
Aus der Anatomischen Anstalt der Ludwig- Maximilians- Universität München

Vorstand: Univ. Professor Dr. med. Dr. h.c. R. Putz

„Molekulare Zusammensetzung der extrazellulären
Matrix im Discus articularis ulnae und im Meniscus ulnocarpalis des Menschen“

Dissertation

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

vorgelegt von

Barbara Cécile Sicking

aus Hamm

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Stefan Milz

Mitberichterstatter: Professor Dr. med. A. Krödel
Professor Dr. med. B. Przybilla

Dekan: Professor Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung 29. November 2007

Meinen Eltern und Großeltern



Gliederung

1	Einleitung	3
1.1	Anatomische Übersicht.....	3
1.2	Biomechanische Aspekte	6
1.3	Anpassung des Gewebes an seine Funktion	9
1.4	Zielsetzung der Arbeit.....	10
2	Material und Methode	11
2.1	Material.....	11
2.2	Methode	12
2.2.1	Paraffinschnittanfertigung und Färbung	12
2.2.2	Immunhistochemische Untersuchung	13
3	Ergebnisse	17
3.1	Histologische Auswertung der Paraffinschnitte	17
3.2	Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen.....	18
3.2.1	Kollagen I.....	18
3.2.2	Kollagen II	20
3.2.3	Kollagen III	22
3.2.4	Kollagen VI	24
3.2.5	Chondroitin-4-Sulfat.....	26
3.2.6	Chondroitin-4-Sulfat und Dermatansulfat.....	28
3.2.7	Chondroitin-6-Sulfat.....	30
3.2.8	Keratansulfat.....	32
3.2.9	Chondroitin-6-Sulfat („ <i>oversulfated epitope</i> “).....	34
3.2.10	Aggrecan	36
3.2.11	Link Protein	38
3.2.12	Versican.....	40
3.2.13	Tenascin	42
3.2.14	Cartilage oligomeric matrix protein.....	44
3.2.15	Kontrollen.....	47
4	Diskussion.....	48
4.1	Wertigkeit der Methode	48
4.1.1	Paraffinschnitte	48
4.1.2	Immunhistochemie.....	48

4.2	Interpretation der Untersuchungsergebnisse.....	50
4.2.1	Kollagene.....	50
4.2.2	Glykosaminoglykane.....	52
4.2.3	Proteoglykane und Glykoproteine.....	54
4.3	Funktionell anatomische Relevanz.....	56
4.4	Klinische Relevanz.....	62
5	Zusammenfassung.....	65
6	Literaturverzeichnis.....	66
7	Anhang.....	78
	Danksagung.....	79
	Lebenslauf.....	80

1 Einleitung

1.1 Anatomische Übersicht

Der Discus articularis ulnae ist eine faserknorpelige Bindegewebsplatte, die zwischen der distalen Ulna und den Handwurzelknochen Os lunatum und Os triquetrum liegt. Durch seine bikonkave Form schafft er eine kongruente Oberfläche für Ulna und Karpus, die sich sonst inkongruent gegenüberstünden (Mikic 1989). Der Diskus entspringt am distalen Endes des Radius an der Incisura ulnaris radii und zieht zur Ulna, an der er zweigeteilt anheftet: Der Hauptteil inseriert an der Fovea ulnaris, der Rest am Processus styloideus ulnae (Garcia-Elias 1998, Nakamura & Yabe 2000). Zwischen den beiden ulnaren Anheftungen liegt eine stark vaskularisierte Zone, die früher irreführenderweise als „Lig. subcruentum“ (Henle 1856) bezeichnet wurde, wobei es sich weder histologisch noch mechanisch um ein wahres Ligament handelt (Garcia-Elias 1998). Die in ihrer Wand vaskularisierte, synoviale Nische, welche palmar des Processus styloideus ulnae gelegen ist, wird als praestyloider Recessus bezeichnet und ist bei der rheumatoiden Arthritis früh mit involviert (Lewis et al. 1970, Kauer & Landsmeer 1981, Taleisnik 1985, Flury et al. 1999, Borisch & Haußmann 2002). Kauer vermutet, dass die Teilung der ulnaren Diskusanheftung durch loses Gewebe und den synovialen Recessus die funktionelle Deformation des Diskus bei Handgelenkbewegungen erleichtert und so die Mobilität des distalen Radioulnargelenks vergrößert (Kauer 1992).

Evolutionsbiologisch ist die größere Handgelenksbeweglichkeit bei Primaten aber vor allem darauf zurückzuführen, dass sich die Ulna von der primitiven primären Artikulation zwischen Processus styloideus und den Ossa pisiforme et triquetrum zurückzieht (Lewis 1965, Kauer 1992). Es entsteht dadurch ein Spaltraum zwischen der distalen Ulna und den Karpalknochen. Hier schiebt sich der Discus articularis ulnae „als eine Abspaltung der Gelenkkapsel des distalen Radioulnargelenks“ (DRUJ) ein (Schmidt 2004). Lateral davon füllt außerdem der Meniscus ulnocarpalis den Spaltraum auf (Schmidt 2004). Der Rückzug der Ulna vom Karpus erweitert den Bewegungsumfang sowohl bei Pro- und Supination als auch bei Ab- und Adduktion (Lewis 1965, Kauer 1992).

Zusammen mit den angrenzenden Strukturen des Discus articularis ulnae wurde von Palmer und Werner der Begriff „triangular fibrocartilage complex“ (= TFCC) eingeführt (Palmer & Werner 1981). Hierunter fassen die Autoren folgende Strukturen zusammen: den Discus articularis ulnae, das dorsale und palmare radioulnare Ligament, den Meniscus ulnocarpalis, das ulnare Kollateralband sowie die Scheide des M. extensor carpi ulnaris. Der TFCC entspringt vom Radius und inseriert an der Ulna, am Os triquetrum, Os hamatum und an der Basis des Os metacarpale V. Die dorsalen und palmaren Anteile des TFCC sind verdickt (im Durchschnitt 4-5 mm) und gehen nahtlos in die radioulnaren Bänder über (Mikic 1989). Der zentrale Teil des TFCC ist häufig ausgedünnt (im Durchschnitt 1mm, Mikic 1989). Der Meniscus ulnocarpalis entspringt von den dorsalen und ulnaren Kanten des Discus articularis ulnae sowie vom Processus styloideus. Er zieht nach distal und heftet an der Palmarseite des Os triquetrum an (Schmidt 2004). Die einzelnen Komponenten des TFCC sind jedoch nicht als deutlich voneinander getrennte Strukturen identifizierbar, sondern gehen ohne klar definierbare Grenzen ineinander über (Schmidt & Lanz 1992). In der Literatur wird daher nicht immer sauber zwischen dem Discus articularis ulnae und dem Meniscus ulnocarpalis unterschieden.

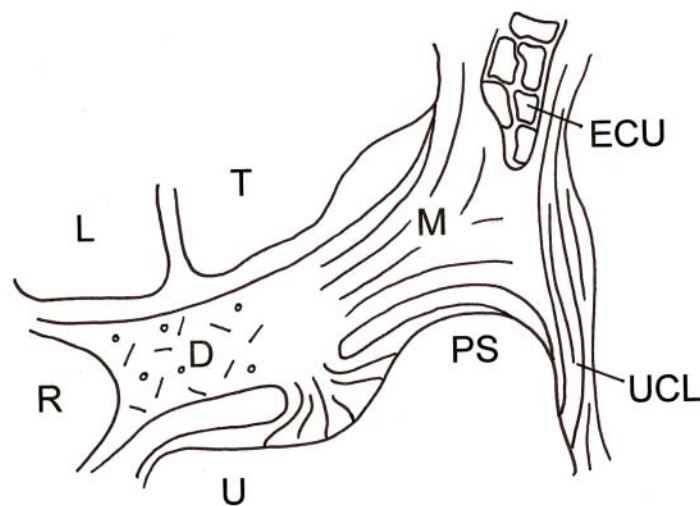


Abbildung 1: Übersichtsbild des TFCC zur anatomischen Orientierung: R= Radius, U= Ulna, PS= Processus styloideus ulnae, L= Os lunatum, T= Os triquetrum, D= Discus articularis ulnae, M= Meniscus ulnocarpalis, ECU= M. extensor carpi ulnaris, UCL= ulnare Kollateralband

In den Fasern des TFCC nahe der Spitze des Processus styloideus können in seltenen Fällen (0,5-1%) akzessorische Knöchelchen eingebettet sein (Lewis et al. 1970; Schmidt 2004). Diesen akzessorischen Ossicula werden zahlreiche Namen gegeben: Os triangulare, Triquetrum secundarium, Os styloideum, Os intermedium antebrachii. Die Diversität bei der Namensgebung reflektiert eine gewisse Unsicherheit bezüglich der Natur dieser Knöchelchen (Lewis et al. 1970). Während einige Autoren der Meinung sind, es handle sich dabei um das Resultat einer nicht verheilten Fraktur des Processus styloideus, sehen andere in den Knöchelchen genuine morphologische Elemente des Karpus. Wieder andere hingegen interpretieren sie als abgetrennte, überzählige Ossifikationszentren des Proc. styloideus ulnae. Lewis et al. sind der Auffassung, dass es sich bei den akzessorischen Knöchelchen um intrameniskale Ossifikationen handelt (Lewis et al. 1970).

Der morphologische Aufbau des TFCC korreliert eng mit den mobilen und statischen Drücken, die während Pro- und Supination und bei radioulnarer Deviation auf den TFCC wirken (Nakamura & Makita 2000). Radial und im Zentrum des Diskus liegen dicke, kurze Kollagenbündel vor mit eher zufällig erscheinender, wellenförmiger Orientierung. Diese Kollagenfaserorientierung ist vereinbar mit einer Struktur, die multidirektionalen Kräften ausgesetzt ist (Chidgey et al. 1991). In den radioulnaren Bändern und in der Peripherie (d.h. im ulnaren Randbereich) des TFCC liegen längliche, parallel orientierte Kollagenstränge vor, die von radial nach ulnar gerichtet sind. Die Peripherie wird hauptsächlich durch Zugkräfte beeinflusst und fungiert als erweitertes radioulnares Ligament (Chidgey et al. 1991).

1.2 Biomechanische Aspekte

Der Discus articularis ulnae fungiert mit seinen angrenzenden Strukturen (engl. triangular fibrocartilage complex, TFCC) als Hauptstabilisator des distalen Radioulnargelenks (DRUJ) (Palmer & Werner 1981; Neviaser & Palmer 1984; Palmer 1989; Mikic 1989; Nakamura et al. 1996; Gofton et al. 2004). Darüber hinaus ist der TFCC an der axialen Lastübertragung zwischen Karpus und Ulna beteiligt (Palmer & Werner 1984; Neviaser & Palmer 1984; Mikic 1989; Schuind et al. 1995; Nakamura et al. 1996). Der TFCC vermittelt die Kraftübertragung zwischen Ulna und Karpus, verhindert aber einen direkten ulnokarpalen Kontakt, wobei er sich wie ein Kissen zwischen die beiden Gelenkkörper legt (Palmer & Werner 1981; Mikic 1989; Neviaser & Palmer 1984; Palmer 1989; Nakamura 1995).

Biomechanische Untersuchungen der Lastübertragung am distalen Radioulnargelenk zeigen, dass 82% der axialen Lasten vom distalen Radius getragen werden, 18% von der distalen Ulna (Palmer & Werner 1984; Werner et al. 1986). Hara et al. legen ähnliche Zahlen vor: Hiernach werden 85% über den Radius übertragen (50% über die Fossa scaphoidea und 35% über die Fossa lunata) und 15% über den TFCC (Hara et al. 1992). Schuind zufolge werden über 90% der Lasten über den Radius und 10% über die Ulna übertragen (Schuind et al. 1995). Nach Entfernung des TFCC trägt die distale Ulna nur noch 6%, der distale Radius hingegen 94% der axialen Lasten (Palmer et al. 1984). Bei Verkürzung der Ulna um nur 2,5 mm nimmt die Lastentransmission der Ulna von ursprünglich 18% auf 4% ab, bei einer Verlängerung um 2,5 mm nimmt der über die Ulna übertragene Kraftanteil von 18% auf 42% zu (Werner et al. 1986; Palmer et al. 1984). Die Ergebnisse dieser Studien erlauben die Schlussfolgerung, dass schon geringfügige Längenveränderungen der Ulna zu deutlichen Veränderungen der Lastenübertragung führen. Aus diesen Befunden resultiert, dass damit auch der mechanischen Beschaffenheit des Diskus eine große Bedeutung zukommt.

Die Bewegung bei Pro- und Supination ist eine Kombination aus Rotation und Gleitbewegung des DRUJ (Ekenstam 1992). Maximaler Kontakt zwischen den Gelenkflächen besteht nur in neutraler Position. In maximaler Pro- und Supination

sind nur noch 2-3 mm Randkontakt möglich (Ekenstam & Hagert 1985, Olerud et al. 1988). Dafür steigen die Druckkräfte, die in solchen Extremstellungen pro Flächeneinheit wirken, deutlich an (Schlüter 1987). Laut Schlüter (1987) sind die Druckkräfte in Supination höher als in Pronation, da in dieser Stellung eine breitere Kontaktfläche vorhanden ist, die als Voraussetzung für die höhere Druckübertragung angesehen wird. Während Einigkeit darüber besteht, dass die Stabilität während der Rotation nur durch gestraffte radioulnare Ligamente gewährleistet werden kann, wird in der Literatur kontrovers diskutiert, wann welches der Ligamente gespannt ist. Laut Ekenstam (1992) ist das dorsale radioulnare Ligament in Supination gespannt, das volare radioulnare Ligament hingegen in Pronation. Den meisten anderen Arbeiten zufolge verhält es sich aber genau umgekehrt: das palmare radioulnare Ligament ist in Supination, das dorsale in Pronation gespannt (z.B. Weigl & Spira 1969; Schlüter 1987; Schuind et al. 1991). Eine Erklärung für diesen scheinbaren Widerspruch liefert eine Arbeit von Nakamura und Makita: Die Längenveränderung der dorsalen und palmaran radioulnaren Bänder hängt demnach davon ab, welcher Bandanteil am nächsten an der Fovea anheftet, da durch sie die Rotationsachse des Arms verläuft. Der Anteil, der am nächsten an der Fovea anheftet, zeigt ein fast isometrisches Längenmuster, wohingegen der am weitesten von der Fovea entfernte Bandanteil die größte Verformung zeigt (Nakamura & Makita 2000).

Nach Meinung zahlreicher Autoren verändert der Diskus seine Form und Ausdehnung unter physiologischen Bedingungen bei Handgelenksbewegungen nicht, sondern verhält sich weitestgehend statisch (Nakamura 1995; Pfirrmann et al. 2001; Makita et al. 2003). Adams und Holley hingegen beschreiben konstant auftretende Veränderungen der Diskuskonfiguration während Pro- und Supination, die zu einer ungleichmäßigen Verteilung der Belastungen im Diskus führen (Adams & Holley 1993). In ihrer biomechanischen Studie zeigen die Autoren, dass die Belastungen vornehmlich in der radioulnaren Achse des Diskus auftreten. Belastungen in posterior-anteriorer Achse sind vernachlässigbar gering. Besonders hohe Belastungen zeigen sich in den radialen Diskusanteilen, die in Pronation sogar noch weiter zunehmen können (Adams & Holley 1993). Bei sehr hohen Belastungen (wobei Drücke zwischen 314 N und 627 N einwirken müssen) können sogar Deformationen auftreten, die bis zur Zerreißung des Diskus führen (Adams et al. 1996). Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass das Gewebe zwar

erhebliche Reservekapazitäten aufweist, aber trotz der funktionellen Anpassung des Diskus an der radialen Anheftungsstelle ein Locus minoris resistentiae vorliegt, d.h. ein Ort verminderter Widerstandsfähigkeit.

Die Kombination von Lastkonzentration im radialen Diskusdrittel und Veränderung in der Kollagenfaserorientierung (radial: kurze, zufällig erscheinende Orientierung, ulnar: längliche, parallele Kollagenfaserorientierung) führen zu einem relativ hohen Lastgradienten im Gewebe, der ein großes Verletzungsrisiko mit sich bringt (Adams et al.1996).

1.3 Anpassung des Gewebes an seine Funktion

Ein gesundes Gelenk gewährleistet zum einen die Stabilität der artikulierenden Skelettelemente, ermöglicht aber zugleich ihre Beweglichkeit. Um diesen Anforderungen gerecht zu werden, reagiert der passive Bewegungsapparat, vor allem das Skelett, in Abhängigkeit von der auftretenden Belastung mit Umbau und Formanpassung: „Form follows function“. Diese Aussage wurde im Laufe der Zeit zu einer Theorie zusammengefasst, welche unter den Stichworten „*Wolff'sches Gesetz*“ (im Wesentlichen basierend auf den Arbeiten von Meyer 1867; Wolff 1870, 1884; Roux 1885, 1896) und „*kausale Histogenese*“ (Pauwels 1949, 1963, 1965, 1974, 1976; Kummer 1962, 1968, 1978, 1980) bekannt geworden ist. Es folgten Arbeiten von Peters (1975) und Milz et al. (1995) zur Anpassung verschiedener Teile von Skelettelementen (Kortikalis der langen Röhrenknochen und subchondrale Knochenplatte verschiedener Gelenke) an deren mechanische Beanspruchung.

Aber auch Sehnen und Bänder vollziehen Anpassungsprozesse bei Beanspruchung (Ploetz 1938; Tillmann 1978; Benjamin et al. 1990,1995; Milz et al. 1998, 1999). Bei stark beanspruchten Stellen, zum Beispiel im Bereich von Hypomochlia, an denen lokal Druck ausgeübt wird, kommt es zur Bildung von Faserknorpel. Dies wurde zwar schon relativ früh beschrieben (Ploetz 1938), aber erst jüngere Arbeiten haben den unmittelbaren Zusammenhang dieses Anpassungsprozesses mit den lokalen, mechanischen Beanspruchungen aufgezeigt (Benjamin et al. 1990, Milz et al. 2005). Eine Gewebsanpassung an mechanische Beanspruchung scheint sowohl durch Änderung der molekularen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix (ECM) als auch durch Veränderung der morphologischen Struktur zu erfolgen.

Umgekehrt lässt eine Analyse der Zusammensetzung der ECM eines bestimmten Gewebes Rückschlüsse auf die hier vorliegende mechanische Beanspruchung zu (Milz 2002).

1.4 Zielsetzung der Arbeit

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob die Mechanismen der funktionellen Anpassungen an mechanische Beanspruchung, wie sie bei Knochen, Sehnen und Bändern bekannt sind, auch in den verschiedenen Regionen des Discus articularis ulnae sowie des Meniscus ulnocarpalis nachweisbar sind.

Ziel der Arbeit ist es daher, die regionale Kollagen-, Glykosaminoglykan- und Proteoglykanzusammensetzung des Diskus und des Meniscus ulnocarpalis (engl. triangular fibrocartilage complex) zu bestimmen und die vorgefundenen Verteilungsmuster den bekannten Modellen der mechanischen Beanspruchung im Handgelenk gegenüberzustellen.

Darüber hinaus interessiert die Frage, ob die molekulare Zusammensetzung dieser Strukturen zur Erklärung der gehäuften Manifestationen der rheumatoiden Arthritis im Bereich des Handgelenkes dienen kann.

Im Einzelnen werden dazu folgende Befunde erhoben:

- Regionale Verteilung der Kollagene vom Typ I, II, III, VI
- Regionale Verteilung der Glykosaminoglykane:
Dermatansulfat, Keratansulfat, Chondroitin-4-Sulfat und Chondroitin-6-Sulfat
- Regionale Verteilung der Proteoglykane, Glykoproteine und sonstigen Matrixproteine:
Aggrecan, Link Protein, Versican, Tenascin sowie Cartilage Oligomeric Matrix Protein

2 Material und Methode

2.1 Material

Insgesamt wurden neun menschliche Handgelenkskomplexe (d.h. TFCC mit Discus articularis ulnae und Meniscus ulnocarpalis) untersucht. Die Entnahme aus der unfixierten Leiche erfolgte binnen 48 Stunden post mortem. Bei keiner der Proben waren makroskopisch degenerative Veränderungen zu erkennen. Vier Donatoren waren weiblichen Geschlechts, fünf männlich. Das erreichte Lebensalter variierte zwischen 69 und 96 Jahren. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Daten der Spender.

