

Aus der Anatomischen Anstalt der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

Vorstand: Univ. Prof. Dr. med. Dr. hc. R. Putz

---

**Molekulare Zusammensetzung der extrazellulären Matrix  
der Sehne des M. tensor veli palatini an der Umlenkung am  
Hamulus pterygoideus**

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

vorgelegt von  
Michael Gitt  
aus München  
2006

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. Doz. Dr. S. Milz
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. F. X. Reichl Priv. Doz. Dr. M. Suckfüll
Dekan:	Prof. Dr. D. Reinhardt
Tag der mündlichen Prüfung:	21.06.2006

# **GLIEDERUNG**

## **1. Einleitung**

- 1.1 Anatomische Situation
  - 1.1.1 Übersicht
  - 1.1.2 Makroskopische Morphologie des knöchernen Hamulus pterygoideus
  - 1.1.3 Topographie im Schädelskelett
  - 1.1.4 Topographie der angrenzenden Weichgewebe
- 1.2 Funktionelle Anpassung des Sehnengewebes an Zug- und Druckbelastung
- 1.3 Klinischer Bezug
- 1.4 Zielsetzung der Arbeit

## **2. Material und Methode**

- 2.1 Material
- 2.2 Methode
  - 2.2.1 Entnahme, Präparation und Zwischenlagerung
  - 2.2.2 Gefrierschnittanfertigung
  - 2.2.3 Immunhistochemische Markierung
  - 2.2.4 Mikroskopische Auswertung

## **3. Ergebnisse**

- 3.1 Kollagene
- 3.2 Glycosaminoglykane
- 3.3 Proteoglykane und Link Protein

## **4. Diskussion**

- 4.1 Wertigkeit des gewählten methodischen Ansatzes
  - 4.1.2 Wahl der geeigneten Präparate
    - 4.1.1 Wahl der geeigneten Nachweismethode
- 4.2 Interpretation der Ergebnisse
- 4.3 Klinische Bedeutung des Nachweises knorpeltypischer Antigene

## **5. Zusammenfassung**

## **6. Literatur**

## **7. Lebenslauf**

## **1 Einleitung**

### **1.1 Anatomische Situation**

#### **1.1.1 Übersicht**

Der Hamulus pterygoideus wird in der Literatur im Allgemeinen als hakenförmiger Fortsatz am kaudalen Ende der Lamina medialis des Proc. pterygoideus des Keilbeins beschrieben, welcher nach außen und hinten gekrümmt ist. Am menschlichen Schädel finden sich somit zwei Hamuli, welche beidseits etwa in Höhe der Tuberebene hinter dem Gaumenbein (Os palatinum) liegen.

Der Hamulus pterygoideus dient als Umlenkung für die Sehne des M. tensor veli palatini, welche in einer Gleitfurche, dem Sulcus hamuli pterygoidei, den „Gaumenhaken“ (Salomon 1842) umschlingt. Dieser Muskel ist Bestandteil des weichen Gaumens und spannt das Gaumensegel (Merkel 1901; Braus 1954; Pernkopf 1957; Frick et al. 1992).

Schon früh wird in der Literatur beschrieben, dass die konkave, ventro-lateralwärts gerichtete Kontaktfläche zur Sehne an der Basis des Hamulus Zeichen eines faserknorpeligen Phänotyps aufweist (Rüdiger 1874; Disse et al. 1896; Spalteholz 1922).

Eine weitere wichtige Funktion erfüllt der Hamulus als Ursprungs- bzw. Ansatzstelle mehrerer Muskeln und Sehnen. Im Einzelnen sind hier die Raphe pterygomandibularis, der M. tensor veli palatini, der M. buccinator, der M. constrictor pharyngis superior und der M. palatopharyngeus zu nennen (Gardener et al. 1963; Frick et al. 1992; Putz et al. 1993).

Die Raphe pterygomandibularis entspringt an der Spitze des Hamulus und zieht schräg lateral abwärts und inseriert zwischen dem zweiten und dritten Molaren an der Innenseite der Mandibula in Höhe der Alveolarfortsatzbasis (Eisler 1912).

Sie dient dem M. buccinator und der Pars buccopharyngica des M. constrictor pharyngis superior als Zwischensehne (Kopsch 1940).

Der M. palatopharyngeus, welcher an der Innenseite des Schlundschwürers abwärts zieht, strahlt von Gaumenaponeurose und Hamulus aus (Frick et al. 1992).

### **1.1.2 Makroskopische Morphologie des knöchernen Hamulus pterygoideus**

Der Hamulus selbst lässt sich in drei Abschnitte unterteilen. Die Basis liegt direkt am Übergang zur Lamina medialis und zeigt im Querschnitt die größte Fläche. Kaudalwärts folgt nun der Hals, die schmalste Stelle sowohl in medio-lateraler (Breite), als auch in ventro-dorsaler (Dicke) Richtung. Diese Verjüngung liegt ca. 1-3 mm kranial des Köpfchens, welches sich in den meisten Fällen ausbildet.

Die durchschnittliche Breite liegt in transversaler Richtung bei 1,4 mm und ist somit deutlich geringer als die Dicke in der sagittalen mit einem Mittelwert von 2,3 mm. Die mittlere Gesamtlänge vom tiefsten Punkt des Sulcus an der Basis bis zur kaudalsten Spitze des Köpfchens beträgt 7,2 mm. Im Querschnitt zeigt sich die ventrale Seite deutlich rundlicher und breiter als die manchmal scharfkantig zulaufende dorsale Seite.

Zusammenfassend zeigt sich zwischen verschiedenen Individuen eine große morphologische Vielfalt, doch innerhalb desselben Individuums häufig im Seitenvergleich die gleiche Tendenz.

### **1.1.3 Topographie im Schädelskelett**

Die topographische Lage des Hamulus pterygoideus im Schädelskelett lässt sich anhand verschiedener Linien und Ebenen beschreiben. In der Horizontalebene liegt er beim Menschen ca. 2,0 – 5,0 mm medio-dorsal des knöchernen Tuber maxillae, im Mittel beträgt der Abstand 4,8 mm. Hierbei zeigt sich kein direkter Zusammenhang zur Bezahnung im Molarenbereich. Die Relation zum Tuberniveau variiert erheblich, das Köpfchen kann sowohl 8 mm kranial, als auch 5 mm kaudal des Proc. alveolaris liegen.

Denkt man sich eine Linie durch die Basen beider Hamuli, so verläuft diese ca. 3mm dorsal der Spina nasalis posterior parallel zur Fontalebene. Ihr durchschnittlicher Abstand beträgt 30,6 mm und in der Regel liegen sie etwas kaudal des Os palatinum, wobei die Spitzen der Hamuli das Tuberniveau im Mittel nicht überragen.

Der Winkel zwischen Hamuluslängsachse und Camper'scher Ebene beträgt auf die Sagittalebene projiziert ca. 75° nach dorsal geneigt. Auf der Frontalebene liegt der Winkel zwischen Hamuluslängsachse und Bipupillarlinie bei durchschnittlich 58°.

Auch topographisch zeigt sich am gleichen Individuum beidseits meist die gleiche Tendenz, während die Unterschiede zwischen den Individuen doch deutlich ausgeprägt erscheinen können. (Kroyer 1997; Putz & Kroyer 1999).

#### **1.1.4 Topographie der angrenzenden Weichgewebe**

Der M. pterygoideus medialis verläuft lateral, parallel zur Längsachse des Hamulus. Es können aber einige Fasern, die vom Köpfchen entspringen, schräg nach unten in den Hauptmuskel einstrahlen.

Zwischen dem Hamulus und dem M. pterygoideus medialis liegt der M. tensor veli palatini. Dieser zwei- bis dreibäuchige Muskel entspringt beim Menschen mit seinem kranialen Bauch in der Fossa scaphoidea, mit dem mittleren an der Ala major ossis sphenoidalis und manchmal mit einem kaudalen Bauch an der Tuba auditiva. In einem Winkel von 45-65° laufen die Bäuche nach anterior schräg abwärts und vereinigen sich zu einer Zwischensehne, welche den Hamulus im Sulcus auf der konkaven Seite umschlingt. Von hier aus strahlen sie schräg nach medio-ventral in die Aponeurosis palatina ein. Die Richtungsänderung hier ist erheblich und beträgt ca. 90°. Einzelne Fasern inserieren direkt lateral am Knochenfortsatz, anstatt in die Sehne überzugehen, andere wiederum entspringen medial. Wenn ein dritter kaudaler Bauch vorhanden ist, so strahlt er direkt in das Köpfchen ein.

Die Zwischensehne liegt dem Hamulus im Sulcus bis kurz vor dem Köpfchen auf einer Länge von ca. 6mm an und nutzt ihn als Hypomochlion. Bei sehr kurzen Knochenfortsätzen können aber sowohl das Köpfchen, als auch der kraniale Teil der Raphe pterygomandibularis als Umlenkung für die Sehne dienen.

Die bindegewebige Raphe pterygomandibularis entspringt an der Spitze des Hamulus, zieht schräg lateral nach unten und setzt an der Innenseite der Mandibula an. Sie trennt den M. buccinator von der Pars superficialis des M. constrictor pharyngis superior. Der M. buccinator steht sowohl direkt über bestimmte Faserbündel am Köpfchen, als auch indirekt über die Raphe pterygomandibularis mit dem Hamulus in Beziehung.

Die Medialseite des Knochenfortsatzes mit ihrem straffen bindegewebigen Überzug dient einigen Faserzügen der Pars pterygopharyngea des oberen Schlundsnürers als Ursprung.

Der Hamulus ist an allen Bereichen, an denen Sehnen und Muskeln inserieren, mit dichten Bindegewebe umgeben, welches von deren Fasern durchdrungen wird, da diese meist direkt am Knochen über Sharpey'sche Fasern verankert sind. Die dorsale Fläche, an der keine Strukturen einstrahlen, ist mit normalem Periost überzogen.

## **1.2 Funktionelle Anpassung des Sehnengewebes an Zug- und Druckbelastung**

Es gibt eine Vielzahl wissenschaftlicher Untersuchungen, welche sich mit dem Phänomen der funktionellen Anpassung des Bewegungsapparates an die mechanische Belastung auseinandersetzen. Der Grundsatz „form follows function“, die Formanpassung folgt der Funktionsänderung, besagt, dass sich die Gewebe in ihrer Form prinzipiell an die vorherrschende Beanspruchung anpassen. In diesem Zusammenhang trifft man immer wieder auf die Stichworte „Wolff'sches Gesetz“ (basierend auf den Arbeiten von Meyer 1867; Wolff 1870, 1884, 1892 und Roux 1885, 1896) und „kausale Histiogenese“, (basierend im Wesentlichen auf den Arbeiten von Pauwels 1949, 1960, 1963, 1965, 1974, 1976 und Kummer 1959, 1962, 1968, 1978, 1980) welche den theoretischen Überlegungen neuerer Arbeiten (Peters 1975; Tillmann 1978; Milz & Putz 1994; Milz et al. 1995) zu Grunde liegen.

