesamten Familie und Freunden danke ich für den dauerhaften Rückhalt, das ständige Vertrauen und den emotionalen Beistand.

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei meiner Leidensgenossin, Eva Klose für einfach alles. Evi, wir haben es geschafft!!!

Erklärung

Ich erkläre hiermit: ich habe die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Hamburg, den 04.04.2016

Lisa Butterweck



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6492-1



9 783835 196492 1