Donor	Geschlecht	Alter	Seite	Entnahmezeitpunkt	Med. Vorgeschichte
41/03	weiblich	85	links	48h p.m.	unbekannt
42/03	weiblich	96	links	48h p.m.	unbekannt
43/03	männlich	74	rechts	36h p.m.	Nierenzell- Carcinom
49/03	weiblich	78	rechts	40h p.m.	unbekannt
56/03	männlich	72	rechts	30h p.m.	HerzKreislaufversagen
57/03	männlich	75	rechts	48h p.m.	HerzKreislaufversagen
58/03	weiblich	69	links	24h p.m.	HerzKreislaufversagen
82/03	männlich	77	links	36h p.m.	Natürlicher Tod
86/03	männlich	76	links	30h p.m.	Hypopharynx- Ca

Tabelle 1: Herkunft der Präparate des TFCC: Geschlechterverteilung, Alter, untersuchte Seite, Entnahmezeitpunkt post mortem und medizinische Vorgeschichte.

Zusätzlich wurden Übersichtspräparate von drei TFCC-Komplexen angefertigt, welche aus dem anatomischen Präparierkurs stammen.

2.2 Methode

2.2.1 Paraffinschnittanfertigung und Färbung

2.2.1.1 Paraffinschnittanfertigung

Drei TFCC-Komplexe wurden zur Paraffinschnittanfertigung aus bereits länger in Formalin fixierten Leichen (Präparierkursmaterial) mit radialem und ulnarem Ansatz, sowie Os lunatum und Os triquetrum entnommen. Es folgte eine Entkalkung der Proben in 30%iger Salpetersäure über drei Wochen. Nach gründlichem Auswaschen der Säure folgte eine aufsteigende Alkoholreihe (50, 70, 80, 90, 100, 100% Äthanol) und zwei Fraktionen 100%iges Xylol. Danach wurden die Proben in 60°C heißes Paraffin eingebracht und anschließend eingebettet. Bis zur weiteren Verarbeitung lagerten die Proben im Kühlschrank. Mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms (Reichert-Jung 2050 Supercut) wurden Schnitte mit einer Dicke von 8 μ m angefertigt. Diese wurden in Bädern mit destilliertem kaltem und warmem Wasser gestreckt, auf Objektträger aufgebracht, bei 40°C getrocknet und bis zur Färbung bei 37°C aufbewahrt.

2.2.1.2 Färbung der Paraffinschnitte

Vor den Färbungen wurden die Paraffinschnitte auf der Wärmebank (60°C) angeschmolzen. Nach zwei Fraktionen Xylol à fünf Minuten und anschließender Rehydrierung in der absteigenden Alkoholreihe (100, 100, 90, 80, 70% Äthanol) wurden die Objektträger kurz mit destilliertem Wasser abgespült. Als nächster Schritt folgte die Färbung mit Toluidinblau 0,1% für fünf Minuten mit anschließender gründlicher Differenzierung unter fließendem Leitungswasser. Danach wurden die Präparate mit 80%igem, 90%igem und 100%igem Äthanol dehydriert. Zuletzt erfolgten wieder zwei Fraktionen Xylol à drei Minuten und darauf wurden die Präparate sofort mit DPX eingedeckt.

2.2.2 Immunhistochemische Untersuchung

2.2.2.1 Präparatentnahme, Fixierung und Anfertigung der Gefrierschnitte

Zunächst wurde ein Block bestehend aus dem TFCC und seinen Ansatzstellen am Radius, der Ulna und den proximalen Handwurzelknochen Os lunatum und Os triquetrum abgesetzt. Im Anschluss wurden die verbleibenden Muskelstümpfe und das restliche Weichteilgewebe entfernt. Die Präparate wurden unmittelbar nach der Entnahme für mindestens 24 Stunden bei 4°Celsius in 90% Methanol fixiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei – 20°C in Methanol aufbewahrt.

Nach ausreichender Fixierung der Präparate erfolgte eine mehrwöchige Entkalkung in 5%iger EDTA-Lösung. Dabei waren durchschnittlich 25 Fraktionen zu je drei Tagen nötig, um die erforderliche Demineralisierung der knöchernen Ansätze des Discus articularis ulnae zu erzielen. Zuvor erfolgt eine Dreiteilung des Präparats mit Hilfe der Exakt- Makro-Säge in einen palmaren, mittleren und dorsalen Anteil (siehe Abbildung 2).

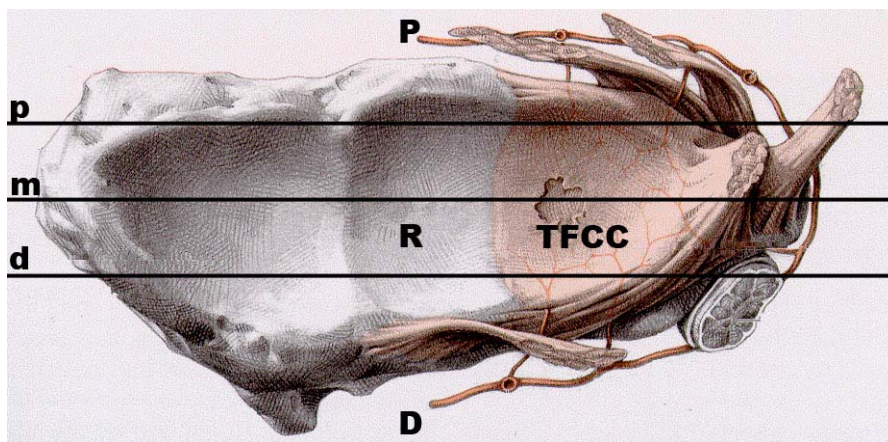


Abbildung 2: Schematische Darstellung der drei verschiedenen Schnittebenen, welche zur Untersuchung herangezogen wurden (p= palmar, m= mittig, d= dorsal, R= Radius, TFCC= triangular fibrocartilage complex, P= palmar, D= dorsal) Nach Schmidt H.-M. und Lanz U.: Chirurgische Anatomie der Hand. Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1992

Vor Anfertigung der Gefrierschnitte wurden die Proben für 12 Stunden in 5%iger Saccharose Lösung eingelegt, um ein möglichst gleichmäßiges Einfrieren des Gewebes zu erzielen. Anschließend wurden die Proben auf einen Präparatehalter des Kyromikrotoms aufgefroren. Mit Trimschnitten (30-50 µm) wurde die relevante

Schnittebene erreicht, um dann mit 12-14 µm Schnittdicke die Serienschnitte anzufertigen. Die Schnitte wurden auf Superfrost Plus Objektträger (Menzel Glasbearbeitungswerk GmbH & Co. KG, Braunschweig) aufgebracht und bis zur Färbung bei – 20°C gelagert.

2.2.2.2 Immunhistochemische Markierung

Vor Beginn der immunhistochemischen Markierung wurden die Proben mit einer hydrophoben Barriere (Dako Pen, Dako Deutschland GmbH, Hamburg) umgeben. Nach einer Rehydrierung in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung PBS (phosphate buffered saline) und Tween 20 für fünf Minuten erfolgte die Inkubation in Methanol (100 ml Methanol und 1 ml 30%iges Wasserstoffperoxid), um die endogene Peroxidase im Gewebe irreversibel zu blockieren. Danach wurden die Objektträger dreimal in PBS gewaschen (für jeweils fünf Minuten). Um die jeweiligen Epitope zu demaskieren, wurden die Gewebeschnitte mit den entsprechenden Enzymen (Hyaluronidase, Chondroitinase AC oder ABC) für 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Es erfolgte wieder der dreimalige Waschvorgang mit PBS. Zur Reduzierung möglicher unspezifischer Proteinbindungen des Sekundärantikörpers wurde anschließend Pferdeserum (1:20 verdünnt) für 60 Minuten aufgetragen. Durch vorsichtiges Abklopfen wurde das überschüssige Serum entfernt und zur immunhistochemischen Markierung der Primärantikörper aufgetragen. Nach 30minütiger Inkubation folgte erneut das Auswaschen im Pufferbad mit PBS. Als nächstes wurde der Sekundärantikörper aufgetragen. Während der Inkubation wurde der ABC Komplex (Vectastain Elite ABC Kit) vorbereitet und für mindestens eine halbe Stunde bei 4°C gelagert. Nach dreifachem Waschgang in PBS wurde nun der ABC Komplex für 30 Minuten aufgetragen und anschließend im Pufferbad abgewaschen. Unter Lichtabschirmung wurde daraufhin die DAB (Diaminobenzidin) Lösung aufgetragen. Die Inkubation wurde nach vier Minuten mit Leitungswasser beendet. Die Gegenfärbung erfolgte mit Meyer`schem Hämatoxylin (20 Sekunden). Nach Differenzierung in Leitungswasser, Dehydrierung in der aufsteigenden Alkoholreihe und zwei Fraktionen 100%igem Xylol wurden die Objektträger schließlich mit DPX eingedeckt (siehe Protokoll der Immunmarkierung im Anhang).

2.2.2.3 Zonale Unterteilung und mikroskopische Auswertung

Die Beurteilung des TFCC - sowohl bei der immunhistochemischen Markierung als auch bei den Paraffinschnitten - erfolgte mit Hilfe eines Durchlichtmikroskops Axiophot der Firma Zeiss. Die Präparate wurden für die Auswertung in fünf verschiedene topographische Zonen eingeteilt, die einzeln lichtmikroskopisch in verschiedenen Vergrößerungen betrachtet und ausgewertet wurden. Abbildung 3 veranschaulicht die vorgenommene Einteilung.

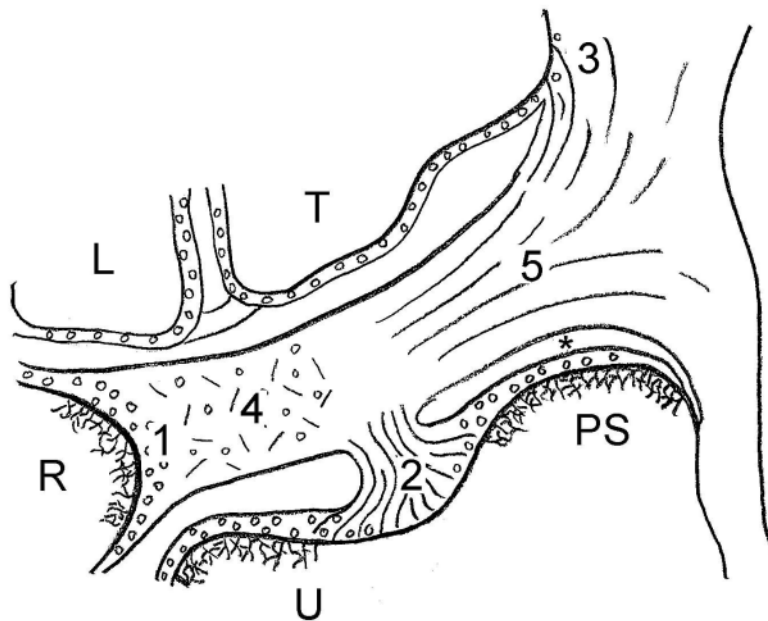


Abbildung 3: Schematische Darstellung der untersuchten Regionen des TFCC: 1= Entesis Radius, 2= Entesis Ulna, 3= Entesis Os triquetrum, 4= Diskus zentral, 5= Meniscus ulnocarpalis (R= Radius, U= Ulna, L= Os lunatum, T= Os triquetrum, PS= Proc. styloideus ulnae, *= sog. prästyloider Recessus)

Wie bereits zuvor erwähnt, sind die einzelnen Elemente des TFCC nur schwer voneinander zu trennen, da sie fließend ineinander übergehen. Es existiert kein allgemein gültiges Begrenzungssystem von Bezeichnungen und Landmarken. Es ist daher schwer, die von uns als Meniscus ulnocarpalis bezeichnete Region (5) von dem ulnaren Diskusrand klar abzugrenzen.

Erkannte Antigene	Antikörper (Klon)	Verdünnung	Enzym	Bezugsquelle	Referenz
Kollagen I	Col I	1:2000	Hyal (1,5 IU/ml)& ChABC(0,25 IU/ml)	Sigma	none
Kollagen II	CIICI	1:6	Hyal (1,5 IU/ml)& ChABC(0,25 IU/ml)	DSHB	Holmdahl et al 1986
Kollagen III	FH7A	1:4000	Hyal (1,5 IU/ml)& ChABC(0,25 IU/ml)	Sigma	Olsen & Ninomiya, 1999
Kollagen VI	5C6	1:10	Hyal (1,5 IU/ml)& ChABC(0,25 IU/ml)	DSHB	Hessle & Engvall 1984
Chondroitin-4-sulfat	2B6	1:1500	ChAC (0,25 IU/ml)	B.Caterson	Caterson et al. 1985
Chondroitin-4- & Dermatan-sulfat	2B6	1:1500	ChABC (0,25 IU/ml)	B.Caterson	Caterson et al. 1985
Chondroitin-6-sulfat	3B3	1:150	ChABC (0,25 IU/ml)	B.Caterson	Caterson et al. 1985
Keratansulfat	5D4	1:1500	none	B.Caterson	Caterson et al. 1983
Chondroitin-6-sulfat <i>oversulfated</i>	7D4	1:350	none	B.Caterson	Caterson et al. 1990
Aggrecan	1C6	1:10	ChAC (0,25 IU/ml) nach Reduktion und Alkylierung	B.Caterson	Calabro et al. 1992
Link Protein	8A4	1:10	ChAC (0,25 IU/ml) nach Reduktion und Alkylierung	B.Caterson	Calabro et al. 1992
Versican	12C5	1:10	ChAC (0,25 IU/ml)	DSHB	Asher et al. 1991, 1995
Tenascin	T2H5	1:100	ChAC (0,25 IU/ml)	Serotec	Verstraeten et al. 1992
Cartilage Oligomeric Matrix Protein	COMP	1:20	none	none	none
Neurofilament	RT97	1:10	none	DSHB	none

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

3 Ergebnisse

3.1 Histologische Auswertung der Paraffinschnitte

Auf Paraffinschnitten zeigt sich eine klare Trennung des TFCC in zwei morphologisch unterschiedliche Bereiche: Im radialen Diskusdrittel findet sich eine dichte bindegewebige Zone mit faserknorpeligem Charakter. Diese lässt sich klar von einer lateralen (ulnaren) Zone mit lockerem Bindegewebisaufbau trennen. Im lockeren Bindegewebe finden sich auch vermehrt Blutgefäße und kleinere Nervenanschnitte. Die knöchernen Anheftungen des Discus articularis ulnae weisen einen deutlich faserknorpeligen Phänotyp auf.

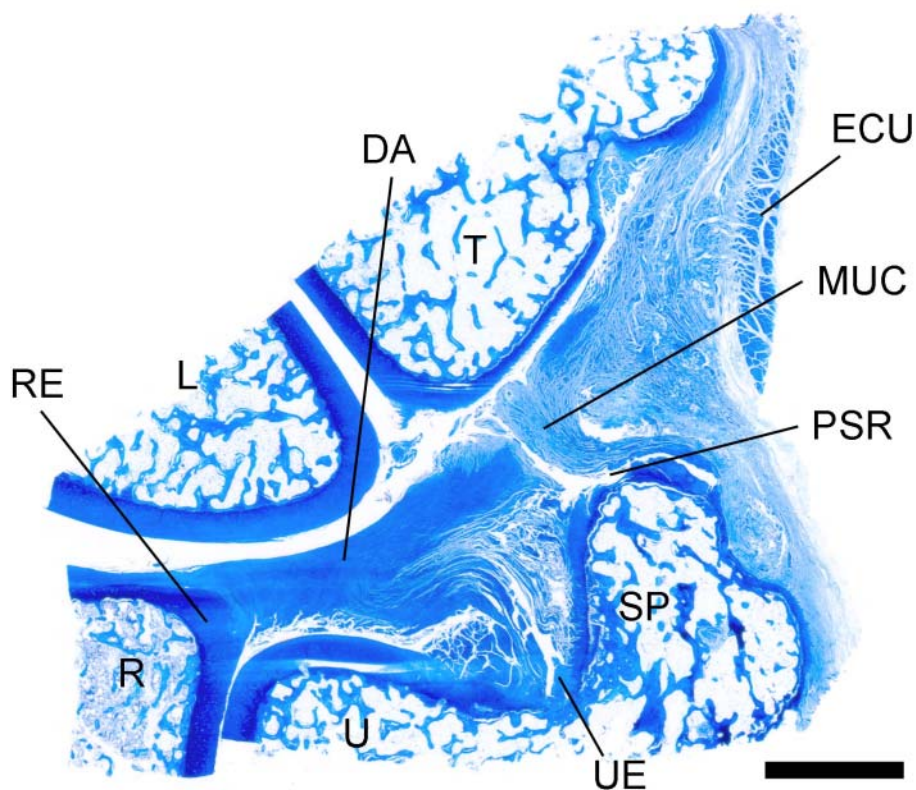


Abbildung 4: Übersichtsaufnahme eines Paraffinschnittes in Toluidinblaufärbung. R= Radius, RE= radiale Enthesis, U= Ulna, UE= ulnare Enthesis, SP= Proc. styloideus ulnae, PSR= prästyloider Recessus, L= Os lunatum, T= Os triquetrum, DA= Discus articularis ulnae, MUC= Meniscus ulnocarpalis, ECU= M. extensor carpi ulnaris. Referenzstrecke: 5mm

3.2 Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen

3.2.1 Kollagen I

In allen untersuchten Diskusabschnitten und im Bereich des Meniscus ulnocarpalis zeigt sich eine homogene mäßig bis starke Markierung für Kollagen I (Tab. 3, Abb. 5 und 6). Auch die knöchernen Anheftungen des Diskus an Radius, Ulna und Os triquetrum weisen eine positive Markierung auf, ebenso wie der Knochen unter Aussparung des hyalinen Knorpels. Im Bereich der knöchernen Anheftung geht der hyaline Knorpel in Faserknorpel über. Dieser Faserknorpel zeigt keine durchgehende Markierung mit Kollagen I, so dass sich das Bild einer Aussparung („Gap-Phänomen“) der Markierung ergibt. Diese nicht markierte Zone liegt zwischen dem positiv markierten Knochen und dem positiv markierten Discus articularis.

Antikörper Col I	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+
49/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
57/03	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.
58/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σ	7/7	7/7	8/8	7/7	9/9	8/8	4/4	4/4	5/5	7/7	9/9	8/8	7/7	9/9	8/8

Tabelle 3: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Kollagen I (Antikörper Col I) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, += vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

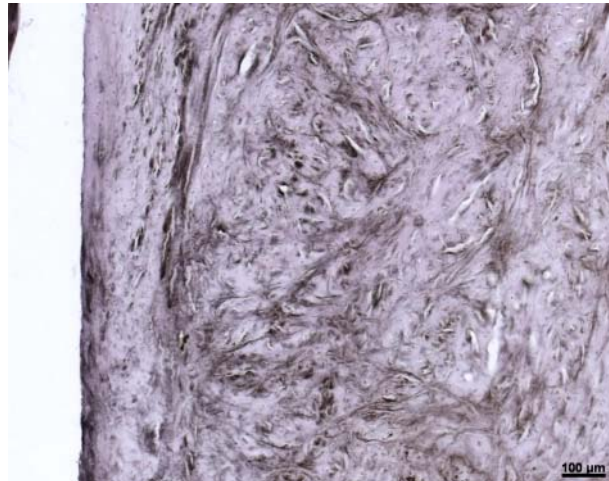


Abbildung 5: Kräftige Markierung des Discus articularis mit dem Antikörper Col I, der Kollagen I nachweist. Das korbgeflechtartige Netzwerk der Kollagenfasern ist deutlich zu erkennen. Referenzstrecke: 100μm

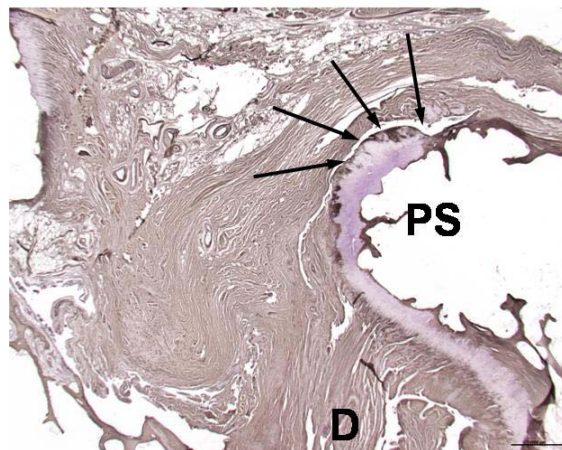


Abbildung 6: Übersicht der positiv markierten ulnaren Enthese für Kollagen I. Die Knochenmatrix reagiert unter Aussparung des hyalinen Knorpels ebenfalls positiv. PS= Proc styloideus der Ulna, Pfeile= Prästyloider Recessus, D= Discus articularis ulnae. Referenzstrecke: 500μm

3.2.2 Kollagen II

Der Antikörper CIICI, der Kollagen II erkennt, zeigt bei allen Präparaten eine positive Markierung im Gelenkknorpel sowie an den knöchernen Anheftungsstellen des Diskus (Tab. 4). Die radiale Anheftung sowie der zentrale Teil des Diskus zeigen eine unterschiedlich intensive Farbstoffablagerung mit variierender Ausdehnung (Abb. 7, 8). Der ulnare Diskusrand und der Meniscus ulnocarpalis sind in keinem der Fälle positiv (Abb. 8, 9). Im Allgemeinen ist die Färbung in dorsalen Schnitten schwächer ausgeprägt und erstreckt sich über eine weniger große Fläche als in den palmaren Schnitten. Vereinzelt ist in dorsalen Schnitten eine Gefäßeinsprossung im zentralen Diskus nahe der radialen Enthese zu erkennen (Abb. 7, 9). In diesem Fall ist die Kollagen II Markierung um die Gefäße aufgehoben. Am ulnaren Rand des Diskus ist regelmäßig eine Gefäßeinsprossung zu beobachten. Auch hier findet sich nie eine Markierung für Kollagen II.