Den Anpassungsprozessen von Sehnen und Bändern im Speziellen widmen sich nur wenige Autoren (Ploetz 1938; Tillmann 1978; Benjamin & Evans 1990; Benjamin et al. 1986, 1995 a, b; Benjamin & Ralphes 1997, 1998; Milz et al. 1998, 1999).

Muskelsehnen und Bänder haben die Aufgabe, Muskelkräfte auf die Skelettelemente des Bewegungsapparates zu übertragen, in dem sie die auftretenden Zugkräfte an ihrer Anheftungsstelle, der sog. Enthesis, auf den Knochen übertragen. Diese „Zugsehnen“ werden aber an einigen Körperstellen mit einer außergewöhnlichen mechanischen Konstellation konfrontiert. Es wurde nachgewiesen, dass Sehnen und Bänder, welche neben der Zugbelastung auch einem lokalen Druck ausgesetzt sind, in diesen Bereichen mit der Bildung von Faserknorpel reagieren. Diese Druckzonen entstehen an den Stellen, an denen die Sehnen und Bänder über Umlenkpunkte, sog. Hypomochlia (entweder ein Knochenvorsprung oder ein Halteband, sog. Retinaculum) hinweg ziehen.

Durch die erzwungene Richtungsänderung kommt es im Bereich der Auflagefläche der Gleitsehne zu einer lokalen Druckbeanspruchung.



Die faserknorpelige Veränderung im Bereich der Gleitsehne unterscheidet sich vom typischen Faserknorpel, wie er an einer knöchernen Anheftung zu finden ist, (Vogel & Koob 1989; Benjamin & Ralphs 1995; Rufai et al. 1996) und hilft der Sehne, der dauerhaften Druckbelastung standzuhalten.

Die molekulare Zusammensetzung dieses Faserknorpels ähnelt dem hyalinen Gelenknorpel und weist somit deutliche Differenzen zum typischen Zugsehnengewebe auf, das heißt, die verschiedenen Kollagentypen und Glycosaminoglykane weichen in ihrem Vorkommen, sowie ihrer Anzahl ab von den angrenzenden Sehnenabschnitten (Berenson et al. 1996). Die ECM (extrazelluläre Matrix) enthält hier das Kollagen II, die sulfatierten Glycosaminoglykane (GAGs), sowie das Proteoglykan Aggrecan (Vogel 1995).

Auch die Zellmorphologie ändert sich in der Druckzone. Während die Tenozyten (in Anlehnung an den in der englischen Literatur gebräuchlichen Begriff „fibroblasts“ wird im weiteren Verlauf dieser Arbeit der Begriff „Fibroblasten“ verwendet) der Zugsehnen längliche, sternförmige Gestalt aufweisen und mit Ihren Nachbarzellen über eine Vielzahl an Zellfortsätzen in Kontakt treten (Mc Neilly et al. 1996), sind Faserknorpelzellen groß, rundlich bis oval und besitzen nur wenige Zellfortsätze.

### **1.3 Klinischer Bezug**

Der Mund-Rachenraum ist der Ausgangspunkt für eine Vielzahl von verschiedenen Beschwerden und somit für viele unterschiedliche Bereiche der Medizin von Interesse.

Die Differentialdiagnose vieler unklarer Schmerzempfindungen im Kopf-, Gesichts-, Nacken-, Pharynx- und Gaumenbereich erweist sich als äußerst komplex und schwierig. Oft belastet die Ungewissheit über den Behandlungsverlauf und die Heilungschancen Patienten und behandelnden Arzt gleichermaßen.

So kommt es vor, dass diffuse Missempfindungen am Gaumen oder im Pharynxbereich, bei fehlendem klinischen Bezug als Neuralgie, Peritonsillitis oder psychosomatische Erkrankung behandelt werden.

Weichgaumenschmerzen können von systemischen und lokalen Faktoren ausgelöst werden.

Zu den systemischen Störungen zählen unter anderem die Anämie, Bluthochdruck, Autoimmunerkrankungen, Neurosen, Psychosen sowie psychosomatische Erkrankungen. Lokale Einflüsse, wie abnorme Formvariationen des Hamulus pterygoideus bzw. des Processus styloideus, Entzündungen, Stomatitis, Xerostomie, oropharyngeale Tumoren und impaktierte Zähne können ebenfalls Schmerzen verursachen.

Verschiedene Wissenschaftler haben sich in der Vergangenheit mit einem Krankheitsbild, dem so genannten „Hamulus Syndrom“, auseinandergesetzt (Gores 1964; Hertz 1968; Wooten 1970; Charbeneau et al. 1981; Brook 1982; Berke et al. 1986; Hjorting-Hansen et al. 1987 a + b; Kronman et al. 1991; Eyrich et al. 1997).

Sie beschreiben schmerzhafte Zustände, Fremdkörpergefühl, Brennen, Dysphagie und Schwellungen, die von einem verlängerten Hamulus pterygoideus ausgehen.

Die abnorme Länge und Dicke des Hamulus verursacht dabei eine mechanische Irritation der umliegenden Gewebe und stört die Muskelkontraktion des M. tensor veli palatini, was wiederum zu einer Fibrose oder Bursitis führen kann (Shankland 1996,1997).

Ein erhöhter Druck auf die Sehne und die Aponeurose kann Zweige der Nervi palatini major und minor, glossopharyngeus und facialis stimulieren, und dadurch Schmerzempfindungen im Gaumen-, Pharynx-, Gesichts-, Kopf- und Nackenbereich auslösen (Sasaki et al. 2001).

Das Phänomen, dass sich ein Knochenfortsatz unphysiologisch verlängert, indem ein dort anheftendes Band verkalkt, ist bereits länger bekannt und wurde 1937 erstmalig von W. W. Eagle berichtet.

Das „Eagle-Syndrom“ (Kelly et al. 1975; Lorman et al. 1983; Fiamminghi et al 1984; Catelani et al. 1989; Zeidler et al. 1990; Yetiser 1997; Thot et al. 2000; Sela et al.2003) beschreibt einen Symptomenkomplex, der durch eine Elongation des Proc. styloideus und eine Kalzifikation des Lig. stylohyoideum hervorgerufen wird.

Neben den Symptomen, die mit dem Hamulus-Syndrom identisch sind, können beim Eagle-Syndrom die Schmerzattacken auch ins Ohr (Slavin 2002) und ins Kiefergelenk ausstrahlen (Morterallo 2002; Forman 1990), da die abnorme Größe zu einer Kompression des Nervus glossopharyngeus führen kann (Slavin 2002).

Die Ätiologie von Eagle-Syndrom und Hamulus-Syndrom ist noch nicht endgültig geklärt; es werden in der Literatur diverse Theorien diskutiert (Baugh et al. 1993; Morterallo et al. 2002).

Für die Diagnosestellung Eagle- bzw. Hamulussyndrom sind die Radiographie und die manuelle Palpation das Mittel der Wahl. Allerdings kann die Verlängerung des Proc. styloideus oft völlig symptomlos bleiben und ist häufig als Nebenbefund bei zahnärztlichen Orthopantomogrammen zu erkennen. Ein verlängerter Hamulus lässt sich am besten mittels Computertomographie diagnostizieren.

Als Behandlung des Eagle-Syndroms wurde noch vor 20 Jahren die Styloidektomie mit extraoralem Zugang empfohlen, (Chase et al. 1986) doch heute ist der intraorale Eingriff in Lokalanästhesie Standardtherapie (Morterallo et al. 2002; Slavin 2002). Zur Entfernung der übermäßigen Hamulusanteile bieten sich minimalinvasive, endoskopische Operationstechniken mit enoralem Zugang an.

In der Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde sind Erkrankungen auf Grund einer Fehlbelüftung der Tuba auditiva unter der Mitwirkung des M. tensor veli palatini von Bedeutung.

Dieser Muskel setzt am Perichondrium der lateralen Lamina der Tuba eustachii an und penetriert dort in die sehnenähnliche Membran. Durch seine Kontraktion wird diese Lamina latero-kaudal bewegt, um den oberen Teil des Lumens stärker zu weiten als den unteren.

Eine gestörte Funktion des Muskels oder seiner Sehne kann zu einer unzureichenden Belüftung der Tube und damit zu einer Otitis media führen.

Im Bereich der Mund-Kiefer-Gesichts-Chirurgie findet dieses anatomische Areal besondere Beachtung bei Weichgaumenoperationen im Rahmen der Therapie von Lippen-

Kiefer-Gaumen-Spalten, sowie bei diversen Schnitttechniken in der chirurgischen Schnarchtherapie (Myatt et al. 1996).

Bei der Luxation von verlagerten, ankylosierten oberen Weißheitszähnen kann es zu einer Fraktur des Tuber maxillae und in der Folge zu einer Traumatisierung im Bereich des Hamulus kommen.

Bei Verdacht auf einen oropharyngealen Tumor ist eine rasche differentialdiagnostische Abklärung der vorgenannten Erkrankungen besonders wichtig, um den Patienten die große psychologische Belastung und Angst vor der endgültigen Diagnose zu nehmen (Ettinger 1975).

Entzündliche Veränderungen wie Stomatitis oder auch eine Bursitis an der Umlenkstelle sind weitere wichtige Erkrankungen in diesem anatomischen Bereich.

Ob dieser Ort eine Prädilektionsstelle für die Manifestation der rheumatoiden Arthritis sein kann, soll im weiteren Verlauf dieser Untersuchungen erarbeitet werden.

#### **1.4 Zielsetzung der Arbeit**

Im Folgenden soll untersucht werden, ob die geringe Druckbelastung, die auf die Sehne des M. tensor veli palatini im Bereich seiner Umlenkung um den Hamulus pterygoideus ausgeübt wird, stark genug ist, auf molekularer Ebene eine Veränderung zu bewirken, wie sie für Gleitsehnen charakteristisch ist.

Im Detail interessiert dabei die regional unterschiedliche Zusammensetzung der extrazellulären Matrix der Sehne und der topographische Bezug der erhobenen Ergebnisse zur Umlenkungsstelle am Hamulus pterygoideus.

Im Einzelnen werden dazu die regionalen Verteilungen der Kollagene, der Glykosaminoglykane und der Proteoglykane im Bereich der Sehnumlenkung des Hamulus pterygoideus bestimmt.

Da eine Gewinnung von frischem, humanen Gewebe aus präparatorischen und organisatorischen Gründen in München nicht möglich war, wurde die Untersuchung an

einer Reihe von frischen Primatenkadavern durchgeführt, welche im Rahmen einer mit diesem Projekt nicht zusammenhängenden Versuchsreihe problemlos verfügbar waren.