Antikörper CIICI	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	-	-	-
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
43/03	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	-	-	-
49/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	-	-	-
56/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	-	-	-
57/03	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	-	n.v.
58/03	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Σ	7/7	7/7	7/7	8/8	9/9	8/8	5/5	5/5	5/5	8/8	9/9	8/8	0/8	0/9	0/8

Tabelle 4: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Kollagen II (Antikörper CIICI) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

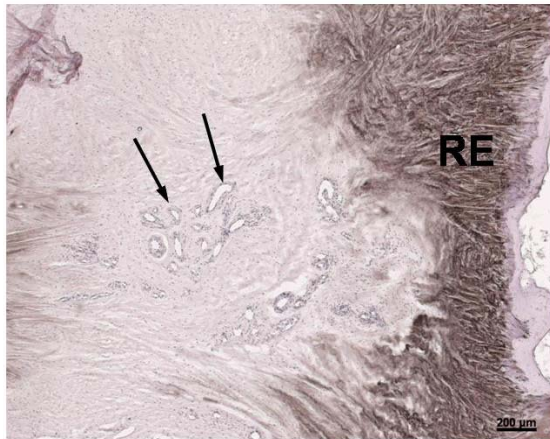


Abbildung 7: Anheftung des Discus articularis ulnae am Radius bei dorsaler Schnittführung. Deutlich erkennbar ist die positive Markierung der radialen Enthese (RE) für Kollagen II. Man beachte die auftretenden Gefäße (Pfeile) im zentralen Diskus nahe der radialen Enthese. Referenzstrecke: 200μm

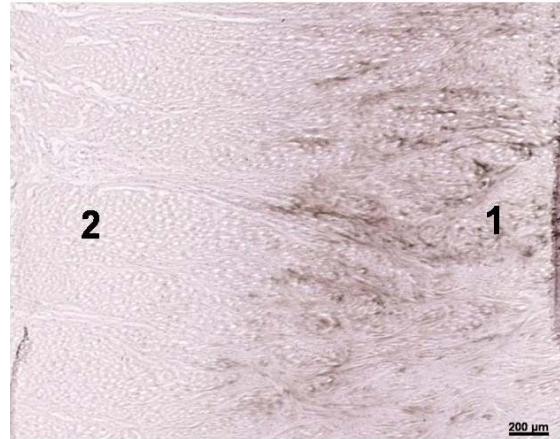


Abbildung 8: Übergangsbereich zwischen dem zentral positiv markiertem Diskus (1) und dem nicht markierten ulnaren Diskusrand (2). Deutlich zu sehen, ist die überwiegend extrazelluläre Markierung für Kollagen II, welche in ihrer Anordnung charakteristisch ist für Faserknorpel. Referenzstrecke: 200μm

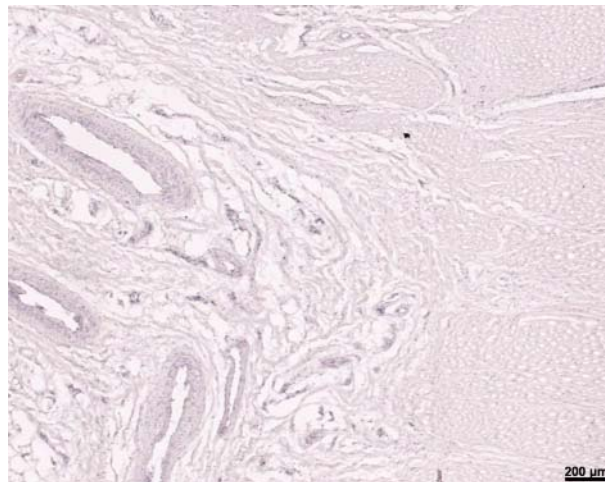


Abbildung 9: Negativer Meniscus ulnocarpalis und ulnarer Diskusrandbereich bei der Markierung für Kollagen II. Man beachte die Gefäße im linken Bildabschnitt. Referenzstrecke: 200μm

3.2.3 Kollagen III

Kollagen III zeigt in allen untersuchten Präparaten ein einheitlich positives Markierungsmuster im gesamten Diskus, an seinen knöchernen Anheftungsstellen sowie im Bereich des Meniscus ulnocarpalis (Tab. 5, Abb. 10, 11, 12). Nur die Verteilung der Markierung und die Faserverlaufsrichtung lassen eine Unterscheidung zwischen dem faserknorpeligen (radialen und zentralen) Diskusbereich und dem rein faserigen ulnaren Randbereich zu. Die Knochengrundsubstanz färbt sich nicht, wohl aber die endostären Zellschichten und vereinzelt oberflächliche Zellen an den Gelenkflächen des hyalinen Knorpels.

Antikörper FH7A	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
49/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
57/03	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.
58/03	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
Σ	8/8	7/7	7/7	7/7	8/8	8/8	4/4	6/6	4/4	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

Tabelle 5: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Kollagen III (Antikörper FH7A) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

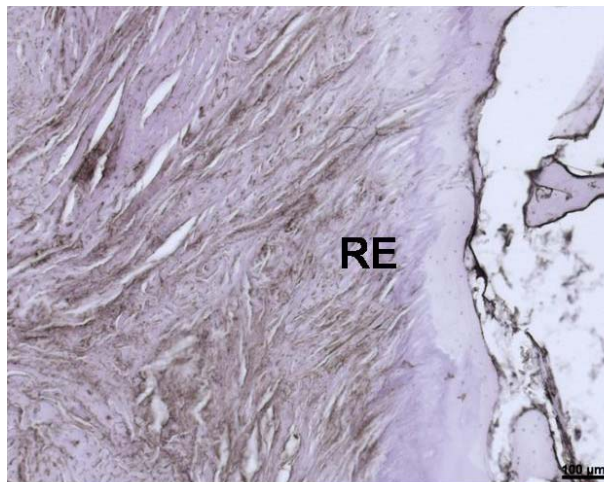


Abbildung 10: Kräftige Markierung für Kollagen III. Die Position der radialen Enthese (RE) des Diskus ist eingezeichnet. Referenzstrecke: 100µm

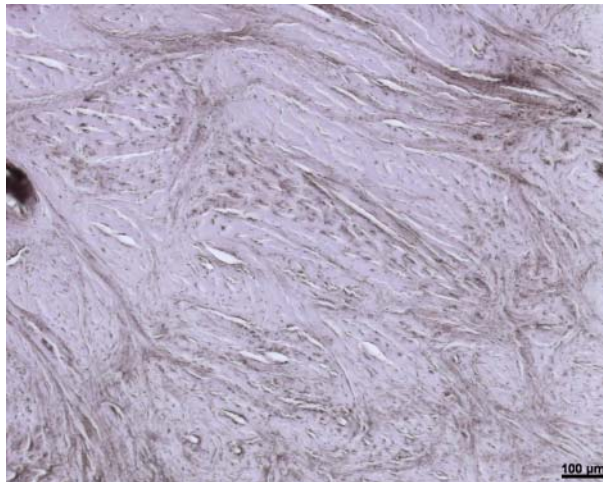


Abbildung 11: Korbgeflechtartige Markierung für Kollagen III in den faserknorpeligen Zentralbereichen des Diskus. Referenzstrecke: 100µm

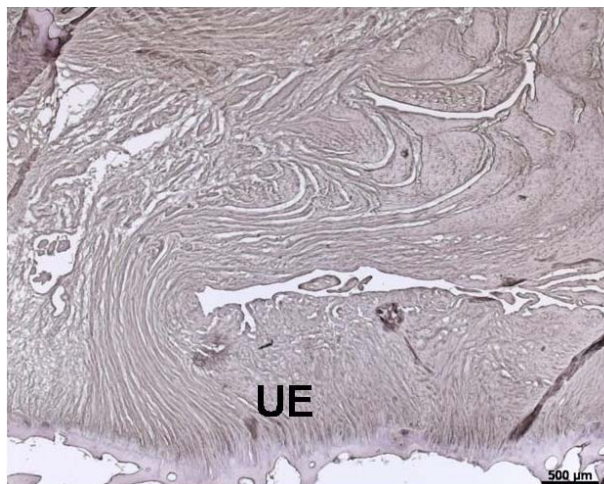


Abbildung 12: Übersichtsaufnahme der Diskusanheftung an der Ulna. UE= ulnare Enthese des Diskus. Referenzstrecke: 500µm

3.2.4 Kollagen VI

Kollagen VI, das vom Antikörper 5C6 nachgewiesen wird, zeigt ein ähnliches Markierungsmuster wie Kollagen III. Die Verteilung zeigt keine regionalen Unterschiede zwischen den einzelnen Diskusabschnitten, der sowohl radial, mittig als auch am ulnaren Rand und an seinen Anheftungen eine gleichmäßig, stark positive Markierung zeigt (Tab. 6). Der Meniscus ulnocarpalis und der hyaline Knorpel reagieren ebenfalls positiv (Abb. 13). Die Knochengrundsubstanz färbt sich nicht.

Antikörper 5C6	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
49/03	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
57/03	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.
58/03	+	n.v.	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σ	8/8	7/7	8/8	8/8	9/9	7/7	4/4	6/6	5/5	8/8	9/9	8/8	8/8	9/9	8/8

Tabelle 6: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Kollagen IV (Antikörper 5C6) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

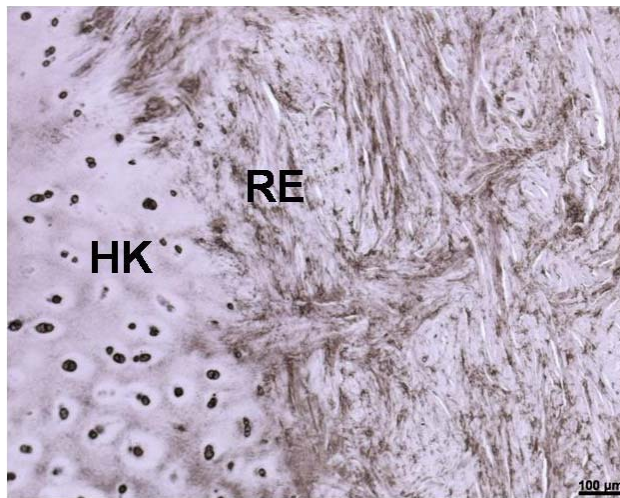


Abbildung 13: Radiale Enthese (RE) des Discus articularis. Zu erkennen ist eine kräftige, korbgeflechtartig angeordnete Markierung für Kollagen VI im Diskus. HK= hyaliner Knorpel. Referenzstrecke: 100µm

3.2.5 Chondroitin-4-Sulfat

Chondroitin-4-Sulfat (Antikörper 2B6+ChAC) zeigt in allen untersuchten Präparaten eine einheitliche, schwach positive Markierung im gesamten Diskus (Tab. 7, Abb. 14, 15) sowie im Bereich seiner knöchernen Anheftungen. Auch der Meniscus ulnocarpalis färbt sich positiv, die Knochengrundsubstanz hingegen zeigt keine Markierung.

Antikörper 2B6 + AC	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
Donor															
41/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42/03	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+
43/03	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
49/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	+	+
57/03	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.
58/03	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σ	6/6	7/7	8/8	8/8	9/9	8/8	4/4	7/7	6/6	8/8	8/8	8/8	8/8	9/9	8/8

Tabelle 7: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Chondroitin-4-Sulfat (Antikörper 2B6+AC) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

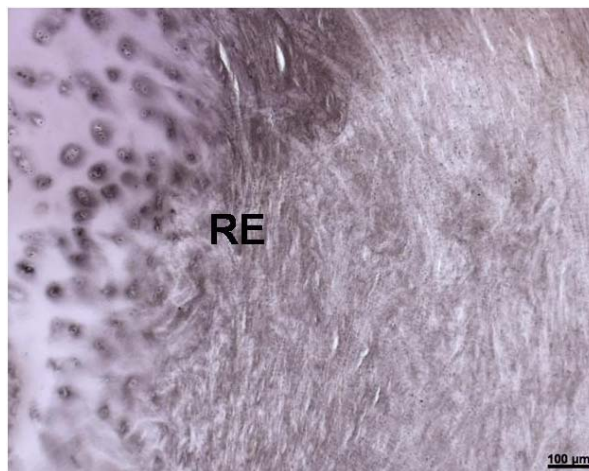


Abbildung 14: Deutliche Markierung der radialen Enthese (RE) und des Diskus für Chondroitin-4-Sulfat. Referenzstrecke: 100μm



Abbildung 15: Fleckig diffuse Markierung für Chondroitin-4-Sulfat im gesamten Diskus. Referenzstrecke: 100μm

3.2.6 Chondroitin-4-Sulfat und Dermatansulfat

Der gemeinschaftliche Nachweis für Chondroitin-4-Sulfat und Dermatansulfat (Antikörper 2B6+ChABC), zeigt eine homogene Markierung in allen Diskusabschnitten inklusive der knöchernen Ansätze und des Meniscus ulnocarpalis (Tab. 8, Abb. 16, 17). Im Gelenkknorpel sieht man eine zur Oberfläche hin zunehmend kräftigere Markierung mit Betonung der perizellulären Bereiche. Die Knochengrundsubstanz färbt sich nicht. Grundsätzlich besteht kein markanter Unterschied zum Markierungsmuster für Chondroitin-4-Sulfat.

Antikörper 2B6+ABC	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
49/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
57/03	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.
58/03	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
Σ	8/8	7/7	8/8	7/7	9/9	8/8	4/4	5/5	6/6	8/8	9/9	8/8	8/8	9/9	8/8

Tabelle 8: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Chondroitin-4-Sulfat und Dermatansulfat (Antikörper 2B6+ABC) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

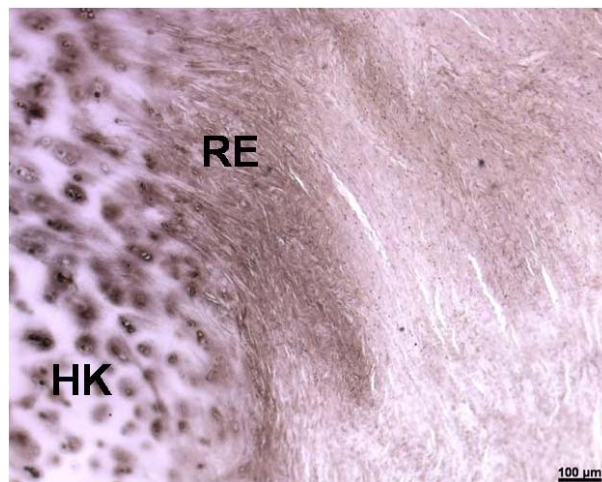


Abbildung 16: Stark positive radiale Enthese (RE) des Diskus für Chondroitin-4-Sulfat und Dermatansulfat. Während der Diskus eine relativ diffuse Markierung zeigt, ist im hyalinen Knorpel (HK) eine vorwiegend perizelluläre Markierung erkennbar. Referenzstrecke: 100µm

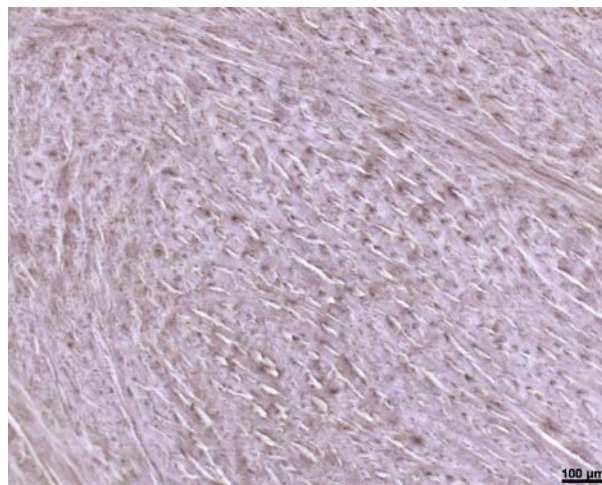


Abbildung 17: Flächige, punktuell betonte Markierung des Diskus mit dem Antikörper 2B6+ABC, der Chondroitin-4-Sulfat und Dermatansulfat nachweist. Referenzstrecke: 100µm

3.2.7 Chondroitin-6-Sulfat

Chondroitin-6-Sulfat zeigt eine gleichmäßige Färbung im Gelenkknorpel, im Diskus und seinen Anheftungsstellen (Tab. 9, Abb. 18, 19). In den ulnaren Diskusabschnitten und im Bereich des Meniscus ulnocarpalis ist die Markierung eher schwach, in zwei Präparaten sind nur vereinzelte „spots“ zu erkennen und in einem Präparat ist der Diskus in diesem Bereich überhaupt nicht markiert. Die knöcherne Grundsubstanz reagiert immer negativ.

Antikörper 3B3+ABC	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	+	+	n.v.	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	-	+
49/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	n.v.	+	+
57/03	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	+
58/03	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+s	+	+	+s	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+s
Σ	7/7	6/6	7/7	7/7	8/8	8/8	4/4	6/6	5/5	8/8	8/8	9/9	8/8	7/8	9/9

Tabelle 9: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Chondroitin-6-Sulfat (Antikörper 3B3+ABC) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

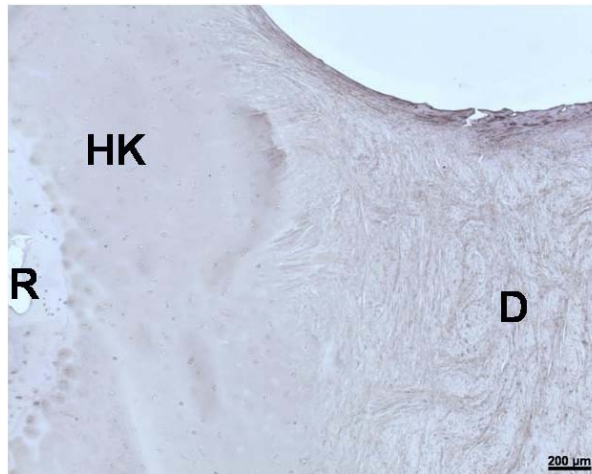


Abbildung 18: Markierung für Chondroitin-6-Sulfat mit dem Antikörper 3B3+ABC. Die Position für Radius (R), hyalinen Knorpel (HK) und den Diskus (D) sind eingegeben. Referenzstrecke: 200µm

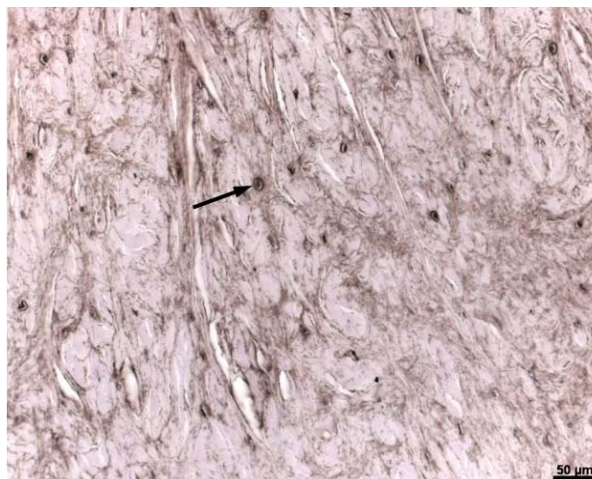


Abbildung 19: Detailvergrößerung des positiv markierten Discus articularis. Überwiegend extrazelluläre Markierung für Chondroitin-6-Sulfat als Ausdruck einer dreidimensionalen Verflechtung der Faserbündel. Zu erkennen sind große, ovale Chondrozyten (Pfeil). Referenzstrecke: 50µm

3.2.8 Keratansulfat

Der Nachweis für Keratansulfat erfolgt mit dem Antikörper 5D4. Hier zeigt sich eine positive Markierung im gesamten Diskus, an seinen knöchernen Anheftungen und im Meniscus ulnocarpalis. Auch der hyalinen Knorpel und die endostären Schichten des Knochens sind positiv markiert (Tab. 10, Abb. 20, 21). Nur bei einem Schnitt ist kein Nachweis zu finden.

Antikörper 5D4	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	
43/03	+	-	+	+	-	+	n.v.	-	+	+	-	+	+	-	+
49/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	n.v.	+	n.v.
57/03	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
58/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
Σ	9/9	6/7	8/8	8/8	7/8	7/7	4/4	3/4	5/5	9/9	8/9	9/9	8/8	8/9	8/8

Tabelle 10: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Keratansulfat (Antikörper 5D4) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

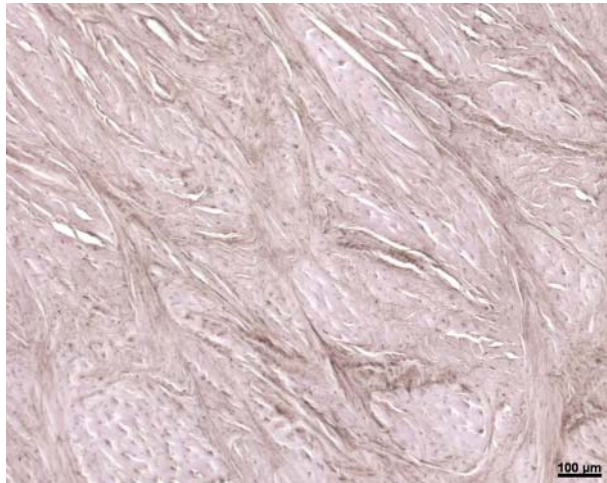


Abbildung 20: Positive Markierung für Keratansulfat im Diskus. Referenzstrecke: 100μm

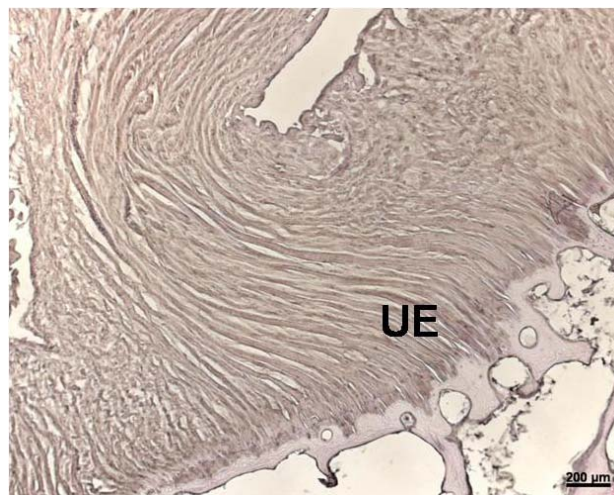


Abbildung 21: Positiv markierte ulnare Enthese (UE) des Diskus. Referenzstrecke: 200μm

3.2.9 Chondroitin-6-Sulfat („oversulfated epitope“)

Die Markierung mit dem Antikörper 7D4 variiert zwischen schwach positiv und negativ (Tab. 11). Die radialen und zentralen Diskusanteile zeigen in den meisten Fällen (17/25) eine schwach positive Reaktion oder zumindest einzelne, positive „spots“ (Abb. 22, 23). Am ulnaren Diskusrand und im Bereich des Meniscus ulnocarpalis (Abb. 24) ist überwiegend keine Markierung zu erkennen oder es sind nur sporadisch markierte Areale vorhanden (8/23 positiv). Die knöchernen Anheftungen des Diskus sind in den meisten Fällen positiv.

Antikörper 7D4	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	n.v.	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+s	+	+	+s	-	n.v.
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+s	-	+	+s
43/03	-	-	-	-	-	-	n.v.	-	-	-	-	-	-	-	-
49/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+s	+	+	-	+
56/03	-	+	-	-	+	-	n.v.	n.v.	n.v.	-	+	-	-	+	n.v.
57/03	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+s	n.v.	+s	-	n.v.	-
58/03	n.v.	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+s	n.v.	+	-	n.v.	+
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+s	+	+s	+s	-	-
86/03	+	n.v.	-	+	n.v.	-	+	-	-	+s	-	-	-	-	-
Σ	5/7	4/5	3/6	5/7	5/6	5/8	5/5	2/4	3/6	7/9	4/7	6/9	3/9	2/7	3/7

Tabelle 11: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Chondroitin-6-Sulfat *oversulfated* (Antikörper 7D4) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

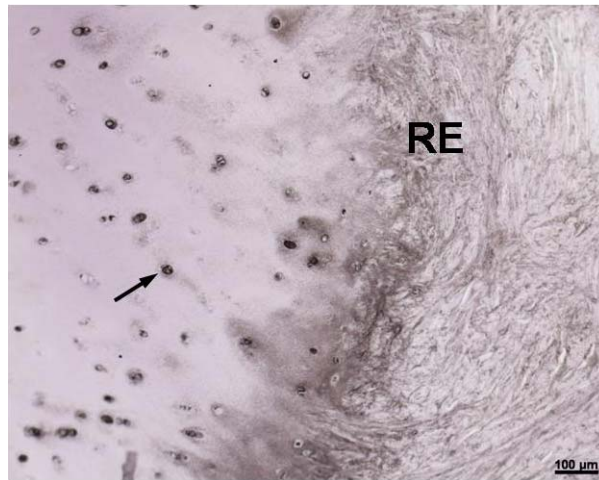


Abbildung 22: Für Chondroitin-6-Sulfat *oversulfated* markiert sich die radiale Enthese (RE) des Diskus positiv, ebenso die hyalinen Knorpelzellen (Pfeil). Referenzstrecke: 100µm



Abbildung 23: Positive Markierung im zentralen Teil des Discus articularis für das native übersulfatierte Epitop von Chondroitin-6-Sulfat. Referenzstrecke: 50µm

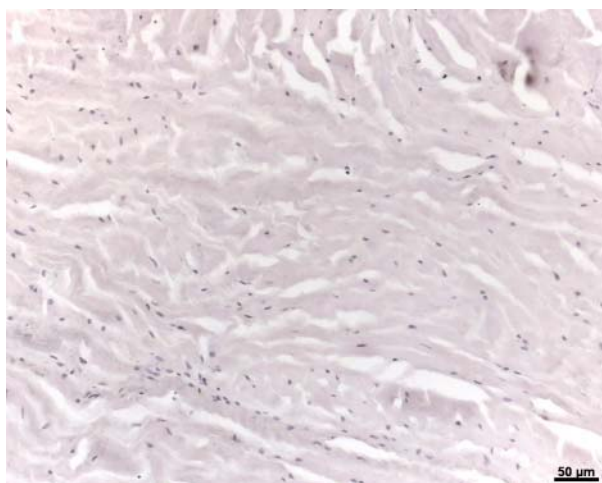


Abbildung 24: Keine Markierung für Chondroitin-6-Sulfat *oversulfated* im Bereich des Meniscus ulnocarpalis und im ulnaren Randbereich des Diskus. Referenzstrecke: 50µm

3.2.10 Aggrecan

Aggrecan, das durch den Antikörper 1C6 nachgewiesen wird, zeigt eine positive Markierung im zentralen Diskusanteil, an den meisten Enthesen sowie im hyalinen Knorpel (Tab. 12, Abb. 25, 26). Im ulnaren Randbereich des Diskus und im Meniscus ulnocarpalis ist keine Färbung erkennbar - nur in drei Fällen sind vereinzelt positive „spots“ zu sehen (Abb. 27).

Antikörper 1C6	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
Donor															
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+s	+	+s	-	-	-
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+s	+	-	-
43/03	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+s	+	+	-	-	+
49/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	-	+	+s	-	n.v.	-
56/03	+	n.v.	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	-	+s	+s
57/03	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.
58/03	-	n.v.	+	-	+	+	+	n.v.	+	-	+	+	-	-	-
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	-	-	-
86/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	-	-	-
Σ	6/7	6/6	8/8	7/8	9/9	7/7	4/4	2/2	6/6	6/8	9/9	8/8	1/8	2/8	2/8

Tabelle 12: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Aggrecan (Antikörper 1C6) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

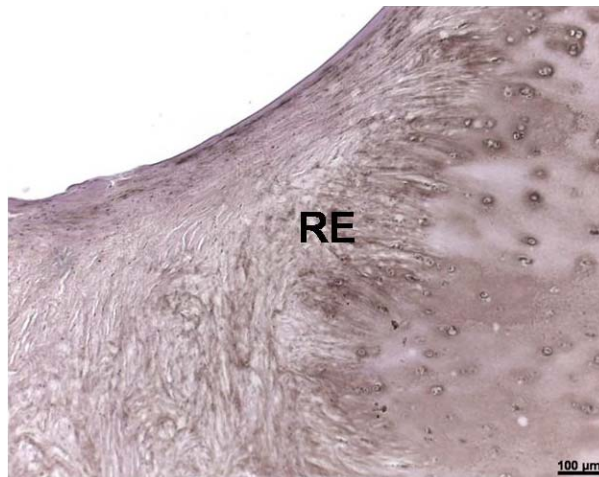


Abbildung 25: Übersicht einer positiv markierten radialen Enthese (RE) und des positiv markierten Diskus. Referenzstrecke: 100µm

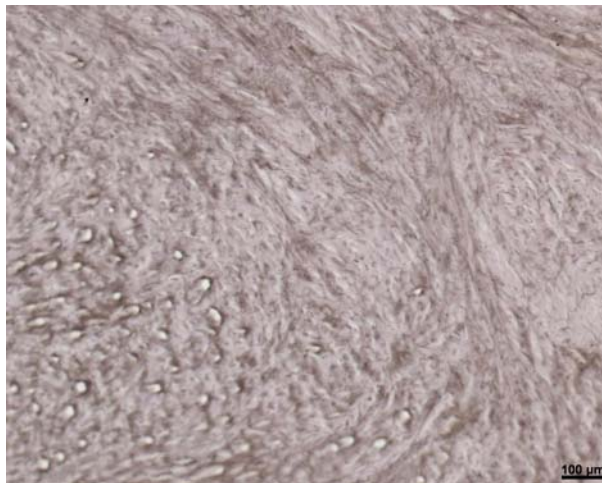


Abbildung 26: Deutliche Markierung für Aggrecan im zentralen Diskusabschnitt. Referenzstrecke: 100µm

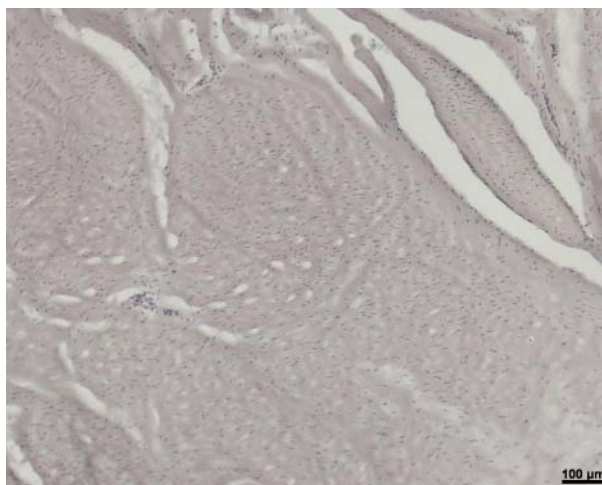


Abbildung 27: Für Aggrecan negativer Bereich des Meniscus ulnocarpalis. Referenzstrecke: 100µm

3.2.11 Link Protein

Link Protein wird durch den Antikörper 8A4 nachgewiesen. Es zeigt eine ähnliche Verteilung wie Aggrecan (Tab. 13). Der zentrale Diskus ist schwach positiv; oft sind nur vereinzelt positive „spots“ erkennbar (Abb. 29). Der ulnare Randbereich des Diskus und der Meniscus ulnocarpalis sind meist negativ. Die knöchernen Anheftungen des Diskus und der hyaline Knorpel lassen einen positiven Nachweis erkennen (Abb. 28).

Antikörper 8A4	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	-	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	-	+	+	-	-	-
49/03	+	n.v.	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	-	-	-
56/03	+	n.v.	+	n.v.	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	-	+	+	-	-	-
57/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
58/03	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	n.v.	+	+	+	+	-	-	+
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	-	-	-
86/03	n.v.	n.v.	+	+	+	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	-	-	-
Σ	7/7	4/4	9/9	6/6	8/8	8/8	3/3	3/3	7/7	7/9	9/9	9/9	1/9	2/9	4/9

Tabelle 13: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Link Protein (Antikörper 8A4) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

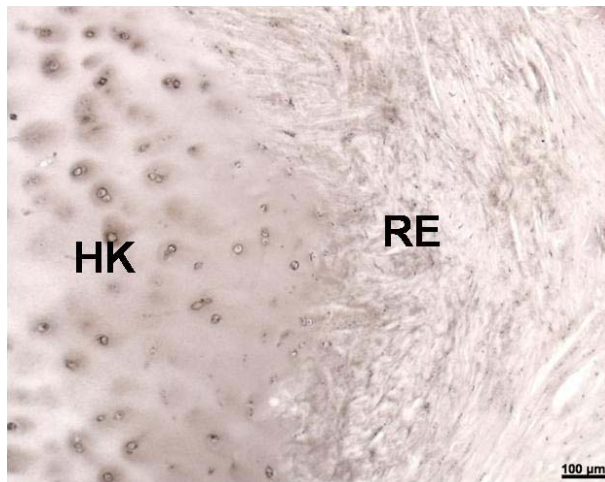


Abbildung 28: Positiver Nachweis an der radialen Enthese des Diskus für Link Protein. Hyaliner Knorpel (= HK) und die radiale Enthese (= RE) sind eingezeichnet. Referenzstrecke: 100µm

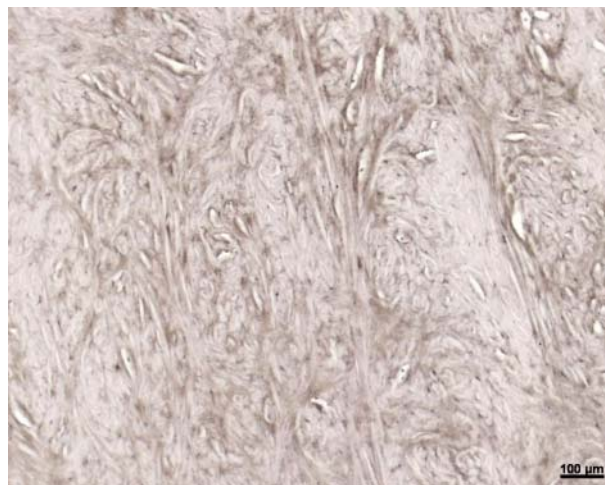


Abbildung 29: Positive Markierung des zentralen Diskus für den Antikörper 8A4, der Link Protein nachweist. Referenzstrecke: 100µm

3.2.12 Versican

Es liegt eine gleichmäßige Verteilung von Versican im Diskus, seinen knöchernen Anheftungen und im Meniscus ulnocarpalis vor (Tab. 14, Abb. 31). Die Osteozyten zeigen ebenfalls eine positive Markierung, die extrazelluläre Matrix des Knochens und der hyaline Knorpel reagieren nicht. Vereinzelt findet sich - ähnlich wie bei Kollagen I - eine Aussparung der Markierung im Bereich der Enthesis = Gap-Phänomen (Abb. 30).

Antikörper 12C5	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43/03	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
49/03	+	n.v.	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	n.v.	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
57/03	+	n.v.	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
58/03	+	n.v.	n.v.	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σ	7/7	5/5	7/7	9/9	9/9	7/7	5/5	5/5	6/6	9/9	9/9	9/9	9/9	8/8	9/9

Tabelle 14: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Versican (Antikörper 12C5) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, += vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

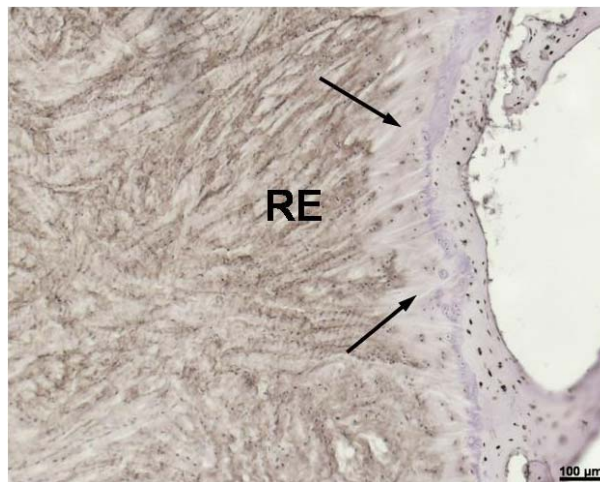


Abbildung 30: Radiale Enthese (RE) des deutlich positiv markierten Discus articularis, Pfeile zeigen das „Gap-Phänomen“. Referenzstrecke: 100µm

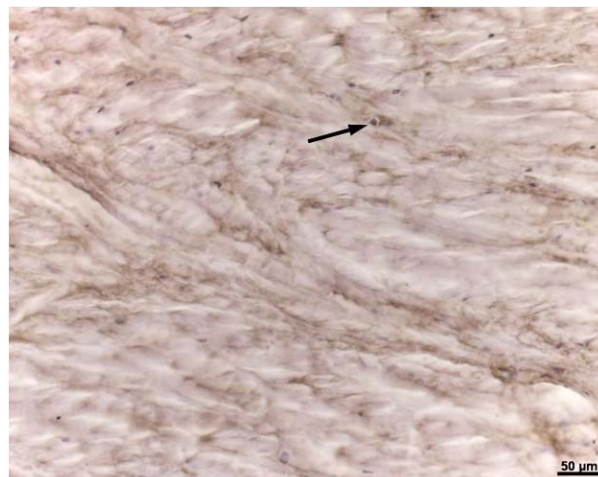


Abbildung 31: Positive Markierung für Versican im Discus articularis. Pfeil= großer, rundlicher Chondrozyt. Referenzstrecke: 50µm

3.2.13 Tenascin

Die Markierung von Tenascin, nachgewiesen durch den Antikörper T2H5, ist zumeist schwächer als die von Versican. Trotzdem zeigen der gesamte Diskus, seine knöchernen Anheftungen und der Meniscus ulnocarpalis einen positiven Nachweis (Tab. 15, Abb. 32, 33). Die radialen und zentralen Diskusbereiche markieren sich dabei meist weniger stark als die ulnaren Randbereiche des TFCC. Ein Präparat ist mit Ausnahme von gering positiven „spots“ im Bereich des zentralen Diskus vollständig negativ. Der hyaline Knorpel ist in den oberflächlichen Schichten positiv ebenso wie die Knochenzellen und das Endost. Die Knochengrundsubstanz selbst reagiert nicht.

Antikörper T2H5	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	n.v.	+s	+	+	+	+	
43/03	n.v.	+	-	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	
49/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	-	+	+s	+	+	
56/03	-	n.v.	+	-	+	+	-	n.v.	n.v.	+s	+s	+s	-	+	
57/03	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+s	+	+s	+	+	
58/03	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	
82/03	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+s	+	+	+s	+	
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Σ	5/6	6/7	6/8	6/8	8/9	7/8	4/5	5/5	5/5	8/9	8/9	8/9	8/9	8/9	

Tabelle 15: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Tenascin (Antikörper T2H5) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

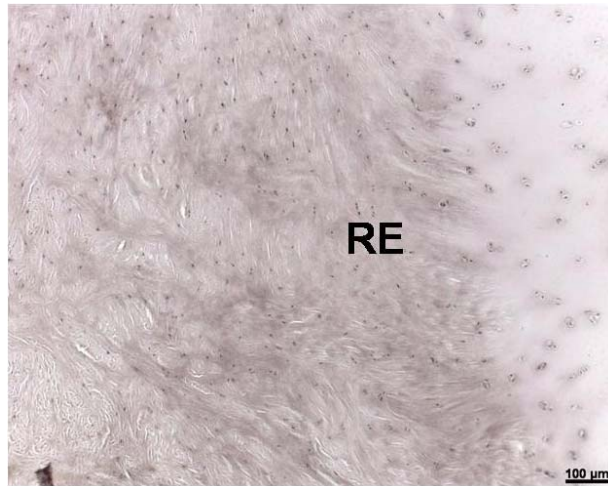


Abbildung 32: Markierung für Tenascin mit dem Antikörper T2H5. Die Position der radialen Enthese (RE) des Diskus ist eingegeben. Referenzstrecke: 100µm

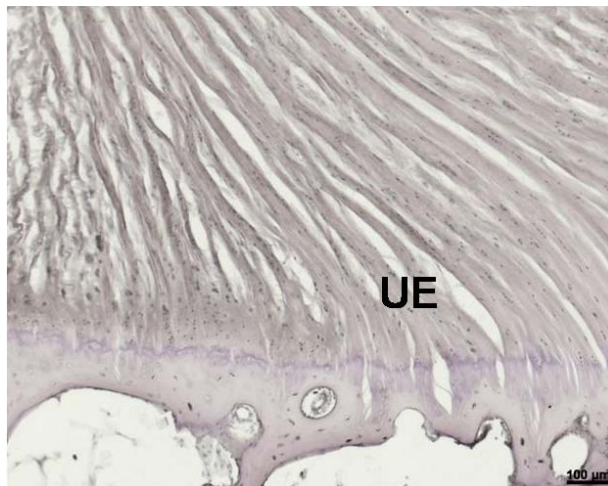


Abbildung 33: Positive ulnare Enthese (UE) des Diskus. Referenzstrecke: 100µm

3.2.14 Cartilage oligomeric matrix protein

Das Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) zeigt eine homogene, mäßig bis starke Markierung im Diskus, an seinen Anheftungsstellen und im Meniscus ulnocarpalis (Tab. 16, Abb. 34, 35, 36, 37). In einem Fall markiert sich der Diskus zentral nur mit wenigen, positiven „spots“ und ist am Rand vollständig negativ. Der hyaline Knorpel ist nur in den oberflächlichen Schichten positiv markiert. Die Knochenmatrix zeigt keine Markierung. In dorsaler Schnittführung sind im zentralen Diskusanteil, unweit von der radialen Enthese, vereinzelt Blutgefäße erkennbar. Auch diese Gefäße zeigen eine Markierung.