## **2. Material und Methode**

### **2.1 Material**

In der vorliegenden Untersuchung werden die Kadaver von elf Primaten zur Gewinnung der Hamulusregion seziiert. Sechs Pavianen und fünf Makaken beiderlei Geschlechts wird beidseitig die Sehne des M. tensor veli palatini an ihrer Umlenkung um den Hamulus pterygoideus entnommen. Die Kadaver werden unmittelbar nach der Tötung und der Entnahme der inneren Organe bei -20 Grad tiefgefroren. Die Präparation erfolgt aus dem aufgetauten Gewebe.

### **2.2. Methode**

#### **2.2.1. Entnahme, Präparation und Zwischenlagerung**

Zunächst wird mit einer Säge der Kopf vom Rumpf getrennt und das Fell samt Kopfhaut mittels Skalpell entfernt. Die Kau – und Mundbodenmuskulatur wird durchtrennt und die Mandibula im Kiefergelenk exartikuliert. Dadurch wird der Zugang zur Schädelbasisunterseite freigelegt. Nach der Lokalisation des Hamulus durch Palpation mit dem Finger, wird die umliegende Schleimhaut von medial bis zur Knochenspitze entfernt. Um die Sehne des M. tensor veli palatini im Verlauf darstellen zu können, wird die derbe Mukosa des Palatum durum ab dem letzten Molaren von anterior nach posterior bis zum Sulcus hamuli abgehoben. Gegenläufig wird die aus dorsocranialer Richtung kommende Sehne freigelegt. Um die Umlenkungsstelle der Sehne nicht zu beschädigen, wird das Periost auf der der Sehne zugewandten Seite von der Hamulusspitze aus stumpf präpariert. Die Sehne wird jeweils ca. 5 mm anterior, bzw. posterior der Umlenkstelle durchtrennt, so dass das ca. 12 – 13 mm lange Stück Gewebe entnommen werden kann.

Die so gewonnenen Präparate werden bis zur Weiterverarbeitung in 90 % Methanol fixiert und bei + 4 ° Celsius im Kühlschrank aufbewahrt.

### **2.2.2. Gefrierschnittanfertigung**

Nach der Fixierung in Methanol werden die Präparate für 10 bis 12 Stunden in 5 % Saccharoselösung (in PBS) inkubiert, um das Methanol aus dem Gewebe zu verdrängen und ein schonendes Auffrieren auf den Probenhalter des Kryomikrotoms zu ermöglichen.

Vor Anfertigung der Gefrierschnitte werden die Objekte auf einem runden Präparatehalter mit Gefriermedium (Fa. Jung, Kat.-Nr.020108926) aufgefroren. Dies geschieht entweder mittels Trockeneis oder direkt auf einem Peltier-Element im Kryomikrotom (Microm HM 500 OMV). Dabei wird die Sehne so orientiert, dass sie parallel zu ihrem Verlauf um den Hamulus geschnitten werden kann.

Nach dem Ausrichten in dieser Ebene erfolgen zunächst 50µm dicke Trimmschnitte bis in den für die Untersuchung relevanten Bereich der Umlenkung. Sobald diese Zone makroskopisch sichtbar wird, reduziert man die Schnittstärke auf 12 µm und fertigt Serienschnitte an. Hierbei ist es günstig, wenn die Temperatur des Objektes 4 bis 6 Grad über der Kammertemperatur (ca. – 20° bis - 25° Celsius) liegt, damit sich der Schnitt vor dem Aufbringen auf dem Objektträger nicht rollt. Bis zur Weiterverarbeitung werden die angefertigten Gefrierschnitte im Tiefkühlschrank bei – 20 ° Celsius gelagert.

### **2.2.3. Immunhistochemische Markierung**

Vor der immunhistochemischen Markierung werden die einzelnen Präparate auf Ihren Objektträgern mit einem Fettstift (Dako-Pen oder PAP-Pen, Sigma) umrandet. Ein Verlaufen der färbenden Reagenzien wird so verhindert. Diese Methode ermöglicht zwei unterschiedliche Markierungen (durch verschiedene Primärantikörper) auf einem Objektträger mit mehreren aufgezogenen Schnitten.

Nachdem die so vorbereiteten Schnitte fünf Minuten in PBS + Tween (0,1%) rehydriert wurden, werden sie für 30 Minuten in Methanol (100 ml + 1 ml 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) inkubiert.

Hierdurch wird die endogene Peroxidaseaktivität im Gewebe irreversibel gehemmt. Damit wird ausgeschlossen, dass die Substrat–Chromogen–Reaktion, welche die Peroxidase

sichtbar macht, keine enzymatische Aktivität anzeigt, die schon vor Beginn der Anfärbung im Präparat vorhanden war.

Anschließend folgen drei fünfminütige Waschschriffe in PBS + Tween (0,1%). Um die verschiedenen Epitope zu demaskieren, werden die Gefrierschnitte nun mit entsprechenden Enzymen vorbehandelt. Bei 37 ° Celsius lässt man die Chondroitinase AC und ABC (je 0,25 U/ml) sowie die Hyaluronidase (1,5 U/ml) für 30 Minuten einwirken (siehe Tabelle). Es folgen wiederum Waschschriffe für jeweils fünf Minuten in drei Fraktionen PBS + Tween. Durch die Gabe von hochkonzentriertem Pferdeserum (1:20), dem so genannten Blockadeserum, welches bei Raumtemperatur für sechzig Minuten aufgetragen wird, werden etwaige unerwünschte unspezifische Proteinbindungen abgesättigt. Die überschüssige Flüssigkeit wird abgeklopft und sofort danach mit dem Auftragen der Primärantikörper (siehe Tabelle 1) begonnen.

Die Schnitte, die mit Antikörpern gegen Aggrecan und Linkprotein markiert werden sollen, müssen vorher 2 Stunden lang mit 10 mM Dithiothreitol in 50 mM Tris HCL, 200mM Natriumchlorid, pH 7.4 bei 37°C reduziert und dann mit 40 mM Iodacetamid in PBS für eine Stunde bei 37°C alkyliert werden.

Nach einer dreißigminütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird wieder drei mal fünf Minuten in PBS + Tween gewaschen. Nun wird der Sekundärantikörper (Pferd–Anti–Maus–biotinyliert, Verdünnung 1 : 200) bei Raumtemperatur auf die Präparate aufgebracht und für 30 Minuten darauf belassen. Während der Wartezeit wird ein Avidin–Biotin–Peroxidase–Komplex aus dem Vectastain Elite ABC–kit (Fa. Vector Labs., Burlingame, Ca. USA) angesetzt, welcher sich während der dreißigminütigen Wartezeit ausbildet. Da dieser Komplex nicht stabil ist, sollte er täglich frisch angesetzt werden und bei 4 ° Celsius im Kühlschrank gelagert werden.

Es folgt wieder der bereits beschriebene PBS + Tween - Waschschriff.

Bei Raumtemperatur trägt man nun für 30 Minuten den vorbereiteten ABC–Komplex auf; anschließend werden die Schnitte wieder in der bekannten Art und Weise gewaschen.



Nachgewiesenes Antigen	Antikörper (Maus)	Verdünnung	Enzym-vorbehandlung	Quelle	Referenz
Kollagen I	Col1	1 : 2000	Hyal (1,5 IU/ml & ChABC (0,25 IU/ml))	Sigma	Mayne 1988
Kollagen II	CIICI	1 : 6	Hyal (1,5 IU/ml & ChABC (0,25 IU/ml))	DSHB	Holmdahl et al.1986
Kollagen III	4H12	1 : 500	Hyal (1,5 IU/ml & ChABC (0,25 IU/ml))	ICN	Keine
Kollagen V	3C9	1 : 500	Hyal (1,5 IU/ml & ChABC (0,25 IU/ml))	ICN	Keine
Kollagen VI	5C6	1 : 6	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-6-sulfat	3B3	1 :150	ChAC (0,25 IU/ml)	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Chondroitin-6-sulfat (oversulphated)	7D4	1 : 350	Keine	B. Caterson	Caterson et al. 1990
Dermatansulfat	2B6	1 : 1500	ChABC (0,25 IU/ml)	B. Caterson	Caterson et al. 1985
Keratansulfat	5D4	1 : 1500	Keine	B. Caterson	Caterson et al. 1983
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
Aggrecan	1C6	1 : 10	ChAC (0,25 IU/ml) nach Reduktion & Alkylierung	B. Caterson	Calabro et al. 1992
Link Protein	8A4	1 : 10	ChAC (0,25 IU/ml) nach Reduktion & Alkylierung	B. Caterson	Calabro et al. 1992

Tab. 1. Verwendete monoklonale Primärantikörper. Alle Enzym - Vorbehandlungen erfolgen in 0,1M Tris - Puffer (pH 8) bei 37°C über 30 Minuten. Abkürzungen: ChAC = Chondroitinase AC, ChABC = Chondroitinase ABC, Hyal = Hyaluronidase, DSHB = Developmental Studies Hybridoma Bank der Universität von Iowa (USA)

Abschließend werden die Präparate im Dunkeln für vier Minuten mit DAB (3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid) – Lösung inkubiert.

Der Überstand wird in Leitungswasser ausgewaschen, die Kerne werden mit Mayer's Hämatoxylin für 20 Sekunden gefärbt. Die Objektträger werden in Leitungswasser solange differenziert, bis keine Farbschlieren mehr erkennbar sind.

Die Dehydration der Schnitte erfolgt in einer aufsteigenden Alkoholreihe. In Küvetten mit Ethanol (50%, 70%, 80%, 90% und zweimal 100%) werden sie jeweils für fünf Minuten entwässert.

Bevor die Objekte mit Eukitt (histologisches Eindeckmittel, Merck) eingedeckt werden, durchlaufen sie nacheinander noch zwei Fraktionen 100%-igen Xylols. Hierbei ist darauf zu achten, dass die Objektträger beim Eindecken noch mit Xylol benetzt sind.

Dann werden die Präparate für mindestens einen Tag getrocknet, bevor man mit der mikroskopischen Auswertung beginnen kann.

#### **2.2.4. Mikroskopische Auswertung**

Die Auswertung der Präparate erfolgt mit einem Axiophot Durchlichtmikroskop der Firma Zeiss. Die Sehne des M. tensor veli palatini wird dazu in 2 Abschnitte (Kontaktzone und übrige Sehnenanteile) eingeteilt. Zudem wird die Oberfläche des Hamulus pterygoideus sowie der darunter liegende Knochen getrennt untersucht und bewertet.

### 3. Ergebnisse

In der Auswertung werden die gefärbten Präparate nacheinander auf das Vorhandensein der entsprechenden Kollagene, Glycosaminoglykane und Proteoglykane (inkl. Link Protein) hin untersucht. Die Bewertung erfolgt dabei jeweils getrennt für jeden der zuvor definierten vier topographischen Bereiche. Diese umfassen im Einzelnen die Kontaktzone der Sehne einerseits sowie sonstige freie Sehnenanteile ohne Knochenkontakt vor oder nach der Umlenkzone und falls vorhanden, den periostalen Überzug neben dem Gleitspalt. Die mineralisierten Teile des Hamulus werden ebenfalls getrennt bewertet. Als Kriterium zur Bewertung dient das Vorliegen oder Fehlen eines Farbniederschlags, der, wenn vorhanden, als Antigennachweis in der bestimmten Region gezählt wird.