Antikörper COMP	Enthesis Radius			Enthesis Ulna			Enthesis Os triquetrum			Diskus zentral			Meniscus ulnocarpalis		
	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d	p	m	d
41/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42/03	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+s	+	+	-
43/03	n.v.	+	+	+	+	+	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+
49/03	+	+	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
56/03	+	+	+	+	+	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+
57/03	n.v.	+	n.v.	+	+	n.v.	n.v.	+	n.v.	+	+	+	+	+	+
58/03	n.v.	n.v.	n.v.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
82/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
86/03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Σ	6/6	7/7	8/8	8/8	9/9	7/7	5/5	7/7	5/5	9/9	9/9	9/9	6/6	9/9	8/9

Tabelle 16: Zusammenfassung der Ergebnisse der Immunmarkierung für Cartilage Oligomeric Protein (Antikörper COMP) in den verschiedenen Zonen des Discus articularis ulnae, seiner Anheftungen und des Meniscus ulnocarpalis. p= palmar, m= mittig, d= dorsal, += positiver Nachweis, +s= vereinzelt positive „spots“, - = kein Nachweis, n.v.= nicht vorhanden. Die letzte Zeile (Summenzeile Σ) der Tabelle gibt die Zahl der positiven Markierungen sowie die Zahl der durchgeführten Markierungen an.

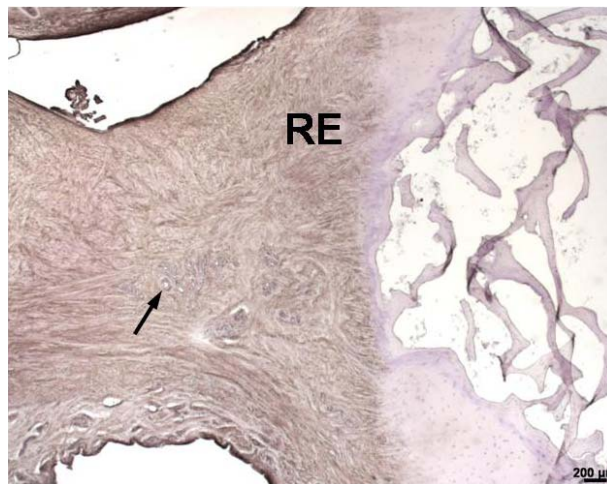


Abbildung 34: Übersichtsaufnahme der positiv markierten radialen Enthesis (RE) des Diskus. Bereits in der Vergrößerung sind im zentralen Diskusbereich, unweit der radialen Enthesis, Gefäße zu erkennen (Pfeil). Referenzstrecke: 200µm

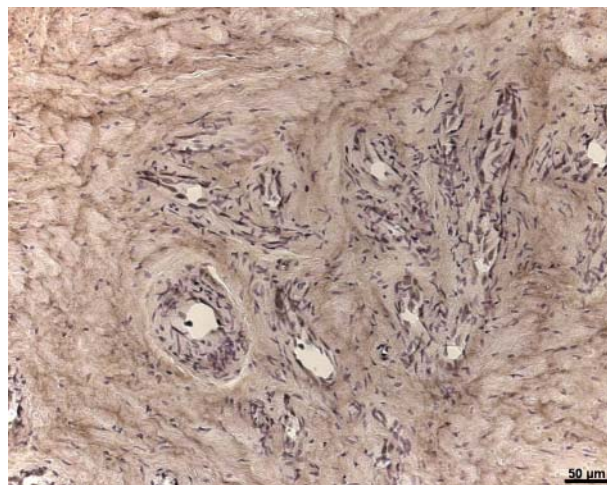


Abbildung 35: Detailaufnahme der Gefäße im radialen Diskusdrittel. Referenzstrecke: 50µm

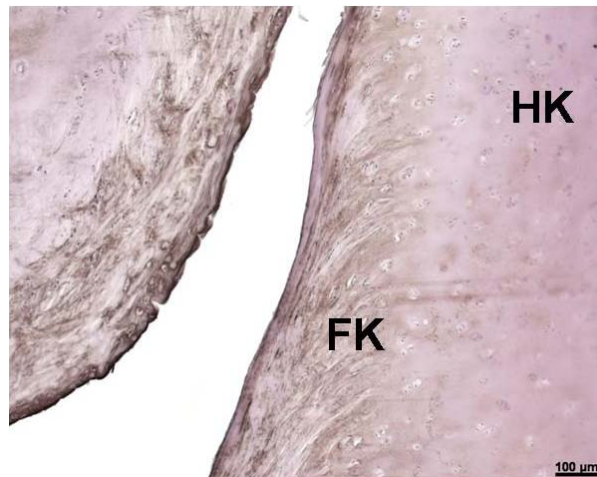


Abbildung 36: Nur die faserknorpelige Schicht (FK) ist eindeutig COMP positiv. Der hyaline Knorpel (HK) ist in den tieferen Schichten negativ. Referenzstrecke: 100µm

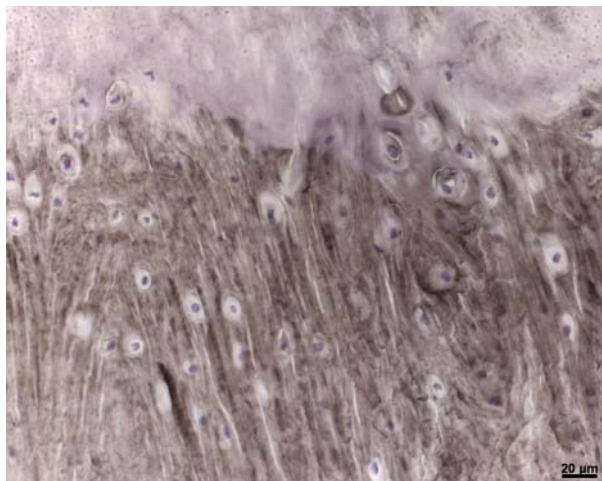


Abbildung 37: Deutlich positive faserknorpelige Entthesis an der Ulna mit großen rundlich-ovalen Zellen. Referenzstrecke: 20µm

3.2.15 Kontrollen

Bei der Kontrollmarkierung mit RT97, welches Neurofilament nachweist, oder unter Weglassen des Primärantikörpers zeigen sich keine positiven Markierungen. Nur mit RT97 lassen sich vereinzelt in der Peripherie Nervenfasern nachweisen.

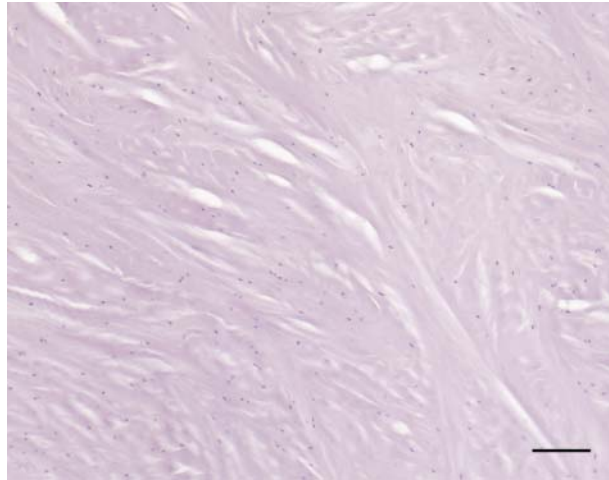


Abbildung 38: Keine Markierung bei der Kontrollmarkierung mit RT97. Gegenfärbung mit Hämatoxylin nach Mayer. Referenzstrecke: 100µm

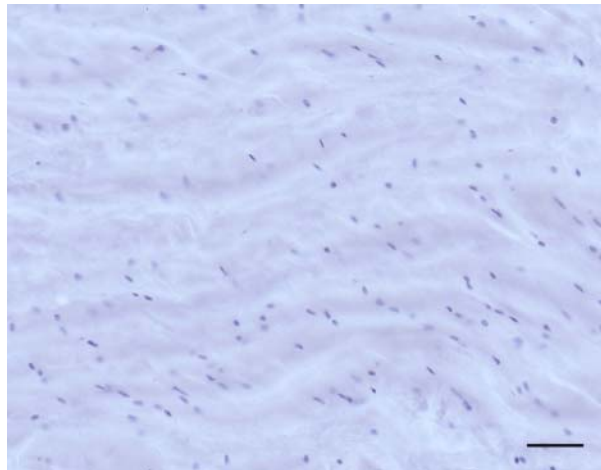


Abbildung 39: Keine Markierung des Gewebes bei Kontrollmarkierung unter Weglassen des Primärantikörpers. Gegenfärbung mit Hämatoxylin nach Mayer. Referenzstrecke: 50µm

4 Diskussion

4.1 Wertigkeit der Methode

4.1.1 Paraffinschnitte

Die Paraffinschnittanfertigung und anschließende Toluidinblau-Färbung diente der Gewinnung von Übersichtspräparaten, um die Morphologie der verschiedenen untersuchten Regionen besser darstellen zu können. In der Toluidinblau-Färbung werden Zell- und Gewebsstrukturen in unterschiedlichen Blautönen gefärbt. Insgesamt lassen sich so die morphologischen Unterschiede der verschiedenen Gewebe klar voneinander abgrenzen.

4.1.2 Immunhistochemie

4.1.2.1 Methanolfixierung

Um immunhistochemische Untersuchungen an Gewebeproben vornehmen zu können, müssen besondere Voraussetzungen erfüllt sein. Zum einen sollte das Gewebe möglichst frisch entnommen werden, damit autolytische Prozesse nicht zu weit fortschreiten. Zum anderen sollte das Gewebe nicht auf herkömmliche Art mit Formalin fixiert werden, da dies die immunhistochemische Markierung - speziell der hier untersuchten Antigene - beeinträchtigen kann. Methanol bietet als Fixans verschiedene Vorteile gegenüber Formalin: Die Proteine werden lediglich gefällt und nicht vollständig denaturiert, die Glykosaminoglykane werden in ihrer Position fixiert und schließlich wird auch die endogene Peroxidaseaktivität reduziert, was eine falsch positive Markierung unterbindet.

4.1.2.2 Kryomikrotomie von Hartgeweben

Das Anfertigen von Kryoschnitten bei Präparatblöcken mit inhomogener Beschaffenheit des Materials bereitet bei der hier vorliegenden Größe nicht

unerhebliche Probleme. Es kommt sehr häufig zu Rissen oder Stauchungen der Schnitte, selbst bei ausreichender vorangegangener Entkalkung. Auch die faltenfreie Übertragung des Schnittes auf den Objektträger ist nicht einfach zu bewerkstelligen. Es ist daher sehr schwierig, vollständig einwandfreie Übersichtspräparate ohne Fehlstellen zu erzeugen.

Darüber hinaus zeigen die verschiedenen Gewebeanteile unterschiedlich gute Haftigenschaften auf dem Objektträger, was später zur Ablösung während der Immunmarkierung führen kann. Dies erklärt, warum einzelne Bereiche der Präparate teilweise bei der Auswertung nicht verfügbar waren.

Weiterhin kann trotz vorausgegangener Behandlung mit 5%iger Saccharoselösung nicht vollständig verhindert werden, dass es beim Einfrieren zur Bildung von Eiskristallen kommt, welche die Feinstruktur des Gewebes verändern können. Die Beurteilbarkeit der Proben hängt zudem stark von der Schnittdicke ab. Diese beträgt bei der vorgelegten Untersuchung 12-14 μm , was einerseits eine hinreichende mechanische Stabilität beim Schneidevorgang gewährleistet, andererseits aber auch eine gute histologische Beurteilbarkeit zulässt.

4.1.2.3 Aussagekraft der immunhistochemischen Untersuchung

Immunhistologische Nachweismethoden beruhen auf der besonderen Affinität zwischen Antikörper und Antigen. Deren Bindung liegt ein komplexes, dreidimensionales Schlüssel-Schloss-Prinzip zugrunde. Durch die sehr hohe Spezifität, mit welcher ein Antikörper ein bestimmtes Antigen (eigentlich ein Epitop auf dem Antigen) erkennt (Kierman 1999), eignen sich immunhistochemische Nachweismethoden hervorragend zur Markierung von Makromolekülen und zur Untersuchung von deren Verteilung im Gewebe. Allerdings erlaubt diese Technik nur einen rein qualitativen Nachweis: Entweder ein Antigen ist vorhanden oder nicht. Mit den in dieser Arbeit verwendeten Nachweismethoden kann deshalb von der variierenden Farbintensität nicht auf die jeweilige Menge an vorhandenem Antigen geschlossen werden.

4.2 Interpretation der Untersuchungsergebnisse

4.2.1 Kollagene

In allen untersuchten Abschnitten des Diskus, an seinen knöchernen Anheftungen und im Bereich des Meniscus ulnocarpalis zeigt sich für die Kollagene I, III und VI ein weitgehend ähnliches und relativ homogenes Verteilungsmuster.

Kollagen I und III sind typisch für faserreiches Bindegewebe (Gelberman et al. 1988). Kollagen I, mit 90% des Gesamtkollagens der häufigste Kollagentyp des menschlichen Körpers, verleiht den faserreichen Bindegeweben ihre charakteristischen Eigenschaften, welche es erlauben, hohen Zugbeanspruchungen zu widerstehen. Kollagen-I-Fasern weisen je nach Gewebetyp einen relativ großen Durchmesser auf (Grazi & Wurzinger 2005). Sie kommen typischerweise in Sehnen, Faszien, Organkapseln und im Knochen vor sowie im Stroma aller Organe (Grazi & Wurzinger 2005)

Kollagen-III-Fasern sind wesentlich dünner als Kollagen-I-Fasern und sind besonders charakteristisch für retikuläres Bindegewebe, kommen aber ebenfalls in faserreichen Bindegeweben vor. Sie bilden feine Netzwerke, in welche die spezifischen, parenchymatösen Zellen des jeweiligen Organs eingelagert sind (Grazi & Wurzinger 2005). Kollagen-III-Fasern finden sich typischerweise im Knochenmark, in lymphatischen Organen, Leber, Niere, glatter Muskulatur sowie in endokrinen Drüsen (Grazi & Wurzinger 2005).

Kollagen VI scheint für die Bindung von Zellen an das kollagene Netzwerk der extrazellulären Matrix eine wichtige Rolle zu spielen (Burgeson & Nimni 1992). Das Vorkommen und die Verteilung von Kollagen VI ist für alle Bindegewebe, insbesondere für Gelenkknorpel und Bandscheiben (Roberts et al. 1994; Poole et al. 1992), aber auch für den Faserknorpel der Enthese (Milz et al. 1999) beschrieben worden.

Das auffälligste Markierungsmuster zeigt sich beim Nachweis von Kollagen II. Der radiale und zentrale Teil des Diskus sowie seine knöchernen Anheftungsstellen zeigen eine positive Markierung. Der ulnare Diskusrand hingegen und der Meniscus ulnocarpalis sind negativ.

Kollagen II ist der wichtigste Bestandteil des hyalinen Knorpels, der u.a. in Gelenken, auf Knochenoberflächen, beim Längenwachstum in Epiphysenfugen sowie in Bronchien, Larynx und Trachea vorkommt (Grazi & Zanner 2005). Darüber hinaus sind Kollagen-II-Fasern charakteristisch für Enthesisfaserknorpel (Benjamin & Evans 1990; Benjamin und Ralphs 1995). Es konnte von verschiedenen Autoren gezeigt werden, dass das Auftreten von Kollagen II in einem Enthesisfaserknorpel mit dem Grad der mechanischen Druckbeanspruchung (Kompression) des Gewebes korreliert (Benjamin et al. 1995; Milz et al. 1998, 1999, 2001, 2005).

In den untersuchten Präparaten lässt sich das regelmäßige Auftreten von Kollagen II im radialen und zentralen Diskusanteil somit als Zeichen der Anpassung an die lokale mechanische Druckbeanspruchung in diesem Bereich interpretieren. Insgesamt ermöglicht die deutliche Abgrenzung der Kollagen-II-Markierung im radialen Diskusdrittel eine immunhistochemische Abgrenzung der Faserknorpelzone. Dies entspricht auch der histomorphologischen Zuordnung. An der Enthesis finden sich chondroide, rundliche Zellen, die einzeln oder in Reihen angeordnet sind.

4.2.2 Glykosaminoglykane

Glykosaminoglykanketten bestehen hauptsächlich aus repetitiven Disaccharideinheiten, einer Uronsäure und einem Aminozucker. Da die Disaccharideinheiten durch Carboxyl- oder Sulfatgruppen negativ geladen sind, werden Kationen wie Natrium, Kalium und Calcium und große Wassermengen gebunden (Grazl & Wurzinger 2005). Die netzartigen Kollagenfibrillen halten die hydrophile Matrix der Proteoglykane (zumindest temporär) gefangen, was zur Druckresistenz des Gewebes führt (Broom 1982). Die Glykosaminoglykane haben sehr starken Einfluß auf die Struktur, die molekularen Interaktionen und die biomechanischen Eigenschaften der Proteine, an welche sie angeheftet sind (Lander 1999).

Die verschiedenen Glykosaminoglykane zeigen Unterschiede hinsichtlich ihres hauptsächlichlichen Vorkommens. Die bevorzugte Lokalisation ist abhängig vom jeweiligen Gewebetyp und von der dort vorherrschenden mechanischen Belastung (Milz 2002, Milz et al. 2005). Chondroitinsulfate sind unter anderem typisch für Knorpel, Knochen, Haut und Blutgefäße (Junqueira & Carneiro 1996). Dermatansulfat findet sich in der Haut, in Sehnen und der Adventitia der Aorta (Junqueira & Carneiro 1996). Keratansulfat kommt bevorzugt in der Kornea, im Nucleus pulposus und Anulus fibrosus vor (Junqueira & Carneiro 1996).

Dermatan- und Keratansulfat treten häufig schon bei geringer, lokaler Druckbeanspruchung auf (Milz et al. 2005). Diese mechanische Situation wird im Discus articularis ulnae schon allein durch die Gewebsverformung bei normalen Handgelenksbewegungen erreicht. Dementsprechend überrascht die homogene Markierung in allen untersuchten Diskusabschnitten und im Meniscus ulnocarpalis nicht.

Chondroitin-4-Sulfat und besonders Chondroitin-6-Sulfat kommen in faserknorpeligen Geweben vor, welche einer etwas ausgeprägteren mechanischen Kompression ausgesetzt sind (Milz et al. 2005). Im TFCC zeigt sich für Chondroitin-

4-Sulfat eine gleichmäßige Markierung in allen Bereichen. Chondroitin-6-Sulfat, das erst bei starker lokaler Kompression auftritt (Milz et al. 2005), markiert im radialen Diskusdrittel etwas deutlicher als in den ulnaren Diskusrandbereichen und Meniscus ulnocarpalis. Hier ist es teilweise nur in Form von einzelnen positiven „spots“ zu finden. Hieraus kann auf eine radial höhere Druckbeanspruchung als ulnar geschlossen werden.

Das sogenannte „übersulfatierte (oversulphated)“ Epitop von Chondroitin-6-Sulfat wird in der Literatur im adulten Gewebe als Indiz für degenerative Veränderungen gewertet (Cateron et al. 1990; Roberts et al. 1994). Auffällig ist, dass in erster Linie die faserknorpeligen Zonen an der radialen Diskusanheftung positiv sind, während die ulnaren Diskusabschnitte und der Meniscus ulnocarpalis meist ohne Markierung bleiben. Dies könnte bedeuten, dass sich degenerative Veränderungen zuerst im Faserknorpel manifestieren und erst später in den übrigen Abschnitten auftreten.