Die Paviane und Makaken werden mit „P“ bzw. „M“ abgekürzt, durchnummeriert und ihre linken und rechten Sehnen unabhängig voneinander untersucht.

Eine Region gilt als positiv, „+“ markiert, wenn an einer Stelle ein eindeutiger Farbniederschlag zu erkennen ist. Ein Farbniederschlag ist nur dann eindeutig, wenn eine klare Differenz zur Kontrolle (Abb. 1, 2) zu erkennen ist. Eine schwache, nur vereinzelte Teilbereiche der Region erfassende Färbung wird in Klammern gesetzt und ein ungefärbtes Teilstück mit „0“ bewertet. Die Abkürzung „n.v.“ bedeutet, dass der betreffende Abschnitt auf diesen Präparaten nicht vorliegt.

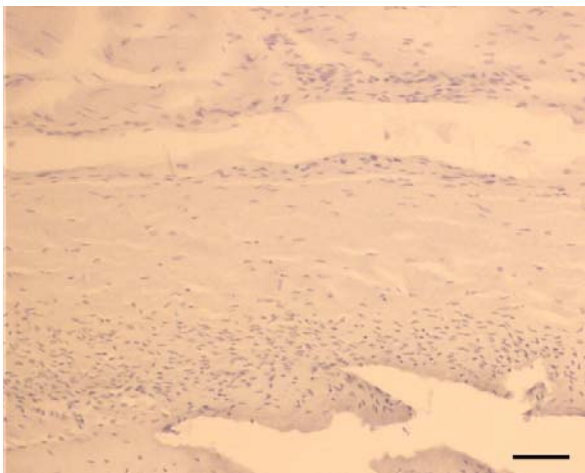


Abb. 1 Kontrolle ohne Markierung einer Paviansehne im Bereich der Umlenkung Referenzstrecke 30µm



Abb. 2 Kontrolle ohne Markierung einer Makaksehne im Bereich der Druckzone Referenzstrecke 30µm

### 3.1 Kollagene

#### 3.1.1 Kollagen I

Das Kollagen I ist in allen vier Bereichen durchgehend vorhanden. Der zur Markierung verwendete Antikörper Col 1 ist gleichmäßig auf alle Abschnitte verteilt anzutreffen.

Ein Intensitätsunterschied des Farbniederschlags lässt sich nicht feststellen (Tab. 2, Abb. 3,4).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	n.v.	n.v.	+
P 1 re	+	n.v.	n.v.	+
P 2 li	+	n.v.	n.v.	+
P 2 re	+	n.v.	n.v.	+
P 3 li	+	n.v.	n.v.	+
P 3 re	+	n.v.	n.v.	+
P 4 li	+	n.v.	n.v.	+
P 4 re	+	+	n.v.	+
P 5 li	+	+	+	+
P 5 re	+	+	n.v.	+
P 6 li	+	+	+	+
P 6 re	+	+	+	+
M 1 li	(+)	n.v.	n.v.	(+)
M 1 re	+	+	+	+
M 2 li	+	+	+	+
M 2 re	+	n.v.	n.v.	+
M 3 li	+	+	n.v.	+
M 3 re	+	+	+	+
M 4 li	+	n.v.	n.v.	+
M 4 re	+	+	+	+
M 5 li	+	+	+	+
M 5 re	+	+	+	+

Tab. 2: **Col 1** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

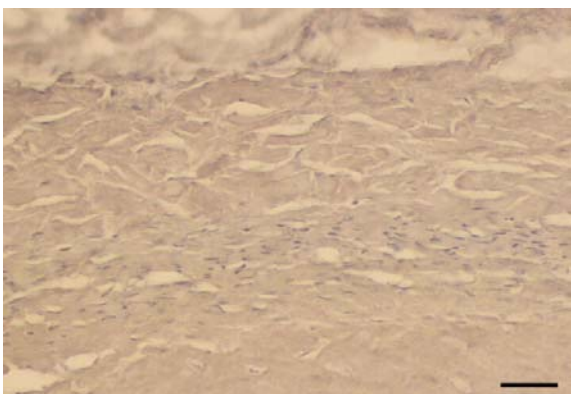


Abb. 3 Markierung für Col1 im Bereich des Periosts einer Paviansehne  
Referenzstrecke 50µm



Abb. 4 Markierung für Col1 im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne  
Referenzstrecke 30µm

### 3.1.2 Kollagen II

Im Bereich der freilaufenden Zugsehne ist keine Markierung für den Antikörper CIICI erkennbar. In der Kontaktzone sind im Bereich der Sehne 9 von 22 schwach positiv markiert, am Hamulus zeigen 8 von 19 Präparaten einen Farbausschlag, wovon 3 etwas schwächer erscheinen. Im Gleitspalt ist der Antikörper bei 5 von 19 Präparaten zu beobachten (Tab. 3, Abb. 5-8).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	(+)	n.v.	n.v.	0
P 1 re	0	n.v.-	n.v.	0
P 2 li	(+)	0	0	0
P 2 re	(+)	0	0	0
P 3 li	0	0	0	0
P 3 re	(+)	0	0	0
P 4 li	0	0	0	0
P 4 re	0	(+)	(+)	0
P 5 li	0	0	0	0
P 5 re	0	+	0	0
P 6 li	0	+	+	0
P 6 re	0	0	0	0
M 1 li	(+)	(+)	0	0
M 1 re	0	0	0	0
M 2 li	(+)	0	0	0
M 2 re	(+)	0	0	0
M 3 li	(+)	+	+	0
M 3 re	(+)	n.v.	n.v.	0
M 4 li	0	+	+	0
M 4 re	0	+	+	0
M 5 li	0	(+)	0	0
M 5 re	0	0	0	0

Tab.3: CIICI (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

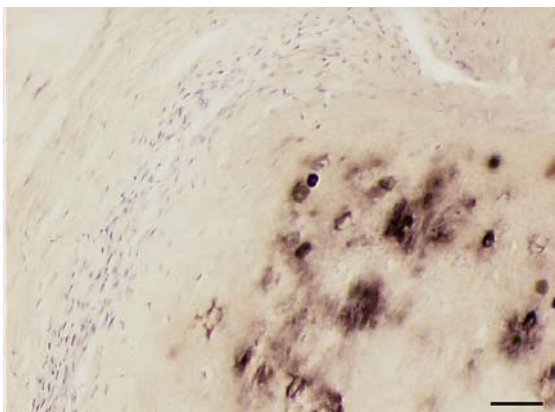


Abb. 5 Markierung für CIICI im Bereich der Enthesis einer Paviansehne Referenzstrecke 30µm

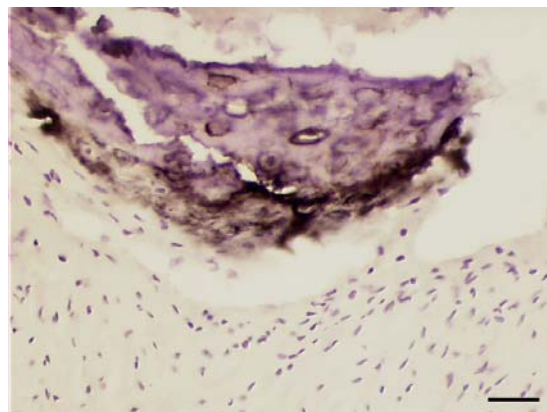


Abb. 6 Markierung für CIICI im Bereich der Enthesis einer Makakensehne Referenzstrecke 30µm

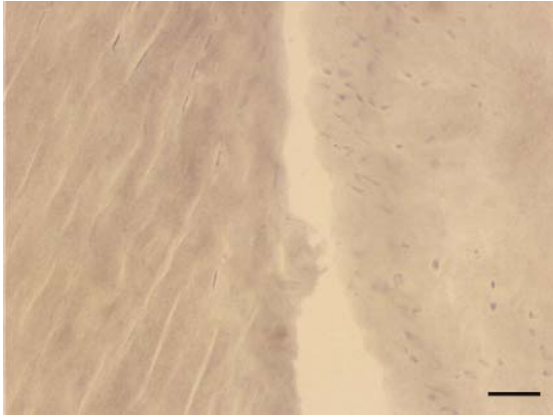


Abb. 7 Markierung für CIICI im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne Referenzstrecke 30 $\mu$ m

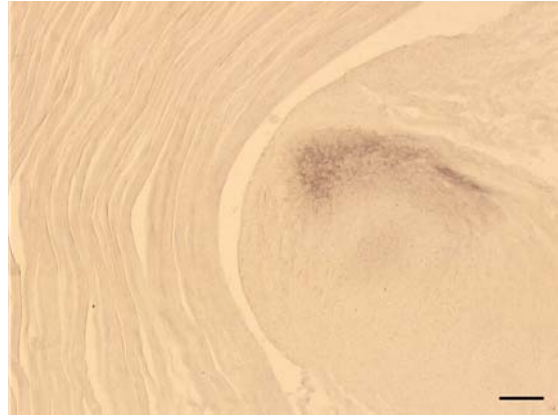


Abb. 8 Markierung für CIICI im Bereich des Hamulus einer Makakensehne Referenzstrecke 100 $\mu$ m

### 3.1.3 Kollagen III

Kollagen III ist über den kompletten Sehnenverlauf vorhanden und auch im Hamulus und im Gleitspalt eindeutig nachweisbar. Die Markierungen mit 4H12 zeigen bezüglich ihrer Intensität keine relevanten Unterschiede in den einzelnen Sektoren (Tab. 4, Abb. 9,10).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	+	+	+
P 1 re	+	+	+	+
P 2 li	+	+	+	(+)
P 2 re	+	+	+	+
P 3 li	+	n.v.	n.v.	+
P 3 re	+	+	+	+
P 4 li	+	+	+	+
P 4 re	+	+	+	+
P 5 li	+	n.v.	n.v.	+
P 5 re	+	+	+	+
P 6 li	+	+	+	+
P 6 re	+	n.v.	n.v.	+
M 1 li	(+)	(+)	(+)	(+)
M 1 re	+	+	+	+
M 2 li	+	+	+	+
M 2 re	+	n.v	n.v	+
M 3 li	+	+	+	+
M 3 re	+	n.v	n.v	+
M 4 li	+	+	n.v.	+
M 4 re	+	+	n.v.	+
M 5 li	+	(+)	n.v.	+
M 5 re	+	+	+	+