4.2.3 Proteoglykane und Glykoproteine

Proteoglykane sind Hauptbestandteil des interstitiellen Bindegewebes. Ihr Proteinanteil besteht aus einem zentralen Kernprotein, welches mit unterschiedlichen glykosaminoglykanhaltigen Seitenketten besetzt ist.

Versican ist ein großes Chondroitinsulfat-Proteoglykan, das von Fibroblasten gebildet wird und für die Interaktion zwischen extrazellulärer Matrix und den Zelloberflächen-Glykoproteinen verantwortlich ist (Zimmermann 1999). In vitro konnte gezeigt werden, dass Versican mit der Zelladhäsion von verschiedenen extrazellulären Matrixkomponenten wie z.B. Kollagen I interferiert (Zimmermann 1999). Darüber hinaus wurde eine häufige Expression von Versican in Geweben beobachtet, die als Migrationsbarrieren in der embryologischen Entwicklung fungieren. Es wird weiter vermutet, dass Versican auch bei der Proliferationskontrolle von Keratinozyten und dermalen Fibroblasten eine Rolle spielt (Zimmermann 1999).

Tenascin ist ein großes multimeres extrazelluläres Matrixprotein. Es wirkt wie Versican hemmend auf die Adhäsion von vielen Zellen. Als Wirkungen von Tenascin sind darüber hinaus beschrieben worden: Wachstumsförderung, Haemagglutination, Immunsuppression von T-Zellen und Förderung der Angiogenese und Chondrogenese (Chiquet-Ehrismann 1999).

Sowohl Versican als auch in geringerem Maße Tenascin sind typische Marker des kollagenfaserreichen, straffen Bindegewebes (Heinegard & Oldberg 1993). Mit steigender mechanischer Beanspruchung und zunehmendem faserknorpeligen Umbau verringert sich das Vorkommen dieser Matrixmoleküle, bis sie schließlich lokal ganz verschwinden (Milz et al. 2005). Versican und Tenascin markieren in den untersuchten Abschnitten des TFCC schwach bis mäßig stark. Vor allen bei Tenascin ist zu beobachten, dass sich die radialen Diskusabschnitte schwächer markieren als die ulnaren Randbereiche und der Meniscus ulnocarpalis. Vereinzelt bleibt bei Versican und Tenascin die Markierung im radialen Enthesisbereich aus.

Genau umgekehrt verhält es sich hinsichtlich der Expression von Aggrecan und Link Protein: beide Moleküle sind mit steigender Druckbelastung vermehrt nachweisbar

(Milz et al. 2005). Aggrecan setzt dabei einer Verformung des Gewebes durch Kompression Widerstand entgegen (Milz et al. 2005). Dies beruht auf seiner Fähigkeit, große Wassermengen zu binden. Das so entstandene Gel kann nicht mehr komprimiert werden und wird durch die Interaktion mit den Kollagenen am Ort fixiert. Die Fähigkeit eines Gewebes, äußerer Kompression zu widerstehen, beruht hier im Wesentlichen auf seiner Wasserbindungskapazität.

Link Protein ist ein hauptsächlich extrazellulär anzutreffendes Glykoprotein, welches vor allem im Knorpel vorkommt und dort die Interaktion zwischen Aggrecan und Hyaluronsäure stabilisiert (Goetinck 1999). Die vom Link Protein stabilisierten Proteoglykanaggregate tragen zum Wachstum embryonaler Knorpelanlagen bei und spielen eine entscheidende Rolle für die Widerstandsfähigkeit des adulten Knorpels gegen Druck (Goetinck 1999). Auch in nicht knorpeligen Geweben erfüllt Link Protein die gleiche Funktion, aber mit anderen Hyaluronsäure-bindenden Proteinen.

Bei Aggrecan und Link Protein zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung eine deutliche Markierung im radialen Diskusanteil. Der ulnare Diskusrand und der Meniscus ulnocarpalis hingegen sind weitgehend negativ.

Sowohl die zuvor erwähnte schwache Tenascin Markierung im radialen Diskusdrittel wie auch die deutlich positive Markierung von Aggrecan und Link Protein in diesem Bereich lassen sich als Anpassung an die radial höhere mechanische Druckbeanspruchung des Gewebes interpretieren.

Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) ist ein Glykoprotein, das Kollagen I und II bindet und die Anheftung von Chondrozyten an die extrazelluläre Matrix über Rezeptorproteine, sogenannte Integrine, fördert (Chen et al. 2005). COMP spielt durch seinen direkten Effekt auf die Chondrozyten eine wichtige Rolle bei der enchondralen Ossifikation (Di Cesare et al. 2000). Die Bedeutung dieses Proteins für das skelettale Wachstum wurde kürzlich durch die Identifizierung von Mutationen im COMP-Gen unterstrichen, die zu spezifischen skelettalen Dysplasien führen (Kennedy et al. 2005).

COMP zeigt in der vorliegenden Arbeit eine gleichmäßige Markierung über den gesamten Diskus und Meniscus ulnocarpalis. Der hyaline Knorpel zeigt interessanterweise nur in den oberflächlichen Schichten eine positive Reaktion.

4.3 Funktionell anatomische Relevanz

Obwohl vom TFCC als einheitlicher, faserknorpeliger Struktur gesprochen wird, handelt es sich tatsächlich um ein relativ inhomogenes Gewebe. Radial im Bereich der Anheftung hat es einen stark faserknorpeligen Charakter. In Richtung ulnarer Rand und Meniscus ulnocarpalis nimmt es aber deutlich weniger knorpelige und stattdessen stärker bindegewebige Züge an und geht fließend in die benachbarten Bänder über. An der ulnaren Enthese sowie an der knöchernen Anheftung am Os triquetrum zeigt sich lokal wiederum ein deutlich faserknorpeliger Aufbau. Diese Beobachtung deckt sich im Wesentlichen mit den Befunden von Benjamin et al. (1986), die rein morphologisch ähnliche Unterschiede beschreiben konnten.

Die regional unterschiedlich stark ausgeprägten faserknorpeligen Regionen des Diskus spiegeln sich auch in der Verteilung der Vaskularisierung wieder. Radial und zentral, also dort, wo der Diskus am stärksten faserknorpelig ist, finden sich in der Regel keine Gefäße. Die peripheren, eher bindegewebigen 15-20% des Diskus werden dagegen arteriell über die A. ulnaris sowie die palmaren und dorsalen Äste der A. interossea anterior versorgt (Thiru-Pathi et al. 1968; Bednar et al. 1991; Mikic 1992). Die enge Korrelation zwischen nicht bzw. hypovaskularisierten Zonen und dem Vorhandensein von Faserknorpel stellten auch Benjamin und Vogel in anderen Geweben fest (Benjamin & Evans 1990; Vogel 1995). Neuere Arbeiten konnten Endostatin, einen anti-angiogenen Faktor, perizellulär um Faserknorpelzellen herum nachweisen (Pufe et al. 2004). Die Avaskularität könnte eine funktionelle Notwendigkeit darstellen, welche die mechanische Kompression (d.h. spezifische lokale Beanspruchung) des Gewebes in diesem Bereich reflektiert. Dies wiederum erklärt, warum in den schlecht oder gar nicht durchbluteten Regionen degenerative Prozesse und Rupturen besonders häufig vorkommen. Nach Meinung der meisten Autoren besitzen diese Rupturen daher nur ein schlechtes bzw. gar kein Heilungspotential (Thiru-Pathi et al. 1986; Bednar et al. 1991; Chidgey et al. 1991). In unserer Untersuchung finden sich Gefäße auch vorwiegend in den ulnaren Randbereichen des TFCC (Abb. 9). Bei einem der untersuchten Präparate sind aber im zentralen Diskusbereich, wenige Millimeter von der radialen Enthese entfernt, zahlreiche Gefäße erkennbar (siehe Abb. 7, 34, 35). Wie in Abbildung 7 deutlich zu

sehen ist, ist der Bereich unmittelbar um die Gefäße herum nicht faserknorpelig markiert. Diese Ergebnisse widerlegen somit (zumindest im vorliegenden Einzelfall) die weit verbreitete Ansicht, die inneren 80% des Discus articularis ulnae inklusive der radialen Anheftung seien grundsätzlich avaskulär und besäßen daraus resultierend keinerlei Heilungspotential. Cooneys Meinung, dass auch radiale Abrisse des Diskus heilbar sind (Cooney et al. 1994) sowie die Aussagen neuerer Arbeiten, die der Wiederanheftung von radialen TFCC-Rissen gute Ergebnisse bescheinigen (Sagerman & Short 1996; Fellingner et al. 1997; Martineau et al. 2005), werden dadurch unterstützt.

Neben der (weitgehenden) Avaskularität der radialen und zentralen Diskusabschnitte, die die mechanische Kompression reflektiert, spiegelt auch der faserknorpelige Phänotyp als solcher die mechanische Beanspruchung in dieser Region wieder. Zahlreiche Arbeiten haben gezeigt, dass ein direkter Zusammenhang zwischen lokaler Druckbeanspruchung und funktioneller Gewebeanpassung besteht, die sich in Veränderungen der molekularen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix äußert (Gillard et al. 1979; Benjamin & Evans 1990; Ralphs et al. 1991; Lewis et al. 1998, Milz et al. 2005). Faserknorpelige Zonen werden in diesem Zusammenhang als Zeichen der funktionellen Anpassung an mechanische Beanspruchung betrachtet. Gerade im Enthesisbereich, wo zwei Strukturen mit unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften aufeinander treffen (Benjamin et al. 2002), kommt es häufig zu lokalen Spitzenbeanspruchungen und damit unter anderem auch zu Überbelastung und zu Verletzungen. Beispiele dafür sind der Tennisellbogen oder die Insertionstendopathie der Achillessehne. Die faserknorpelige Enthesis muss die unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften kontinuierlich ausgleichen, um lokale Spitzenbelastungen, die an der Grenzschicht zwischen Hart- und Weichgewebe herrschen, reduzieren zu können (Benjamin & Ralphs 1998; Benjamin et al. 2002; Milz et al. 2005). Der Faserknorpel ermöglicht es also einem Gewebe, Druck- und Zugbelastungen dauerhaft zu widerstehen, ohne zu ermüden (Milz et al. 2005). Typisch für Faserknorpel ist unter anderem das Vorkommen von Kollagen II und Aggrecan in der ECM (Benjamin & McGonagle 2001). Beide Moleküle finden sich in allen untersuchten Präparaten vor allem im radialen und zentralen Diskusanteil und lokal an seinen knöchernen Anheftungsstellen. Das vermehrte Auftreten von Kollagen II und Aggrecan kann also

als Anpassung an lokal vorherrschende Druckbeanspruchungen gewertet werden. Unsere Ergebnisse stimmen damit mit Publikationen überein, welche deutlich höhere Beanspruchungen in radialen Diskusabschnitten im Vergleich zu ulnaren TFCC-Bereichen nachweisen (Adams & Holley 1993; Adams et al. 1996).

Zahlreiche biomechanische Untersuchungen des TFCC haben ergeben, dass sich die Form und Ausdehnung des Diskus während Pro- und Supination kaum verändert und dass sich der Diskus weitestgehend statisch verhält (Nakamura 1995; Nakamura & Makita, 2000; Pfirrmann et al. 2001; Makita et al. 2003). Die sogenannte „Dehnungsbremsen“- Theorie des Enthesefaserknorpels, die 1958 von Knese und Bierman formuliert wurde, könnte eine Erklärung dafür bieten. Diese besagt, dass die in Relation verhärtete faserknorpelige Enthese eine Formveränderung des Bandes (in unserem Fall des Discus articularis ulnae) an der Anheftung verhindern soll, um lokale Spitzenbeanspruchungen im Enthesisbereich zu verringern und damit Verletzungen an dieser Stelle entgegenzuwirken (Knese & Bierman 1958). In diesem Zusammenhang könnte das verstärkte Vorkommen von Aggrecan und Link Protein im Enthesefaserknorpel erklären, warum selbst bei starker physiologischer Belastung kaum eine Formveränderung des Diskus im Bereich der radialen Enthesis erfolgt. Wie bereits zuvor festgestellt, setzt Aggrecan einer Deformation des Gewebes Widerstand entgegen und ermöglicht so erst die Druckresistenz der Enthesis. Aufgrund der Fähigkeit, große Wassermengen zu binden und durch die Interaktion mit Kollagenen gewährleistet Aggrecan, dass es am Grenzflächenbereich der Enthesis zu keiner Verformung des Diskus kommen kann. Link Protein leistet hier ebenfalls einen Beitrag zur Formstabilisierung, indem es die Interaktion von Aggrecan und Hyaluronsäure stabilisiert.

Trotz dieser funktionellen faserknorpeligen Anpassung des Diskus lassen sich Verletzungen und Rupturen nicht verhindern. Läsionen des TFCC sind in der Literatur häufig beschrieben. Bereits sehr früh beschreibt Petit pathologische Veränderungen des Discus articularis ulnae (Petit 1725). Die Angaben in der Literatur bezüglich der Inzidenz von TFCC-Perforationen schwanken allerdings erheblich: 7% (Kessler & Silberman 1961); 24% (Jeffries et al. 1994); 26,7% (Tan et al. 1995), 36% (Viegas et al.1993), 42% (Weigl & Spira 1969), 46% (Fortems et al. 1994), 53% (Palmer & Werner 1981; Mikic 1989), 60% (Lee et al. 2004; Lewis et al.

1970), 62% (Uchiyama & Nakatsuchi 1994) und 81% (Maraval-Bonnet 1969, zitiert nach Mikic 1978). Mikic betont aber in diesem Zusammenhang, dass zahlreiche Perforationsstudien ohne Altersreferenz aussagelos seien, da eine Diskusperforation seiner Meinung nach als spontan auftretender letzter Schritt in einer progressiven, altersabhängigen, degenerativen Veränderung aufgefasst werden muss (Mikic 1978).

Neben degenerativen Veränderungen spielt aber auch das Längenverhältnis zwischen distaler Ulna und Radius eine wichtige Rolle im Zusammenhang mit TFCC Perforationen. In 61% der Fälle stehen die karpalen Gelenkflächen von Radius und Ulna auf gleicher Höhe (Hultén 1928). In 23% besteht eine relative Verkürzung des Ulnakopfes, die sog. Ulna-Minus-Variante (Hultén 1928). In 16% reicht die Ulna über das Niveau der distalen Radiusfläche hinaus; dies bezeichnet man als Ulna-Plus-Variante (Hultén 1928). Zwischen dieser positiven Ulnavariante und der Dicke des TFCC besteht eine inverse Korrelation: D.h. je stärker positiv die Ulnavariante ist, desto dünner sind der Diskus und der TFCC (Palmer et al. 1984). Infolge der positiven Ulnavariante erhöhen sich die Kompressionslasten im Zentrum des Diskus erheblich, so dass die positive Ulnavariante deutlich häufiger mit TFCC Perforationen assoziiert ist (u.a. Palmer et al. 1984; Mikic 1989).

Neben der Inzidenz der TFCC-Perforationen werden auch die Muster der Diskusrupturen nicht einheitlich beschrieben: Während einige Autoren radiale Abrisse des Diskus als häufigsten Defekt nennen (Coleman 1960; Martinek 1977; Chidgey et al. 1991; Dell 1992; Uchiyama & Nakatsuchi 1994 mit einer Inzidenz zwischen 61% und 82%), beschreiben andere Autoren zentrale Diskusverletzungen als den häufigsten Verletzungstyp (Mikic 1978; Lee et al. 2004, Jeffries et al. 1994 mit einer Inzidenz zwischen 51% und 59%).

Dabei ist zu beachten, dass - ähnlich wie bei den einzelnen Strukturen des TFCC - auch hier kein allgemein gültiges Begrenzungssystem vorliegt: Es wird in keiner der Arbeiten deutlich, bis zu welcher Lokalisation eine Läsion als radial, bzw. wann sie als zentrale Perforation bezeichnet wird. Dies erschwert die Vergleichbarkeit der Arbeiten erheblich. Einzig die Arbeit von Uchiyama und Nakatsuchi (1994) geht auf dieses Problem ein: Die Autoren beschreiben in ihrer Arbeit eine Fissur in dorsopalmarer Richtung nahe der radialen Entthesis mit einer Inzidenz von 62% als die häufigste Läsion des TFCC. Diese radiale Fissur, so die Autoren, entspricht in

der Klassifikation von Palmer (1989) der „central perforation“. Es wird also deutlich, dass es trotz der unterschiedlichen Nomenklatur (radiale oder zentrale Perforation) gut möglich ist, dass die Autoren von ein und derselben Lokalisation sprechen.

In der vorliegenden Arbeit finden sich bei 4/9 Präparaten Perforationen des Discus articularis ulnae. Wir haben dabei nur die kompletten Perforationen im mittleren Diskusbereich mit einer vollständigen Kontinuitätsunterbrechung gewertet. Es zeigt sich, dass die Perforationen besonders im Übergangsbereich zwischen faserknorpeliger radialer Enthese region und dem übrigen eher knorpelig-bindegewebigen Diskus lokalisiert sind.

Palmer veröffentlichte 1989 eine Klassifikation der TFCC-Verletzungen (Palmer 1989). Hier wird unterschieden zwischen Klasse-1-Läsionen, die traumatisch bedingt sind, und Klasse-2-Verletzungen mit degenerativer Ätiologie. Die Klasse 1 wird je nach Lokalisation der Verletzung weiter unterteilt in A bis D. A: ein Riss 2-3 mm medial der radialen Anheftung, B: Abriss des TFCC von der ulnaren Anheftung, häufig mit Instabilität des DRUJ assoziiert C: Abriss von der Lunatum- oder Triquetrum- Anheftung, assoziiert mit Ulnokarpalinstabilität und D: TFCC-Läsion an der radialen Anheftung. Bei den degenerativen Verletzungen erfolgt eine weitere Unterteilung in A-E abhängig von der Ausdehnung und Lokalisation der Veränderungen (Palmer 1989).

Uneinigkeit herrscht in der Literatur über die Frage, ab welchem Alter degenerative Veränderungen des TFCC auftreten. Während Mikic in den ersten zwei Lebensdekaden keinerlei Perforationen vorfand (Mikic 1978), vertreten andere Autoren die Meinung, dass es bereits kongenital zu TFCC-Verletzungen kommen kann (Weigl & Spira 1969; Tan et al. 1995). Bei beiden Studien waren die kongenitalen Risse immer nahe der radialen Diskusanheftung lokalisiert.

Wenn Diskusverletzungen Schmerzen verursachen, stehen zahlreiche Therapieoptionen zur Verfügung, wobei in den meisten Fällen durch eine mehrwöchige Immobilisierung des Handgelenks die Beschwerden deutlich gelindert werden können (Palmer 1990). Wenn konservative Maßnahmen unzureichend sind, können verschiedene operative Maßnahmen ergriffen werden. Während früher

häufig komplette TFCC- und Ulnakopfresektionen durchgeführt wurden (Darrow et al. 1985), versucht man heute, soviel wie möglich von dieser wichtigen Struktur zu erhalten (Beyermann et al. 1999). Therapeutisch kommen sowohl eine Diskusrefixation (Diskusrepair) als auch eine Diskusteilresektion in Frage. Die Diskusrefixation zeigt vor allem dann günstige Ergebnisse, wenn die Diskusruptur nicht länger als zwei Wochen zurückliegt (Cooney et al. 1994; Sagerman & Short 1996; Fellingner et al. 1997; Hempfling 2004; Martineau et al. 2005). Arthroskopisches Débridement mit einer Diskusteilresektion wird besonders bei zentralen Diskusläsionen erfolgreich angewandt (Osterman 1990; Minami et al. 1996, Beyermann et al. 1999).

Man darf aber nicht außer Acht lassen, dass viele Läsionen ohne klinische Beschwerden einhergehen. Laut Martinek verlaufen 2/3 der Diskusverletzungen mit nachgewiesenen anatomischen Schäden ohne Symptome (Martinek 1977). Viegas betont in seiner Arbeit, dass bei Patienten mit einseitigen Handgelenksbeschwerden häufig kontralateral dieselben anatomischen Gegebenheiten vorgefunden werden, ohne dass sie hier zu Schmerzen führen (Viegas et al. 1993). Es ist daher wichtig, dass nicht die anatomischen Verhältnisse, sondern die Symptome des Patienten behandelt werden.