Tab.4: **4H12** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

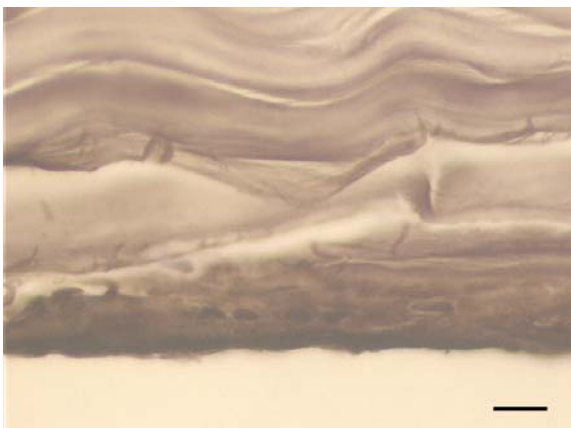


Abb.9 Markierung für 4H12 im Bereich der Druckzone einer Paviansehne Referenzstrecke 30µm

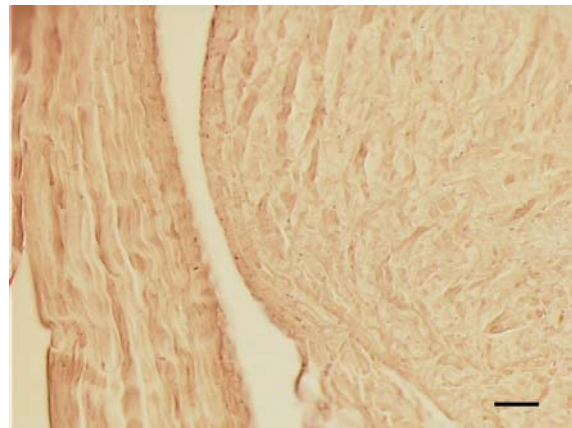


Abb.10 Markierung für 4H12 im Bereich des Gleitspalts einer Makaksehne Referenzstrecke 50µm

### 3.1.4 Kollagen V

Kollagen V ist nur in 2 Sehnen eindeutig positiv markiert. 5 weitere Präparate weisen in der Kontaktzone der Sehne eine schwache zelluläre Anfärbung auf. Im Gleitspalt und am Hamulus lassen sich bis auf wenige (am Hamulus 3 und am Gleitspalt 1) Ausnahmen keine Markierungen erkennen (Tab. 5, Abb. 11).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li				
P 1 re				
P 2 li				
P 2 re				
P 3 li	+	0	0	+
P 3 re	+	0	n.v.	+
P 4 li	0	0	0	0
P 4 re	0	0	0	0
P 5 li	0	0	0	0
P 5 re	0	0	0	0
P 6 li	0	+	n.v.	0
P 6 re	0	0	0	0
M 1 li	(+) zellulär	(+)	n.v.	0
M 1 re	(+) zellulär	n.v.	n.v.	0
M 2 li	(+) zellulär	0	0	0
M 2 re	(+) zellulär	(+)	(+)	(+)
M 3 li				
M 3 re	0	0	0	0
M 4 li	0	0	0	0
M 4 re	0	0	0	0
M 5 li	(+) zellulär	0	0	0
M 5 re	+	+	n.v.	0

Tab.5: **3C9** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

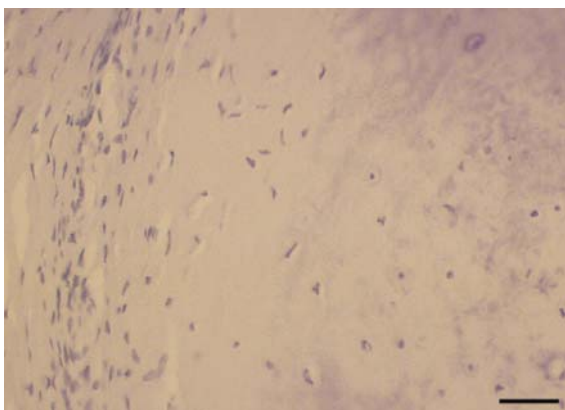


Abb.11 Markierung für 3C9 im Bereich des Hamulus einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm



### 3.1.5 Kollagen VI

Kollagen VI kommt in der ganzen Sehne gleichmäßig ausgeprägt vor. Auch im Gleitspalt ist die Markierung die der Antikörper 5C6 hinterlässt, in 10 von 12 Fällen vorhanden. Die Kontaktzone des Hamulus bleibt in 6 von 19 Fällen ungefärbt (Tab. 6, Abb. 12,13).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	+	+	+
P 1 re	+	+	+	+
P 2 li	+	+	+	+
P 2 re	+	+	+	+
P 3 li	+	+	+	+
P 3 re	+	n.v.	+	+
P 4 li	+	+	n.v.	+
P 4 re	+	(+)	n.v.	+
P 5 li	+	n.v.	n.v.	+
P 5 re	+	0	0	+
P 6 li	+	+	+	+
P 6 re	+	n.v.	n.v.	+
M 1 li	+	0	0	+
M 1 re	+	0	n.v.	+
M 2 li	+	0	n.v.	+
M 2 re	+	0	n.v.	+
M 3 li	+	(+)	n.v.	+
M 3 re	(+)	0	n.v.	(+)
M 4 li	+	+	n.v.	+
M 4 re	+	+	+	+
M 5 li	+	+	+	+
M 5 re	+	+	+	+

Tab.6: 5C6 (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

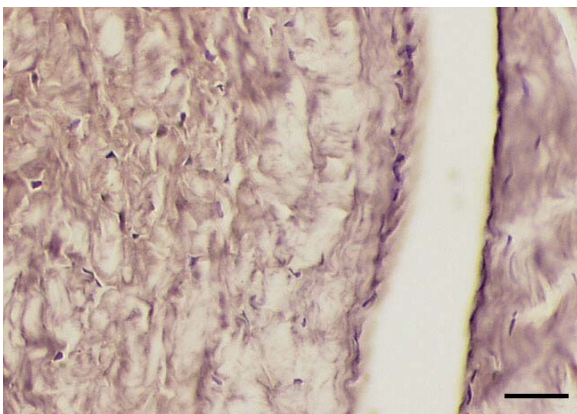


Abb.12 Markierung für 5C6 im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne  
Referenzstrecke 30µm

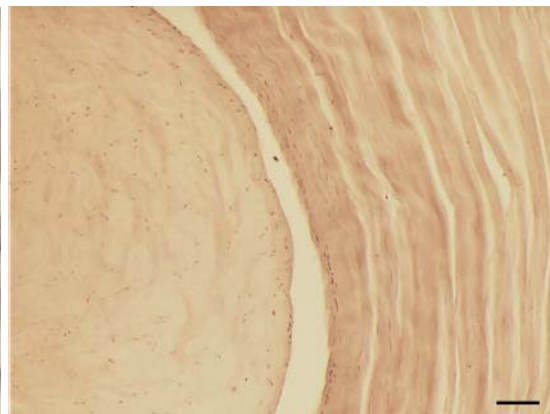


Abb.13 Markierung für 5C6 im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne  
Referenzstrecke 50µm

## 3.2 Glycosaminoglykane

### 3.1.1 Keratansulfat

Für den Antikörper 5D4 kann in der gesamten Sehne eine deutliche und gleichmäßige Farbmarkierung festgestellt werden. Auch am Hamulus und im Gleitspalt ist das Keratansulfat in der Regel darstellbar. In nur 3 (bzw.4) von 10 Pavianpräparaten konnten keine Antikörperspuren angetroffen werden. Die Makaken wiesen keine negativen Bereiche auf (Tab. 7, Abb. 14-16).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	n.v.	n.v	+
P 1 re	+	0	0	+
P 2 li	+	+	0	+
P 2 re	+	0	0	+
P 3 li	+	+	+	+
P 3 re	+	+	+	+
P 4 li	+	0	0	+
P 4 re	+	+	+	+
P 5 li	+	+	+	+
P 5 re	+	n.v	n.v	+
P 6 li	+	+	+	+
P 6 re	+	+	+	+
M 1 li	+	+	n.v	+
M 1 re	+	+	+	+
M 2 li	+	n.v	n.v	+
M 2 re	+	n.v	n.v	+
M 3 li	+	+	+	+
M 3 re	+	n.v	n.v	+
M 4 li	+	+	+	+
M 4 re	+	+	n.v	+
M 5 li	+	+	n.v	+
M 5 re	+	+	n.v	+

Tab.7: **5D4** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)



Abb.14 Markierung für 5D4 im Bereich der Zugsehne eines Pavians  
Referenzstrecke 30µm



Abb.15 Markierung für 5D4 im Bereich des Faserknorpels einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm

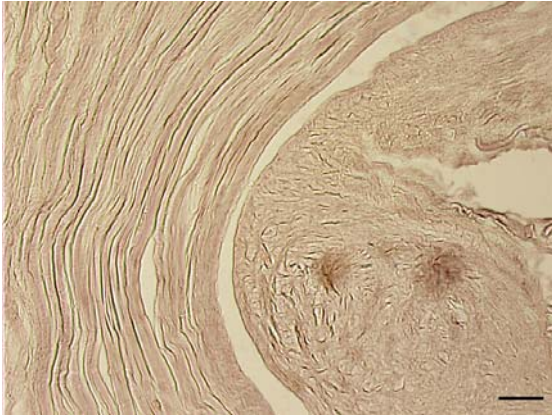


Abb.16 Markierung für 5D4 im Bereich des Gleit-  
spalts einer Makakensehne  
Referenzstrecke 100 $\mu$ m

### 3.2.2 Dermatansulfat

In allen 4 Sektoren findet man eine einheitliche und kräftig positive Reaktion für das Dermatansulfat (Tab. 8, Abb. 17,18). Nur in zwei Präparaten fehlt am Hamulus der Nachweis für den Antikörper 2B6 (in Verbindung mit Enzym Ch-ABC).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	n.v.	n.v.	+
P 1 re	+	n.v.	n.v.	+
P 2 li	+	+	+	+
P 2 re	+	+	+	+
P 3 li	+	+	+	+
P 3 re	+	+	+	+
P 4 li	+	0	n.v.	+
P 4 re	(+)	+	n.v.	(+)
P 5 li	+	0	n.v.	+
P 5 re	+	+	+	+
P 6 li	+	+	+	+
P 6 re	+	+	+	+
M 1 li	(+)	n.v.	n.v.	(+)
M 1 re	+	+	+	+
M 2 li	+	+	n.v.	+
M 2 re	+	+	+	+
M 3 li	+	+	+	+
M 3 re	+	n.v.	n.v.	+
M 4 li	+	+	+	+
M 4 re	+	+	n.v.	+
M 5 li	+	+	+	+
M 5 re	+	+	+	+

Tab.8: **2B6 + ABC** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

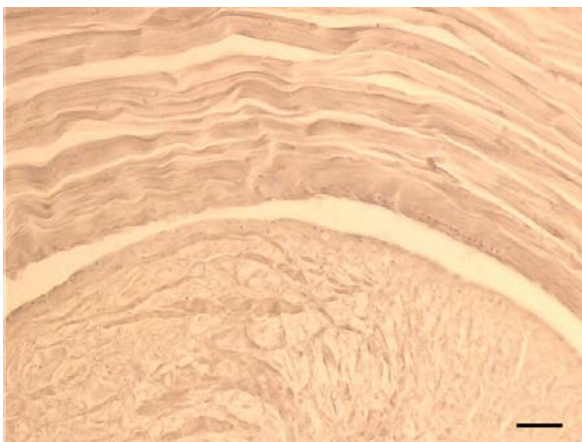


Abb.17 Markierung für 2B6+ABC im Bereich des Gleitspalts einer Paviasehne  
Referenzstrecke 50µm