4.4 Klinische Relevanz

Es gibt Hinweise darauf, dass bei einem Teil der Patienten mit rheumatoider Arthritis (RA) eine Autoimmunantwort gegen Antigene vorliegt, die typischerweise auch im hyalinen Knorpel vorkommen. Diese Erkenntnis stellt einen wichtigen Beitrag zum Verständnis der Pathogenese solcher Erkrankungen dar. Als mutmaßliche Antigene werden Aggrecan, Link Protein und Kollagen II (Lohmander et al. 1993; Guerassimov et al. 1997, 1998, 1999; Zhang et al. 1998; Kim et al. 1999, Li et al. 2000; Zhang 2003; Boszczyk et al. 2003) schon seit längerem in der Literatur diskutiert. Neueren Arbeiten zufolge spielt aber auch COMP in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle (Souto-Carneiro et al. 2001).

COMP ist ein pentameres Glykoprotein, welches vor allem im Gelenkknorpel, aber auch in Sehnen, Bändern, Menisci und synovialen Membranen vorkommt (Söderlein, et al. 2004). COMP-Serum-Spiegel sind zudem Biomarker für den Knorpelturnover (Oldberg et al. 1992) und werden als Indikator für das Ausmaß der Knorpeldestruktion bei Patienten mit rheumatoider Arthritis betrachtet (Di Cesare et al. 1999; Dodge et al. 1998; Skoumal et al. 2004; Wislowska & Jablonska 2005). Da die COMP-Serum-Konzentration aber auch bei anderen Erkrankungen, die den Knorpel schädigen, erhöht sein kann - wie beispielsweise der reaktiven Arthritis oder der Osteoarthritis (Söderlein et al. 2004; Wislowska & Jablonska 2005) - ist eine Differenzierung zwischen den ätiologisch verschiedenen Arthritiden mithilfe der COMP-Konzentration alleine nicht möglich (Söderlein et al. 2004).

Nach Arbeiten von Wislowska & Jablonska beträgt die normale COMP-Serum-Konzentration 5 µg/ml. In den Anfangsstadien der rheumatoiden Arthritis sind diese Werte erhöht, während sie in weiter fortgeschrittenen Stadien wieder abnehmen (Wislowska & Jablonska 2005). Den Autoren zufolge besteht bei Patienten mit RA eine Korrelation zwischen der Serum-COMP-Konzentration und dem Aktivitätslevel der Krankheit, der Krankheitsdauer sowie dem Alter des Patienten. Sie sehen in der Serum-COMP-Konzentration einen prognostischen Marker für die Krankheitsprogression. Dem schließen sich auch Lindquist et al. an, die herausfanden, dass erhöhte COMP-Konzentrationen zu Beginn der Krankheit mit

signifikant stärkeren Gelenkschäden im weiteren Krankheitsverlauf assoziiert sind (Lindquist et al. 2005).

Während Söderlein et al. eine Korrelation zwischen der COMP-Serum-Konzentration und dem C-reaktiven Protein (CRP) beschreiben, sind die meisten anderen Autoren der Meinung, dass COMP nicht mit Entzündungsparametern wie dem CRP assoziiert ist und somit auch nicht als Ausdruck einer unspezifischen inflammatorischen Reaktion aufzufassen ist (Skoumal et al. 2004; Haberhauer et al. 2001).

Da sich erhöhte COMP-Konzentrationen sowohl unter Steroidtherapie als auch unter Gabe von Tumornekrosefaktor (TNF)- α -Antikörper wieder normalisieren (Haberhauer et al. 2003; Crnkic et al. 2003), stellen COMP-Serumlevel einen wichtigen Parameter zur Beurteilung des Therapieansprechens dar (Crnkic et al. 2003).

Die oben genannten potentiell antigen wirkenden Moleküle Aggrecan, Link Protein, Kollagen II und COMP kommen aber nicht nur im hyalinen Gelenkknorpel vor, sondern finden sich beispielsweise auch an den Anheftungsstellen (Enthesen) von Sehnen und Bändern.

Aufgrund der molekularen Zusammensetzung der ECM des Discus articularis muss dieser damit ebenfalls als potentiell Angriffsziel bei autoantigener Destruktion im Rahmen von rheumatischen Erkrankungen betrachtet werden. Insbesondere die starke Markierung von COMP, Aggrecan, Link Protein und Kollagen II vor allem im radialen Diskusdrittel sowie an den knöchernen Anheftungen lässt vermuten, dass sich hier Prädilektionsstellen für die Manifestation der rheumatoiden Arthritis vorhersagen lassen.

Tatsächlich ist das Handgelenk bei rheumatoider Arthritis schon in frühen Stadien der Krankheit betroffen und zeigt für dieses Gelenk eine rasche Progredienz. Innerhalb der ersten zwei Jahre der Erkrankung haben 68% der Patienten ein symptomatisches Handgelenk mit Synovitis (Hämäläinen et al. 1992). Die rheumatischen Veränderungen beginnen oft am ulnaren Anteil des Handgelenks (Weston 1968; Kauer & Landsmeer 1981; Flury et al. 1999; Borisch & Haußmann 2002). Schmerzen und Weichteilschwellungen an der ulnaren Seite sind typische Frühzeichen der Erkrankung (Lewis et al. 1970). Der praestyloide Recessus enthält stark vaskularisiertes, synoviales Gewebe. Diese synoviale Membran ist verantwortlich für eine frühe Weichteilschwellung bei der rheumatoiden Arthritis (Weston 1968) und führt zu den typischen klinischen und radiologischen Zeichen in

der Region um den Proc. styloideus ulnae (Lewis et al. 1970; Kauer & Landsmeer 1981). Eine Expansion des erkrankten Synoviums kann dann zur Zerstörung der interossären Bänder, des Gelenkknorpels, der Kapalknochen und des TFCC führen (Straub & Ranawat 1969; Sparmann 1999; Ilan & Rettig, 2003). Da der TFCC und die Bänder für die Stabilität des Gelenks eine entscheidende Bedeutung spielen, kann hieraus eine Instabilität des distalen Radioulnargelenks resultieren (Terrano et al. 1995; Sparmann 1999; Ilan & Rettig, 2003).

Ähnliche Veränderungen wie bei der rheumatoiden Arthritis, können auch bei seronegativen Spondylarthritiden (SpA) auftreten. SpA betreffen vorwiegend die Wirbelsäule und das Iliosakralgelenk und treten vor allem im Rahmen der ankylosierenden Spondylitis, Morbus Bechterew auf (Mc Gonagle et al. 1999, 2002). Entzündliche Beteiligungen einer Enthese können aber auch an der unteren Extremität (Benjamin & McGonagle 2001) und an der oberen Extremität vorkommen und dort das Handgelenk befallen (Albert et al. 1983, Goupille et al. 1994).

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit ist es, die molekulare Zusammensetzung der extrazellulären Matrix im Discus articularis ulnae und im Meniscus ulnocarpalis zu bestimmen und daraus Rückschlüsse auf die vorherrschende mechanische Beanspruchung der einzelnen Teile des Gewebes zu ziehen.

Es zeigt sich, dass der TFCC ein inhomogenes Gewebe ist, welches radial einen stark faserknorpeligen Charakter hat, in Richtung ulnarer Rand und Meniscus ulnocarpalis aber deutlich weniger knorpelige und statt dessen verstärkt bindegewebige Züge annimmt.

Charakteristisch für die faserknorpeligen Bereiche ist das Vorherrschen von Kollagen II, Chondroitin-6-Sulfat, Aggrecan und Link Protein - alles Moleküle, die auch an anderen faserknorpeligen Stellen des menschlichen Körpers nachgewiesen werden konnten.

Da die Ausbildung von Faserknorpel als Ausdruck einer funktionellen Anpassung des Gewebes an mechanische Beanspruchung zu sehen ist, muss man davon ausgehen, dass der Diskus vor allen in seinen radialen und zentralen Anteilen nicht unerheblicher Kompression ausgesetzt ist. Im begrenzten Umfang trifft das auch auf die Anheftungen des TFCC an Ulna und Os triquetrum zu.

Es ist daher von klinischer Bedeutung, dass es vor allem im Übergangsbereich zwischen radialem und mittlerem Diskusdrittel häufig zu Rissen kommt, wobei nicht alle Perforationen des Diskus symptomatisch und damit behandlungsbedürftig sind.

Weitere klinische Bedeutung gewinnt die Arbeit durch den Nachweis potentieller Autoantigene im Bereich des TFCC. Es handelt sich dabei um Moleküle, von denen bekannt ist, dass sie über unterschiedliche Mechanismen an intra- und extraartikulären Destruktionsprozessen im Rahmen der rheumatoiden Arthritis und seronegativen Spondylarthritiden beteiligt sein können.

6 Literaturverzeichnis

Adams B.D., Holley K.A.: Strains in the articular disc of the triangular fibrocartilage complex: A biomechanical study

J Hand Surg 18A: 919- 925, 1993

Adams B.D., Samani, J.E., Holley K.A.: Triangular fibrocartilage injury: A laboratory model

J Hand Surg 21A: 189-193, 1996

Albert J., Lagier R., Ott H.: Extraspinal erosions of tendon insertions in ankylosing spondylitis

Rev Rhum Mal Osteoartic 50(8-9): 573-578, 1983

Asher R.A., Perides G., Vanderhaeghen J.J., Bignami A.: Extracellular matrix of central nervous system white matter: demonstration of an hyaluronate-protein complex

J Neurosci Rec 28: 410-421, 1991

Asher R.A., Scheibe R.J., Keiser H.D., Bignami A.: On the existence of a cartilage-like proteoglycan and link proteins in the central nervous system

Glia 13: 294-308, 1995

Bednar M.S., Arnoczky S.P., Weiland A.J.: The microvasculature of the triangular fibrocartilage complex: Its clinical significance

J Hand Surg 16A: 1101-1105, 1991

Benjamin M., Evans E.J., Copp L.: The histology of tendon attachments in man

J Anat 149: 89-100, 1986

Benjamin M., Evans E.J.: Fibrocartilage

J Anat 171: 1-15, 1990

Benjamin M., Evans E.J., Pemberton D.J.: Histological studies on the fibrocartilage complex of the wrist

J Anat 172: 59-67, 1990

Benjamin M., Ralphs J.R.: Functional and developmental anatomy of tendons and ligaments

In: Gordon S.L., Blair S.J., Fine L.J.(eds.) Repetitive motion disorders of the upper extremity

Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons; pp. 185-203, 1995

Benjamin M., Qin S., Ralphs J.R.: Fibrocartilage associated with human tendons and their pulleys

J Anat 187: 625-633, 1995

Benjamin M., Ralphs J.R.: Fibrocartilage in tendons and ligaments- an adaptation to compressive load

J Anat 193: 481-494, 1998

Benjamin M., McGonagle D.: The anatomical basis for disease localisation in seronegative spondyloarthritis at entheses and related sites

J Anat 199: 503-526, 2001

- Benjamin M., Kumai T., Milz S., Boszczyk B.M., Boszczyk A.A., Ralphs J.R.: The skeletal attachment of tendons- tendon "entheses"
Comparative Biochemistry and Physiology Part A 133: 931-945, 2002
- Beyermann K., Krimmer H., Lanz U.: TFCC-Läsionen Diagnostik und Therapie
Orthopäde 28: 891-898, 1999
- Borisch N., Haußmann P.: Das rheumatische Handgelenk
Orthopäde 31: 1159-1167, 2002
- Boszczyk A., Boszczyk B.M., Putz R., Benjamin M., Milz S.: Expression of a wide range of fibrocartilage molecules at the entheses of the alar ligaments - Possible antigenic targets for rheumatoid arthritis?
J Rheumatol 30 (7): 1420-1425, 2003
- Broom N.D.: Abnormal softening in articular cartilage. Its relationship to the collagen framework
Arthritis and Rheumatism 25(10): 1209-1216, 1982
- Burgeson R.E., Nimni M.E.: Collagen types. Molecular structure and tissue distribution
Clin Orthop 282: 250-272, 1992
- Calabro A., Hascall V.C., Caterson B.: Monoclonal antibodies directed against epitopes within the core protein structure of the large aggregating proteoglycan (aggrecan) from the swarm rat chondrosarcoma
Arch Biochem Biophys 298: 349-360, 1992
- Caterson B, Christner J.E., Baker J.R.: Identification of a monoclonal antibody that specifically recognizes corneal and skeletal keratan sulphate. Monoclonal antibodies to cartilage proteoglycan
J Biol Chem 258: 8848-8854, 1983
- Caterson B, Christner J.E., Baker J.R., Couchman J.R.: Production and characterization of monoclonal antibodies directed against connective tissue proteoglycans
Federation Proceedings 44: 386-393, 1985
- Caterson B., Mahmoodian F., Sorrell J.M., Hardingham T.E., Bayliss M.T., Carney S.L., Ratcliffe A., Muir H.: Modulation of native chondroitin sulphate structure in tissue development and in disease
J Cell Sci 97: 407-411, 1990
- Chen F.H., Thomas A.O., Hecht J.T., Goldring M.B., Lawler J.: Cartilage oligomeric matrix protein/thrombospondin 5 supports chondrocyte attachment through interaction with integrins
J Biol Chem 280(38): 32655-32661, 2005
- Chidgey L.K., Dell P.C., Bittar E.S., Spanier S.S.: Histological anatomy of the triangular fibrocartilage
J Hand Surg 16A: 1084-1100, 1991
- Chiquet-Ehrismann R.: Tenascins
In: Kreis T., Vale R. (eds.) Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins. Second edition, Oxford University Press, New York, pp. 486-489, 1999

Coleman H.M.: Injuries of the articular disc at the wrist
J Bone Joint Surgery 42B: 522-529, 1960

Cooney W.P., Linscheid R.L., Dobyns J.H.: Triangular fibrocartilage tears
J Hand Surg 19A: 143-154, 1994

Crnkic M., Mansson B., Larsson L., Geborek P., Heinegard D., Saxne T.: Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) decreases in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab or etanercept
Arthritis Res Ther 5: 181-185, 2003

Darrow J.C., Linscheid R.L., Dobyns J.H., Mann J.M., Wood M.B., Beckenbaugh R.D.: Distal ulnar recession for disorders of the distal radioulnar joint
J Hand Surg 10: 482-491, 1985

Dell P.C.: Traumatic disorders of the distal radioulnar joint
Clin Sports Med 11(1): 141-159, 1992

Di Cesare P.E., Fang C., Leslie M.P., Della Valle C.J., Gold J.M., Tulli H., Perris R., Carlson C.S.: Localization and expression of cartilage oligomeric matrix protein by human rheumatoid and osteoarthritic synovium and cartilage
J Orthop Res 17: 437-445, 1999

Di Cesare P.E., Fang C., Leslie M.P., Tulli H., Perris R., Carlson C.S.: Expression of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) by embryonic and adult osteoblasts
J Orthop Res. 18(5): 713-720, 2000

Dodge G.R., Hawkins D., Boesler E., Sakai L., Jimenez S.A.: Production of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) by cultured human dermal and synovial fibroblasts
Osteoarthritis Cartilage 6: 435-440, 1998

Ekenstam F.: Anatomy of the distal radioulnar joint
Clinical Orthop 275: 14-18, 1992

Ekenstam F., Hagert C.G.: Anatomical studies on the geometry and stability of the distal radioulnar joint
Scand J Plast Reconstr Surg 19: 17-25, 1985

Fellinger M., Peicha G., Seibert F.J., Grechenig W.: Radial avulsions of the triangular fibrocartilage complex in acute wrist trauma: a new technique for arthroscopic repair
Arthroscopy Vol.13, No.3: 370-374, 1997

Flury M.P., Herren D.B., Simmen B.R.: Rheumatoid arthritis of the wrist
Clin Orthop 366: 72-77, 1999

Fortems Y., DeSmet L., Stoffelen D., Deneffe G., Fabry G.: Incidence of cartilaginous and ligamentous lesions of the radio-carpal and distal radio-ulnar joint in an elderly population
J Hand Surg 19B:5: 572-575, 1994

Garcia- Elias M: Soft tissue anatomy and relationships about the distal ulna
Hand Clinics 14: 165-176, 1998

Gelbermann R., Goldberg V., An K.N., Banes A.: Tendon
In: Woo SL-Y (ed.) Injury and repair of the musculoskeletal soft tissues
Park Ridge: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1988

Gillard G.C., Reilly H.C., Bell-Booth P.G., Flint M.H.: The influence of mechanical forces on the glycosaminoglycane content of the rabbit flexor digitorum profundus tendon
Connect Tissue Res 7: 37-46, 1979

Goetinck P.F.: Link protein
In: Kreis T., Vale R. (eds.) Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins. Second edition, Oxford University Press, New York, pp: 444-446, 1999

Gofton W.T., Gordon K.D., Dunning C.E., Johnson J.A., King G.J.W.: Soft tissue stabilizers of the distal radioulnar joint: an in vitro kinematic study
J Hand Surg 29A: 423-431, 2004

Goupille P., Pizzuti P., Jattiot F., Valat J.P. Destructive arthritis of the wrist and palmoplantar pustolosis.
Clin Exp Rheumatol 12(3): 305-308, 1994

Grazl M., Wurzinger L.J.: Kapitel 4: Bindegewebe.
In: Histologie: Grazl M. (Hrsg.), Junqueira L.C.U., Carneiro J.
6. neu übersetzte Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 2005

Grazl M., Zanner R.: Kapitel 6: Knorpelgewebe.
In: Histologie: Grazl M.(Hrsg.), Junqueira L.C.U., Carneiro J.
6. neu übersetzte Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 2005

Guerassimov A., Duffy C., Zhang Y., Banerjee S., Lerous J.Y., Reimann A., Webber C., Delaunay N., Vipparti V., Ronbeck L., Cartman S., Arsenault L., Rosenberg L.C., Poole A.R.: Immunity to cartilage link protein in patients with juvenile rheumatoid arthritis
J Rheumatol 24: 959-964, 1997

Guerassimov A., Zhang Y., Banerjee S., Cartman A., Webber C., Esdaile J., Fitzcharles M.A., Poole A.R.: Autoimmunity to cartilage link protein in patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis
J Rheumatol 25:1480-1484, 1998

Guerassimov A., Zhang Y., Cartman A., Rosenberg L.C., Esdaile J., Fitzcharles M.A. et al.: Immune responses to cartilage link protein and the G1 domain of proteoglycan aggrecan in patients with osteoarthritis
Arthritis Rheum 42: 527-533, 1999

Haberhauer G., Kittl E.M., Bauer K., Dunky A.: Serum COMP but not CRP increased three months after steroid withdrawals in rheumatoid arthritis indication of reactivation of cartilage degradation without increase of inflammation
Z Rheumatol 60, 1:1/53:8 12, 2001

Haberhauer G.F., Feyertag J., Kittl E.M., Bauer K., Dunky A.: Steroid treatment normalizes the variability and levels of serum COMP in RA patients, indicating a possibility to monitor effect of cartilage protective drugs.
Rheum Dis 61 (Suppl) 200, 2003

Hämäläinen M., Kammonen M., Lethimäki M. et al.: Epidemiology of wrist involvement of rheumatoid arthritis
In: Simmen, B.R., Hagena, F-W. (eds.) Rheumatology. The wrist in rheumatoid arthritis
Karger, Basel, pp. 1-7, 1992

Hara T., Horii E., An K.N., Cooney W.P., Linscheid R.L., Chao E.Y.S.: Force distribution across wrist joint: application of pressure-sensitive conductive rubber
J Hand Surg 17A: 339-347, 1992

Heinegard D., Oldberg O.: Glycosylated matrix proteins
In: Royce P.M., Steinmann B. (eds.) Connective tissue and its heritable disorders.
Wiley & Liss, New York, pp. 189-209, 1993

Hempfling H.: Die Läsionen des Handgelenkdiskus
Orthopäde 33: 657-675, 2004

Henle J: Handbuch der Bänderlehre des Menschen. Vieweg, Braunschweig 1856

Hessle H., Engvall E.: Type IV collagen. Studies on its localization, structure, and biosynthetic form with monoclonal antibodies
J Biol Chem 259: 3955-3961, 1984

Holmdahl R., Rubin K., Klareskog L., Larsson E., Wigzell H.: Characterization of the antibody response in mice with type II collagen-induced arthritis using monoclonal anti-type II collagen antibodies
Arthr Rheum 29: 400-410, 1986

Hultén O.: Über anatomische Variationen der Handgelenksknochen
Acta radiol. 9: 155-168, 1928

Ilan D.I., Rettig M.E.: Rheumatoid arthritis of the wrist
Bull Hosp Joint Diseases 61:179-185, 2003

Jeffriers A.O., Craigen A.C., Stanley J.K.: Wear patterns of the articular cartilage and triangular fibrocartilage complex of the wrist: a cadaveric study
J Hand Surg 19B:306-309, 1994