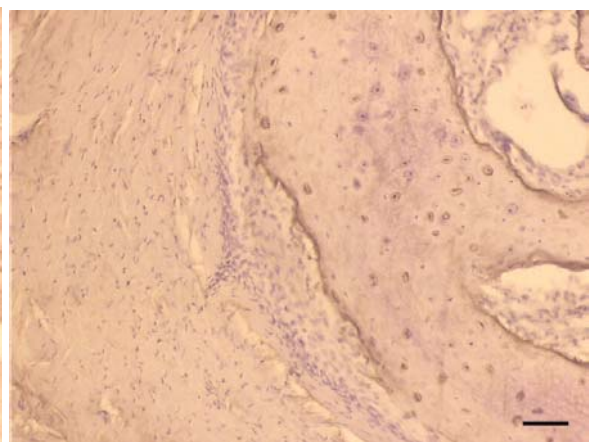


Abb.18 Markierung für 2B6+ABC im Bereich des Hamulus eines Pavians  
Referenzstrecke 50µm

### 3.2.3 Chondroitin – 4 – Sulfat

Chondroitin-4-Sulfat ist in fast jeder Sehne im Kontaktbereich nachzuweisen (nur einmal fehlt die Reaktion). Auch beim Hamulus ist die Reaktion meist positiv zu werten (13 von 18). Dort wo der Gleitspalt sichtbar ist, ist die Markierung, welche der Antikörper (2B6 zusammen mit AC II als Enzym) hinterlässt, ausnahmslos positiv (Tab. 9, Abb. 19,20). Im Bereich der freien Zugsehne sind keine Markierungen erkennbar.

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li				
P 1 re	(+)	n.v.	n.v.	0
P 2 li	+	+	n.v.	0
P 2 re	+	+	n.v.	0
P 3 li	0	0	n.v.	0
P 3 re	+	0	n.v.	0
P 4 li	+	0	n.v.	0
P 4 re	+	+	+	0
P 5 li	+	0	n.v.	0
P 5 re	+	+	n.v.	0
P 6 li	+	+	n.v.	0
P 6 re	+	+	n.v.	0
M 1 li	+	+	+	0
M 1 re	+	+	+	0
M 2 li	+	n.v.	n.v.	0
M 2 re	+	(+)	n.v.	0
M 3 li	(+)	(+)	(+)	0
M 3 re	+	n.v.	n.v.	0
M 4 li	+	+	+	0
M 4 re	+	0	n.v.	0
M 5 li	(+)	(+)	n.v.	0
M 5 re	+	+	n.v.	0

Tab.9: **2B6 + AC II** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)



Abb.19 Markierung für 2B6+ACII im Bereich des Hamulus eines Pavians  
Referenzstrecke 50µm

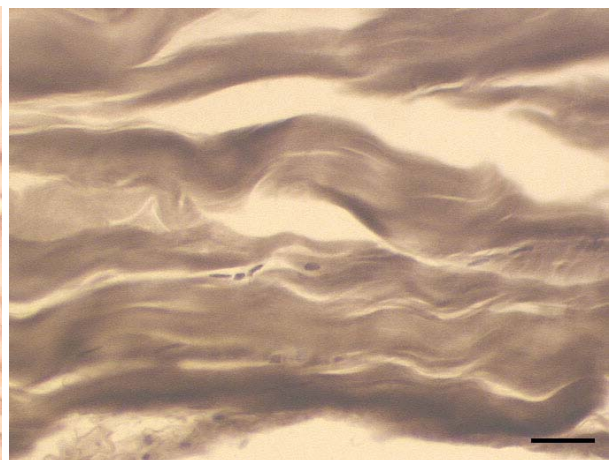


Abb.20 Markierung für 2B6+ACII im Bereich der Umlenkung einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm

### 3.2.4 Chondroitin – 6 – Sulfat

Der Antikörper 3B3 (in Verbindung mit dem Enzym Chondroitinase ABC) markiert die Sehne an der Umlenkungsstelle in 18 von 20 Präparaten positiv. Dieser Farbniederschlag zeigt eine variierende Intensität und liegt bevorzugt perizellulär. Für die freilaufende Sehne ergeben sich ausschließlich negative Befunde. Während bei den Makakenpräparaten im Bereich des Hamulus und des Gleitspalts immer positive Markierungen zu finden sind, sind bei den Pavianen diese Sektoren nur vereinzelt positiv markiert (Tab. 10, Abb. 21-25).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	(+)	0	0	0
P 1 re	+	0	0	0
P 2 li	0	0	0	0
P 2 re	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 3 li	+	0	0	0
P 3 re	+	0	0	0
P 4 li	+	0	0	0
P 4 re	+	+	+	0
P 5 li	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 5 re	+	+	n.v.	0
P 6 li	+	+	n.v.	0
P 6 re	+	n.v.	n.v.	0
M 1 li	+	+	n.v.	0
M 1 re	+	+	+	0
M 2 li	+	+	n.v.	0
M 2 re	+	+	+	0
M 3 li	+	+	+	0
M 3 re	+	+	+	0
M 4 li	+	+	n.v.	0
M 4 re	+	n.v.	n.v.	0
M 5 li	+	+	+	0
M 5 re	0	+	+	0

Tab.10: **3B3 + ABC** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

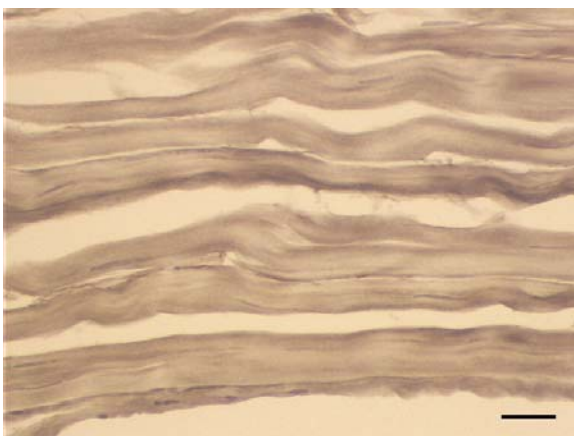


Abb.21 Markierung für 3B3+ABC im Bereich des Faserknorpels einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm

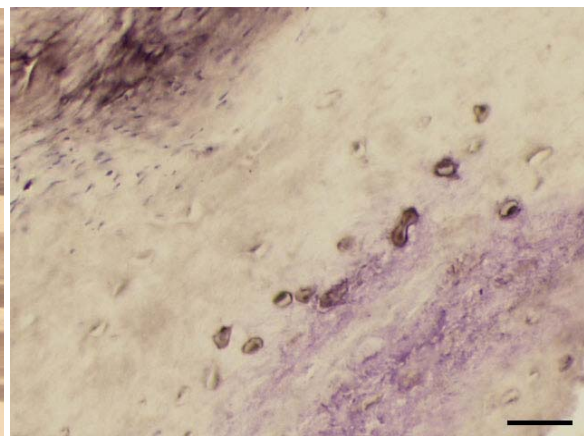


Abb.22 Markierung für 3B3+ABC im Bereich der Enthesiszellen einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm

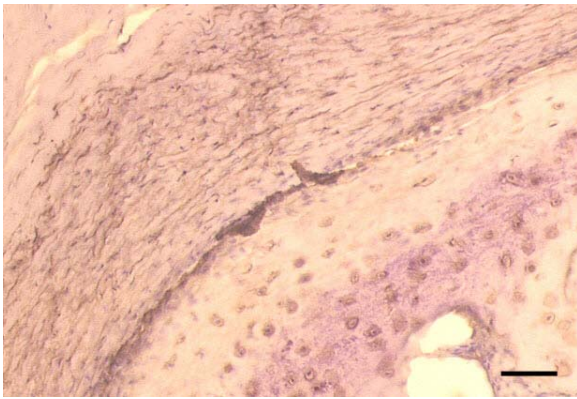


Abb.23 Markierung für 3B3+ABC im Bereich des Periosts am Gleitspalt einer Paviansehne  
Referenzstrecke 50µm

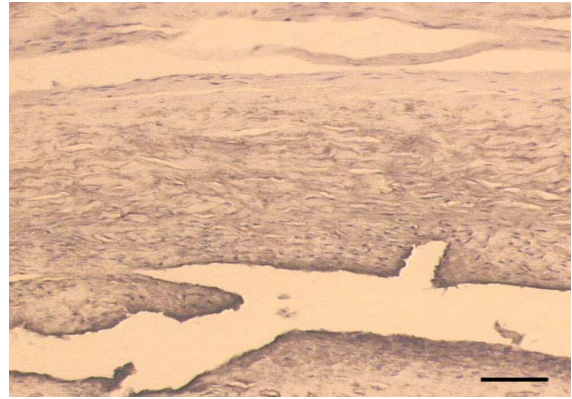


Abb.24 Markierung für 3B3+ABC im Bereich des Periosts am Gleitspalt einer Paviansehne  
Referenzstrecke 50µm

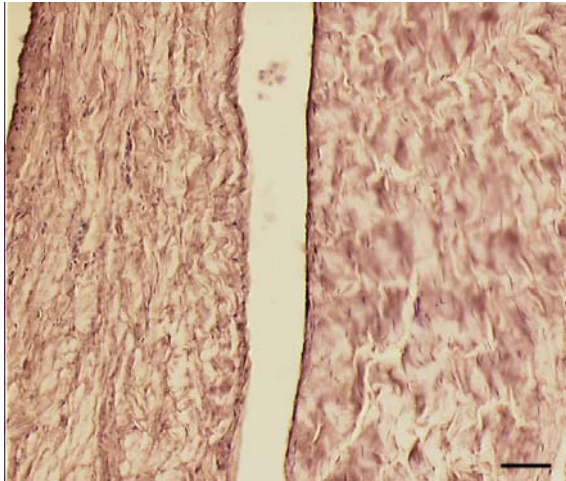


Abb. 25 Markierung für 3B3+ABC im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne  
Referenzstrecke 50µm

### **3.2.5 Chondroitin – 6 – Sulfat (oversulphated)**

Das Markierungsmuster für den Antikörper 7D4, der eine spezielle Form von Chondroitin-6-Sulfat (oversulphated) erkennt, ist nicht eindeutig auf die einzelnen Sektoren verteilt.

Die freilaufenden Sehnenabschnitte sind größtenteils negativ (14 von 20). Im Gleitspalt und am Hamulus halten sich die positiven und negativen Befunde in den verschiedenen Präparaten in etwa die Waage.