Junqueira L.C., Carneiro J.: Kapitel 7: Bindegewebe
In: Histologie, 4., korrigierte und überarbeitete Auflage
Ergänzt von T.H. Schiebler
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1996

Kauer J.M.G., Landsmeer J.M.F.: Functional anatomy of the wrist
In: Tubiana R. (ed.) The hand
Vol.1, chapter 11: 142-157, 1981

Kauer J.M.G.: The distal radioulnar joint
Clin Orthop 275: 37-45, 1992

Kennedy J., Jackson G., Ramsden S et al.: COMP mutation screening as an aid for the clinical diagnosis and counselling of patients with suspected diagnosis of pseudoachondroplasia or multiple epiphyseal dysplasia.
Eur J Hum Genet 13: 547-555, 2005

Kessler I., Silberman Z.: An experimental study of the radiocarpal joint by arthrography.
Surgery, Gynecology and Obstetrics 112: 33-40, 1961

Kierman J.A.: Histological and histochemical methods: theory and practice
Butterworth- Heinemann, Oxford, Auckland, Boston: pp. 390-418, 1999

Kim H.Y., Kim W.U., Cho M.L., Lee S.K., Youn J., Kim S.I. et al.: Enhanced T cell proliferative response to type II collagen and synthetic peptide CII in patients with rheumatoid arthritis
Arthritis Rheum 42: 2085-2093, 1999

Knese K.H., Biermann H.: Die Knochenbildung an Sehnen Bandansätzen im Bereich ursprünglich chondraler Apophysen
Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie 49: 142- 187, 1958

Kummer B.: Funktioneller Bau und funktionelle Anpassung des Knochens
Anat Anz 110: 261-293, 1962

Kummer B.: Die Beanspruchung des menschlichen Hüftgelenks
Anat Embryol 127: 277-285, 1968

Kummer B.: Mechanische Beanspruchung und funktionelle Anpassung des Knochens
Verh Anat Ges 72: 21-46, 1978

Kummer B.: Bau und Funktion des Bewegungsapparates
In: Witt A., Rettig H., Schlegel K., Hackenbroch M., Hupfauer W. (eds.)
Orthopädie in Praxis und Klinik Band I Allgemeine Orthopädie. Thieme, Stuttgart 1980

Lander A.D.: Proteoglycans
In: Kreis T., Vale R. (eds.) Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins.
Second edition, Oxford University Press, New York, pp. 351-356, 1999

Lee D., Dickson K.F., Bradley E. L.: The Incidence of wrist interosseus ligament and triangular fibrocartilage articular disc disruptions: A cadaveric study
J Hand Surg 29A: 676-684, 2004

Lewis O.J.: Evolutionary change in the primate wrist and inferior radio-ulnar joints
Anat Rec 151: 275-286, 1965

Lewis O.J., Hamshere R.J., Bucknill T.M.: The anatomy of the wrist joint
J Anat 106: 539-552, 1970

Lewis A.R., Ralphs J.R., Kneafsey B., Benjamin M.: Distribution of collagens and glycosaminoglycans in the joint capsule of the proximal interphalangeal joint of the human finger
Anat Rec 250: 281-291, 1998

Li N.L., Zhang D.Q., Zhou K.Y., Cartman A., Leroux J.Y., Poole A.R., Zhang Y.P.: Isolation and characteristics of autoreactive T cells specific to aggrecan G1 domain from rheumatoid arthritis patients
Cell Res 10: 39-49, 2000

Lindquist E., Eberhardt K., Bendtzen K., Heinegard D., Saxne T.: Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis
Ann Rheum Dis 64: 196-201, 2005

Lohmander L.S., Neame P.J., Sandy J.D.: The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence that aggrecanase mediates cartilage degradation in inflammatory joint disease, joint injury, and osteoarthritis
Arthritis Rheum 36: 1214-1222, 1993

Makita A., Nakamura T., Takayama S., Toyama Y.: The shape of the triangular fibrocartilage during pronation and supination
J Hand Surg 28B: 6: 537-545, 2003

Martineau P.A., Bergeron S., Beckman L., Steffen T., Harvey E.J.: Reconstructive procedure for unstable radial-sided triangular fibrocartilage complex avulsions
J Hand Surg 30A, No4 727-732, 2005

Martinek H.: Zur Traumatologie des Discus articularis des Handgelenks
Arch. Orthop. Unfall-Chir. 87: 285-297, 1977

Mc Gonagle D., Khan M.A., Marzo-Ortega H., O'Conner P., Gibbon W., Emery P.: Enthesitis in spondyloarthropathy
Curr Opin Rheumatol 11: 244-250, 1999

Mc Gonagle D., Marzo-Ortega H., O'Conner P., Gibbon W., Hawkey P., Henshaw K., Emery P.: Histological assessment of the early enthesitis lesion in spondyloarthropathy
Ann Rheum Dis 61: 534-537, 2002

Meyer H.: Die Architektur der Spongiosa
Archiv für Anatomie und Physiologie: 615-628, 1867

Mikic Z.D.: Age changes in the triangular fibrocartilage of the wrist joint
J Anat 126: 367-384, 1978

Mikic Z.D.: Detailed anatomy of the articular disc of the distal radioulnar joint
Clin Orthop 245: 123-132, 1989

Mikic Z.D.: The blood supply of the human distal radioulnar joint and the microvasculature of its articular disc
Clin Orthop 275: 19-28, 1992

Milz S., Eckstein F., Putz R.: The thickness of the subchondral plate and its correlation with the thickness of the uncalcified articular cartilage in the human patella
Anat Embryol 192: 437-444, 1995

Milz S., McNeilly C., Putz R., Ralphs J.R., Benjamin M.: Fibrocartilages in the extensor tendons of the interphalangeal joints of human toes
Anat Rec 252: 264-270, 1998

Milz S., Putz R., Ralphs J.R., Benjamin M.: Fibrocartilages in the extensor tendons of the human metacarpophalangeal joints
Anat Rec 256: 139-145, 1999

Milz S., Schlüter T., Putz R., Moriggl B., Ralphs J.R., Benjamin M.: Fibrocartilage in the transverse ligament of the human atlas
Spine 26: 1765-1771, 2001

Milz S.: Molekulare Parameter der mechanischen Beanspruchung des faserreichen Bindegewebes
Habilitationsschrift. München, 2002

Milz S., Boszczyk A.A., Putz R., Benjamin M.: Die Enthesis
Orthopäde 34: 526-532, 2005

Minami A., Ishikawa J., Suenage N., Kasashima T.: Clinical results of treatment of triangular fibrocartilage complex tears by arthroscopic debridement
J Hand Surg 21A: 406-411, 1996

Nakamura, T.: Triangular fibrocartilage complex: Functional anatomy and histology
J Jpn Orthop Assoc 69: 168-180, 1995

Nakamura T., Yabe Y., Horiuchi Y.: Functional anatomy of the triangular fibrocartilage complex
J Hand Surg (Br) 24(1): 22-26, 1996

Nakamura T., Yabe Y.: Histological anatomy of the triangular fibrocartilage complex of the human wrist
Annals of Anatomy 182: 567-572, 2000

Nakamura T., Makita A.: The proximal ligamentous component of the triangular fibrocartilage complex
J Hand Surg 25B (5): 479-486, 2000

Neviaser R.J., Palmer A.K.: Traumatic perforation of the articular disc of the triangular fibrocartilage of the wrist
Bulletin of the Hospital for Joint Diseases Orthopaedic Institute. Vol. 44(2): 376-380, 1984

Oldberg A., Antonsson P., Lindblom K., Heinegaard D.: COMP is structurally related to the thrombospondins
J Biol Chem 267: 22346-22350, 1992

Olerud C., Kongsholm J., Thuomas K.-A.: The congruence of the distal radioulnar joint
Acta Orthop Scand 59: 183-185, 1988

- Olsen B.R., Ninomiya Y.: Fibrillar collagens
In: Kreis T., Vale R. (eds.) Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins.
Second edition, Oxford University Press, New York, pp.383-387, 1999
- Osterman A.L.: Arthroscopic debridement of triangular fibrocartilage complex tears
Arthroscopy: J of arthroscopic and related surgery 6(2): 120- 124, 1990
- Palmer A.K., Werner F.W.: The triangular fibrocartilage complex of the wrist- anatomy and function
J Hand Surg 6: 153-162, 1981
- Palmer A.K., Werner F.W.: Biomechanics of the distal radioulnar joint
Clin Orthop 187: 26-35, 1984
- Palmer A.K., Glisson B.S., Werner F.W.: Relationship between ulnar variance and triangular fibrocartilage complex thickness
J Hand Surg 9A: 681-683, 1984
- Palmer A.K.: The triangular fibrocartilage complex lesions: a classification
J Hand Surg 14A: 594-606, 1989
- Palmer A.K.: Triangular fibrocartilage complex disorders: Injury patterns and treatment
Arthroscopy 6: 125-132, 1990
- Pauwels F.: Die Bedeutung der Bauprinzipien der unteren Extremität für die Beanspruchung des Beinskelets
Z Anat Entw Gesch 114: 525-538, 1949
- Pauwels F.: Die Druckverteilung im Ellenbogengelenk
Z Anat Entw Gesch 123: 643-667, 1963
- Pauwels F.: Gesammelte Abhandlungen der funktionellen Anatomie des Bewegungsapparates
Springer, New York, 1965
- Pauwels F.: Über die Bedeutung der Markhöhle für die mechanische Beanspruchung des Röhrenknochens
Z Anat Entw Gesch 145: 81-85, 1974
- Pauwels F.: Über die gestaltende Wirkung der funktionellen Anpassung des Knochens
Anat Anz 139: 213-220, 1976
- Peters R.: Die histologische Struktur der Kompakta des Femurschaftes und ihre Beziehung zu Dichte und Festigkeit
Dissertation Köln 1975
- Petit J.L.: Abhandlungen von denen Krankheiten derer Knochen am menschlichen Leibe (aus dem Französischen übersetzt), Haude, Berlin, Kapitel 10, 187-206, 1725

Pfirschmann C.W.A., Theumann N.H., Chung C.B., Botte M.J., Trundell D.J., Resnick D.: What happens to the triangular fibrocartilage complex during pronation and supination of the forearm? Analysis of its morphology and diagnostic assessment with MR arthrography
Skeletal Radiol 30: 677-685, 2001

Ploetz E.: Funktioneller Bau und funktionelle Anpassung von Gleitsehnen
Z Orthop 67: 212-234, 1938

Poole C.A., Ayad S., Gilbert R.T.: Chondrons from articular cartilage. Immunohistochemical evaluation of type IV collagen organisation in isolated chondrons by light, confocal and electron microscopy
J Cell Sci 103: 1101-1110, 1992

Pufe T., Petersen W.J., Miosge N. et al.: Endostatin/ collagen XVIII - an inhibitor of angiogenesis - is expressed in cartilage and fibrocartilage
Matrix Biol 23: 267-276, 2004

Ralphs J.R., Benjamin M., Thornett A.: Cell and matrix biology of the suprapatella in the rat: a structural and immunocytochemical study of fibrocartilage in a tendon subject to compression
Anat Rec 231: 167-177, 1991

Roberts S., Caterson B., Evans H., Eisenstein S.M.: Proteoglycan components of the intervertebral disc and cartilage endplate: an immunolocalization study of animal and human tissues
Histochem J 26: 402-411, 1994

Roux W.: Gesammelte Abhandlungen über die Entwicklungsmechanik der Organismen
Engelmann, Leipzig 1885

Roux W.: Über die Dicke der statischen Elementarteile und die Maschenweite der Substantia spongiosa der Knochen
Zeitschrift für orthopädische Chirurgie IV. Band. Separatdruck 1896

Sagerman S.D., Short W.: Arthroscopic repair of radial-sided triangular fibrocartilage complex tears
Arthroscopy, Vol.12, No.3: 339- 342, 1996

Schlüter M.: Zur funktionellen Morphologie des distalen Radioulnargelenks
Med. Inaug.-Diss., Köln, 1987

Schmidt H.-M., Lanz U.: Ulnokarpaler Komplex
In: Chirurgische Anatomie der Hand
Hippokrates Verlag, Stuttgart, 1992

Schmidt H.-M.: Die Anatomie des ulnokarpalen Komplexes
Orthopäde 33: 628-637, 2004

Schuijnd F., An K.N., Berglund L., Rey R., Cooney W.P., Linscheid R.L., Chao E.Y.S.: The distal radioulnar ligaments: a biomechanical study
J Hand Surg 16A: 1106-1114, 1991

Schuind F., Conney W.P., Linscheid R.L., An K.N., Chao E.Y.: Force and pressure transmission through the normal wrist. A theoretical two-dimensional study in the posteroanterior plane
J Biomech 28(5): 587-601, 1995

Skoumal M, Haberhauer G., Feyertag J., Kittl E-M., Bauer K., Dunky A.: Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein are elevated in rheumatoid arthritis, but not in inflammatory rheumatic diseases such as psoriatic arthritis, reactive arthritis, Raynaud's syndrome, scleroderma, systemic lupus erythematosus, vasculitis and Sjögren's syndrome
Arthritis Res Ther, 6: 73-74, 2004

Söderlein M.K., Kastbom A., Kautiainen H., Leirisalo-Repo M., Strandberg G., Skogh T.: Antibodies against cyclic citrullinated peptide (CCP) and levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in very early arthritis: relation to diagnosis and disease activity
Scand J Rheumatol 33: 185- 188, 2004

Souto-Carneiro MM, Burkhardt H, Muller EC, Hermann R, Otto A, Kraetsch HG, Sack U, König A, Heinegard D, Muller-Hermelink HK, Krenn V. Human monoclonal rheumatoid synovial B lymphocyte hybridoma with a new disease-related specificity for cartilage oligomeric matrix protein.
J Immunol. 166: 4202-4208, 2001

Sparmann M.: Das instabile Radiokarpalgelenk bei der rheumatischen Arthritis
Orthopäde 28: 872-877, 1999

Straub L.R., Ranawat C.S.: The wrist in rheumatoid arthritis
J of Bone and Joint Surgery 51-A: 1-20, 1969

Taleisnik J.: The wrist. The ligaments of the wrist
Churchill Livingstone, pp. 17-22, 1985

Tan A.B.H., Tan S.K., Yung S.W., Wong M.K., Kalinga M.: Congenital perforations of the triangular fibrocartilage complex of the wrist
J Hand Surg, 20B:3: 342-345, 1995

Terrano A.L., Feldon P.G., Millender L.H., Nalebuff E.A.: Evaluation and treatment of the rheumatoid wrist
J Bone Joint Surg, 77A (7): 1116-1127, 1995

Thiru-Pathi R.G., Ferlic D.C., Clayton M.L., McClure D.C.: Arterial anatomy of the triangular fibrocartilage of the wrist and its surgical significance
J Hand Surg 11A: 258-263, 1986

Tillmann B.: A contribution to the functional morphology of the articular surfaces.
Thieme, Stuttgart, 1-50, 1978

Uchiyama S., Nakatsuchi Y.: Anatomical and radiological evaluation of the triangular fibrocartilage complex of the wrist
J Hand Surg 19B: 319-324, 1994

Verstraeten A.A., Mackie E.J., Hagerman P.C., Hilgers J., Schol D.J., De Jongh G.J., Schlakwijk J.:
Tenascin expression in basal cell carcinoma
Br J Dermatol 127: 571-574, 1992

Viegas S.F., Patterson R.M., Hokanson J.A., Davis J.: Wrist anatomy: Incidence, distribution, and
correlation of anatomic variations, tears, and arthrosis
J Hand Surg 18A: 463-475, 1993

Vogel K.G.: Fibrocartilage in tendon: a response to compressive load.
In: Gordon S.L., Blair S.J., Fine L.J. (eds.) Repetitive motion disorders of the upper extremity.
American Academy of Orthopaedic Surgeons, Rosemont, pp 205-215, 1995

Weigl K., Spira E.: The triangular fibrocartilage of the wrist joint
Reconstr Surg Traumatol 11: 139-153, 1969

Werner F.W., Glisson R.R., Murphy D.J., Palmer A.K.: Force transmission through the distal radioulnar
carpal joint: effect of ulnar lengthening and shortening
Handchirurgie 18, 304-308, 1986

Weston W.J.: The soft-tissue changes of rheumatoid arthritis at the wrist.
Aust Radiol 12: 384-392, 1968

Wislowska M., Jablonska B.: Serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in rheumatoid arthritis
and knee osteoarthritis
Clin Rheumatol 24: 278-284, 2005

Wolff J.: Über die innere Architektur der Knochen und ihre Bedeutung für die Frage von
Knochenwachstum.
Virchows Arch. 50: 389-453, 1870

Wolff J.: Das Gesetz der Transformation der inneren Architektur der Knochen bei pathologischen
Veränderungen der äußeren Knochenform
Sitzungsber. Preuss. Akad. Wiss. 22: 179, 1884

Zhang Y., Guerassimov A., Leroux J.Y., Cartman A., Webber C., Lalic R., de Miguel E., Rosenberg
L.C., Poole A.R.: Induction of arthritis in BALB/c mice by cartilage link protein: involvement of distinct
regions recognized by T and B lymphocytes
Am J Pathol 153: 1283-1291, 1998

Zhang Y.: Animal models of inflammatory spinal and sacroiliac joint diseases
Rheum Dis Clin North Am. 29(3): 631- 645, 2003

Zimmermann D.R.: Versican
In: Kreis T., Vale R. (eds.) Guidebook to the extracellular matrix, anchor and adhesion proteins.
Second edition, Oxford University Press, New York, pp. 493-496, 1999

7 Anhang

Protokoll: Immunmarkierung mit Vectastain DAB- Kit

1. Umrandung der Präparate mit Dako-Pen
2. Rehydrierung in PBS + Tween (5 Minuten)
3. Methanol (100 ml + 1 ml H₂O₂, 30 Minuten)
4. Waschen (3x5 Minuten PBS + Tween)
5. Enzymbehandlung (30 Minuten bei 37°Celsius)
6. Waschen (3x5 Minuten PBS + Tween)
7. Blockierung mit Pferdeserum (1:20 verdünnt mit PBS, 60 Minuten bei Raumtemperatur) danach abklopfen, nicht waschen
8. Vorbereitung in der Zwischenzeit: ABC- Komplex (1ml PBS ohne Tween, jeweils 20 µl ABC-A und 20 µl ABC-B, 30 Minuten bei 4°Celsius aufbewahren)
9. Primärantikörper (30 Minuten, Raumtemperatur)
10. Waschen (3x5 Minuten PBS + Tween)
11. Sekundärantikörper (30 Minuten, Raumtemperatur) Vectastain ABC-kit Elite
12. Waschen (3x5 Minuten PBS + Tween)
13. Zugabe des zuvor vorbereiteten ABC- Komplex (30 Minuten, Raumtemperatur)
14. Waschen (3x5 Minuten PBS + Tween)
15. DAB (4 Minuten, Inkubation im Dunkeln)
16. Sofort mit Leitungswasser abspülen
17. Meyer`s Hämatoxylin (30 Sekunden)
18. Leitungswasser (2x Differenzieren mit Leitungswasser 5-10 Minuten)
19. Aufsteigende Alkoholreihe (70, 80, 90, 100, 100%, Xylol I, Xylol II jeweils 5 Minuten)
20. Eindecken der Präparate mit DPX

Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Priv. Doz. Dr. med. Stefan Milz bei für die Überlassung des Themas und für die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten, seine uneingeschränkte Hilfsbereitschaft und jederzeit gewährte Unterstützung.

Des Weiteren danke ich Frau Mayer und Frau Lippelt für die Unterstützung bei der Literaturrecherche und der Arbeit im Labor sowie Herrn Dr. Andreas Eimannsberger für seine Hilfe bei Computerfragen.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, ohne deren Unterstützung und Glaube an mich diese Arbeit nie entstanden wäre.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Barbara Cécile Sicking
Geburtsdatum 23.02.1980
Geburtsort Hamm
Familienstand ledig

Schulbildung

09/1990-05/1999 Evangelisch Stiftisches Gymnasium, Gütersloh
05/1999 Abitur, Note: 1,4 (Leistungskurse: Englisch, Biologie)
01/1997-04/1997 Box Hill School, Mickleham, England

Medizinische Ausbildung

04/2000-09/2002 Vorklinik an der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), München
09/2002 Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
10/2002-05/2007 Klinischer Studienabschnitt an der LMU, München
08/2003: Erstes Staatsexamen
09/2005: Zweites Staatsexamen
05/2007: Drittes Staatsexamen - Gesamtnote: gut (2,16)

Praktisches Jahr

04/2006-08/2006 Wahlfach Radiologie, Klinikum der Universität, LMU, München
08/2006-11/2006 Innere Medizin, Krankenhaus München-Neuperlach
12/2006-03/2007 Chirurgie, Krankenhaus München-Neuperlach