Im Umlenkungsbereich der Sehne kann bei 13 von 20 Präparaten dieser Antikörper nachgewiesen werden (Abb. X), wobei die Intensität der Markierung variiert (Tab. 11, Abb. 26-31).

<b>Individuen</b>	<b>Sehne Kontaktz.</b>	<b>Hamulus Kontaktz.</b>	<b>Gleitspalt/Periost</b>	<b>Freie Sehne</b>
P 1 li	0	n.v.	n.v.	0
P 1 re	0	n.v.	n.v.	0
P 2 li	+	+	0	0
P 2 re	(+)	0	0	0
P 3 li	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 3 re	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 4 li	+	0	0	+
P 4 re	+	0	0	+
P 5 li	+	+	+	(+)
P 5 re	+	+	+	0
P 6 li	+	+	+	(+)
P 6 re	0	0	0	0
M 1 li	+	+	+	0
M 1 re	0	+	+	0
M 2 li	+	+	+	0
M 2 re	+	0	0	0
M 3 li	+	+	+	0
M 3 re	0	n.v.	n.v.	0
M 4 li	+	+	+	0
M 4 re	(+)	(+)	n.v.	0
M 5 li	0	(+)	0	0
M 5 re	0	0	0	0

Tab.11 : **7D4** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)



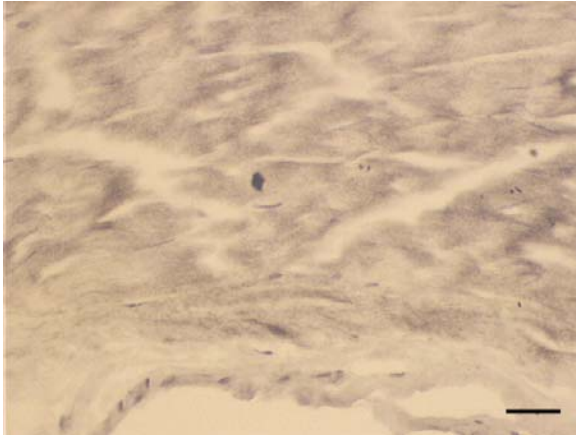


Abb.26 Markierung für 7D4 im Bereich des Faserknorpels einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm

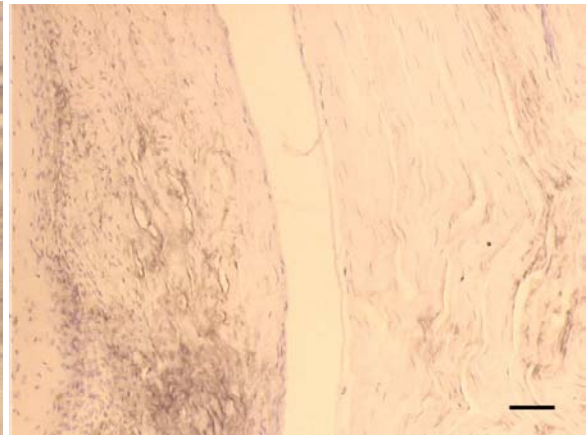


Abb.27 Markierung für 7D4 im Bereich des Gleitspalts einer Paviansehne  
Referenzstrecke 50µm

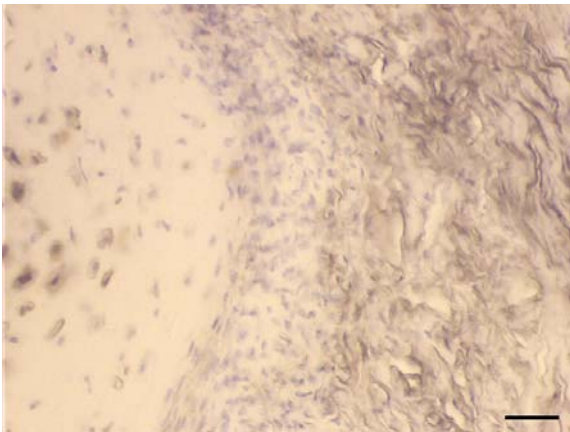


Abb.28 Markierung für 7D4 im Bereich des Hamulus eines Pavians Referenzstrecke 30µm



Abb.29 streifige Markierung für 7D4 im Bereich der Zugsehne eines Pavians Referenzstrecke 30µm

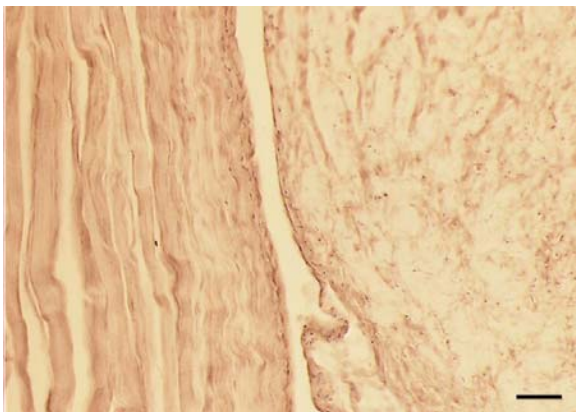


Abb.30 Markierung für 7D4 im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne Referenzstrecke 50µm

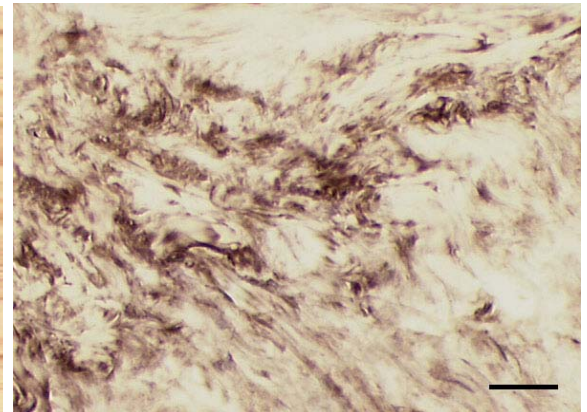


Abb.31 Markierung für 7D4 im Bereich der Entesis einer Makakensehne Referenzstrecke 30µm

### 3.3 Proteoglykane

#### 3.3.1 Tenascin

In den meisten Präparaten sind die Sehnenabschnitte positiv gefärbt. In 4 von 21 Fällen bleibt die komplette Sehne ungefärbt und bei einem Individuum zeigt nur die Umlenkungsstelle einen Farbniederschlag. In den anderen beiden Sektoren stehen mit 9 von 14 (Hamulus) bzw. 8 von 12 (Gleitspalt) die unmarkierten Präparate im Vordergrund (Tab. 12, Abb. 32,33).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	n.v.	n.v.	+
P 1 re	(+)	0	+	0
P 2 li	+	n.v.	n.v.	+
P 2 re	+	n.v.	n.v.	+
P 3 li	+	n.v.	n.v.	+
P 3 re	+	0	0	+
P 4 li	0	0	0	0
P 4 re	(+)	n.v.	n.v.	(+)
P 5 li	+	0	0	+
P 5 re	+	+	+	+
P 6 li	0	0	0	0
P 6 re	+	0	0	+
M 1 li	0	0	0	0
M 1 re	+	+	n.v.	+
M 2 li	+	n.v.	n.v.	+
M 2 re	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
M 3 li	+	+	n.v.	0
M 3 re	+	0	0	+
M 4 li	+	n.v.	n.v.	+
M 4 re	+	+	+	+
M 5 li	+	+	+	+
M 5 re	0	0	0	0

Tab.12: **T2H5** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

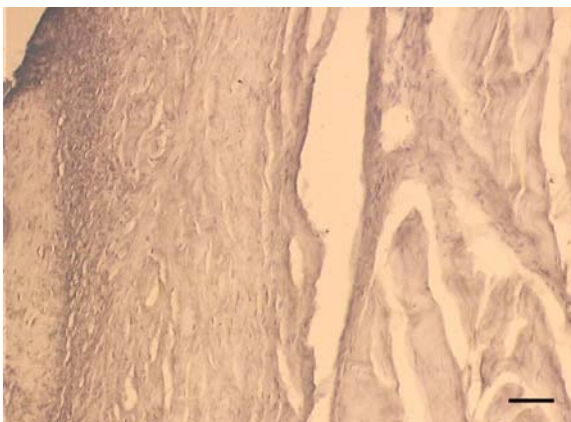


Abb.32 Markierung für T2H5 im Bereich des Gleitspalts einer Paviansehne Referenzstrecke 50µm

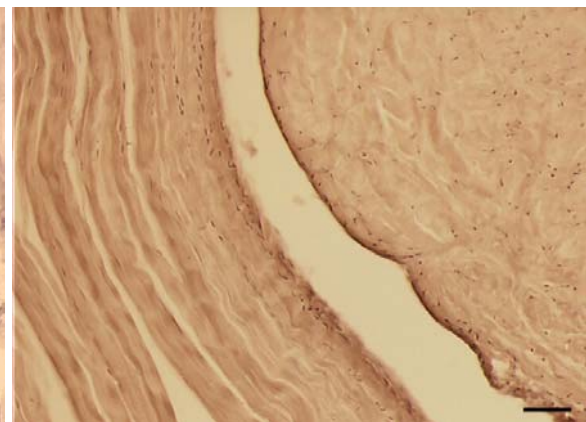


Abb.33 Markierung für T2H5 im Bereich des Gleitspalts einer Makakensehne Referenzstrecke 50µm

### 3.3.2 Versican

Versican ist in der Sehne durchgehend nachzuweisen. Auch am Hamulus und im Gleitpalt dominiert die positive Markierung für 12C5. Während am Hamulus 3 von 14 Präparaten ungefärbt bleiben, sind im Gleitpalt 4 von 12 unmarkiert (Tab. 13, Abb.34, 35).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitpalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	+	n.v.	n.v.	+
P 1 re	+	n.v.	n.v.	+
P 2 li	+	n.v.	n.v.	+
P 2 re	+	n.v.	n.v.	+
P 3 li	+	+	+	+
P 3 re	+	+	+	+
P 4 li	+	0	0	+
P 4 re	+	0	0	+
P 5 li	+	0	0	+
P 5 re	+	(+)	0	+
P 6 li	+	+	n.v.	(+)
P 6 re	+	n.v.	n.v.	(+)
M 1 li	+	n.v.	n.v.	+
M 1 re	+	+	+	+
M 2 li	+	+	+	+
M 2 re	+	n.v.	n.v.	+
M 3 li	+	+	+	+
M 3 re	+	+	n.v.	+
M 4 li	+	+	+	+
M 4 re	+	+	+	+
M 5 li	+	+	+	+
M 5 re	+ zellulär	n.v.	n.v.	(+)

Tab.13: **12C5** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

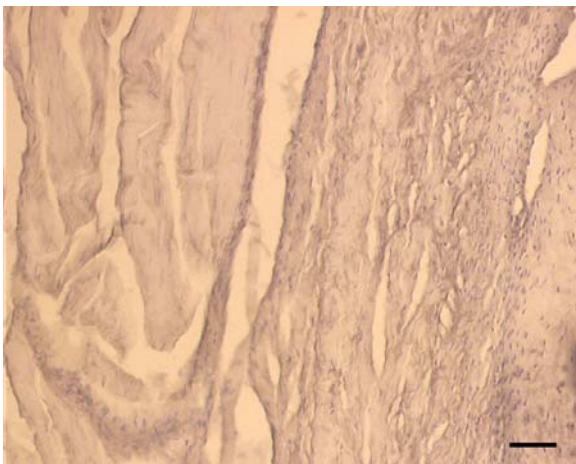


Abb.34 Markierung für 12C5 im Bereich des Gleitpalt einer Paviansehne Referenzstrecke 50µm

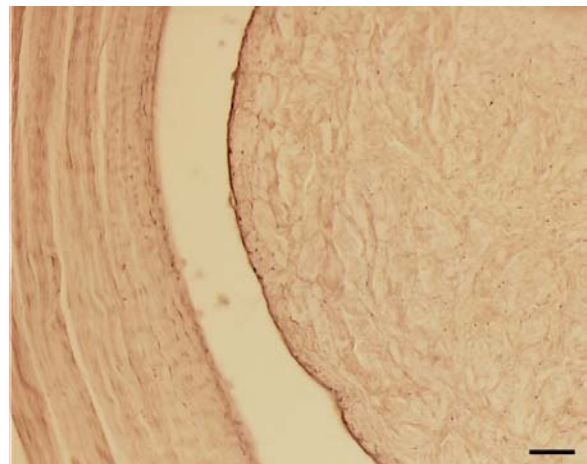


Abb.35 Markierung für 12C5 im Bereich des Gleitpalt einer Makakensehne Referenzstrecke 50µm

### 3.3.3 Aggrecan

In der freilaufenden Zugsehne ist durchgehend keine Markierung des Antikörpers 1C6 nachweisbar. Die Sehne im Druckbereich zeigt bei den Pavianen in 7 von 9 Fällen einen positiven Farbniederschlag und bei den Makaken ist dies bei der Hälfte der Präparate der Fall. Auch im Bereich des Periost und des unmittelbar darunter liegenden Knochens, sofern auf dem Objekt vorhanden, lassen sich manchmal positive Spuren des Markers erkennen. Insgesamt sind die Farbniederschläge für 1C6 nicht sehr ausgeprägt (Tab. 14, Abb. 36-39).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitpalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 1 re	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 2 li	(+)	n.v.	n.v.	0
P 2 re	(+)	n.v.	n.v.	0
P 3 li	+	n.v.	n.v.	0
P 3 re	0	0	0	0
P 4 li	+	n.v.	n.v.	0
P 4 re	+	(+)	+	0
P 5 li	+	n.v.	n.v.	0
P 5 re	(+)	n.v.	(+)	0
P 6 li	0	+	0	0
P 6 re	n.v.	n.v.	n.v.	0
M 1 li	(+)	n.v.	n.v.	n.v.
M 1 re	n.v.	n.v.	n.v.	0
M 2 li	n.v.	n.v.	n.v.	0
M 2 re	+	n.v.	n.v.	0
M 3 li	+	+	n.v.	0
M 3 re	(+)	n.v.	n.v.	n.v.
M 4 li	0	0	0	0
M 4 re	0	n.v.	0	0
M 5 li	0	0	0	0
M 5 re	0	0	0	0

Tab.14: 1C6 (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

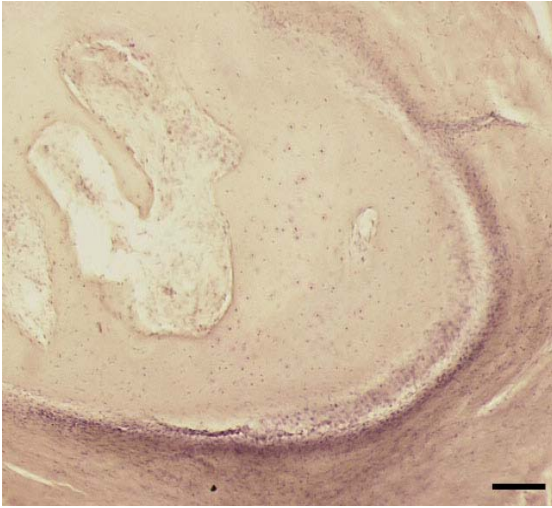


Abb.36 Markierung für IC6 im Bereich der Enthesis einer Paviansehne Ref.-strecke 100µm

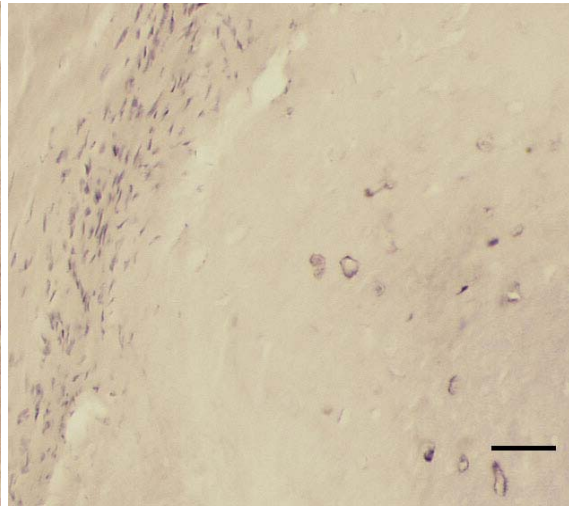


Abb.37 Markierung für IC6 im Bereich der Enthesis einer Paviansehne Ref.-strecke 30µm

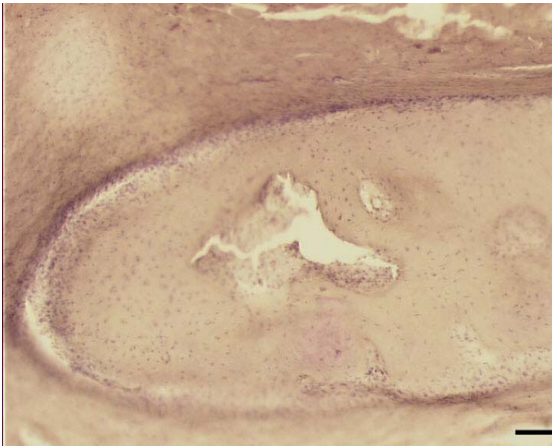


Abb.38 Markierung für IC6 im Bereich der Enthesis am Gleitspalt einer Paviansehne Referenzstrecke 100µm

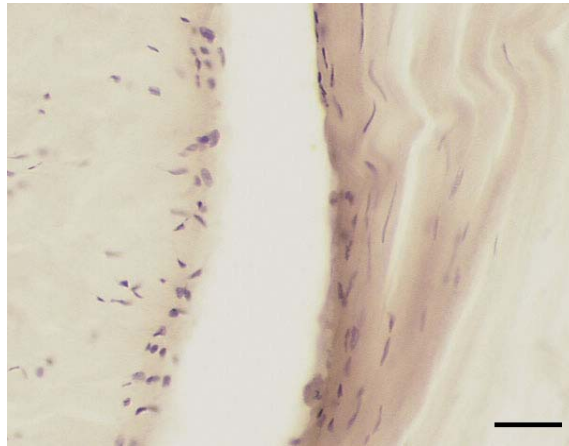


Abb.39 Markierung für IC6 im Bereich des Gleitspalts einer Makaksehne Referenzstrecke 30µm

### 3.3.4 Link Protein

Während die freilaufende Sehne ohne Farbniederschlag bleibt, ist das Link Protein in der Sehne im Kontaktbereich in 12 von 19 Präparaten nachweisbar. Hierbei lässt sich jedoch eine unterschiedliche Farbintensität der Antikörpermarkierung erkennen. Am Gleitspalt und im Hamulus sind die Präparate mit einer Ausnahme positiv (Tab. 15, Abb. 40-42).

Individuen	Sehne Kontaktz.	Hamulus Kontaktz.	Gleitspalt/Periost	Freie Sehne
P 1 li	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 1 re	n.v.	n.v.	n.v.	n.v.
P 2 li	0	n.v.	n.v.	0
P 2 re	0	n.v.	n.v.	0
P 3 li	(+)	n.v.	n.v.	0
P 3 re	(+)	n.v.	n.v.	0
P 4 li	+	n.v.	n.v.	0
P 4 re	+	n.v.	n.v.	0
P 5 li	+	n.v.	n.v.	0
P 5 re	+	+	+	0
P 6 li	0	+	0	0
P 6 re	0	+	n.v.	0
M 1 li	n.v.	n.v.	n.v.	0
M 1 re	(+)	n.v.	n.v.	0
M 2 li	(+)	n.v.	n.v.	0
M 2 re	+	n.v.	n.v.	0
M 3 li	0	n.v.	n.v.	0
M 3 re	+	+	+	0
M 4 li	0	n.v.	n.v.	0
M 4 re	+	n.v.	+	0
M 5 li	0	n.v.	n.v.	0
M 5 re	(+)	n.v.	n.v.	0

Tab.15: **8A4** (+ = Färbung, 0 = keine Färbung, n.v. = nicht vorhanden)

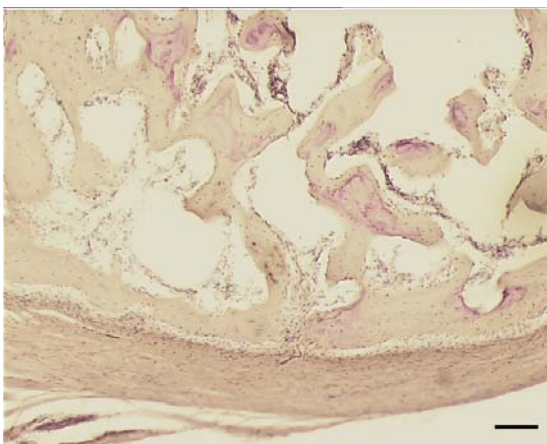


Abb.40 Markierung für 8A4 im Bereich des Periosts am Gleitspalt einer Paviansehne  
Referenzstrecke 100µm

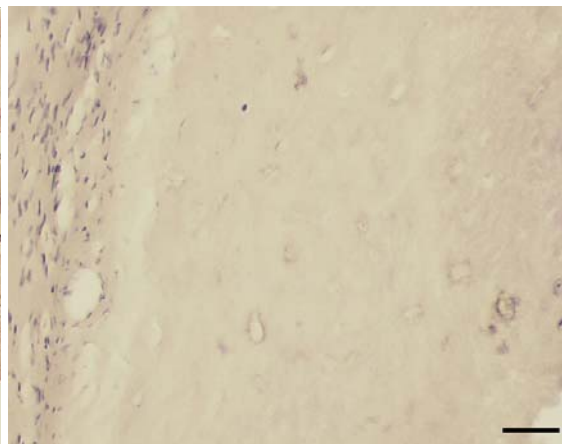


Abb.41 Markierung für 8A4 im Bereich der Enthese einer Paviansehne  
Referenzstrecke 30µm

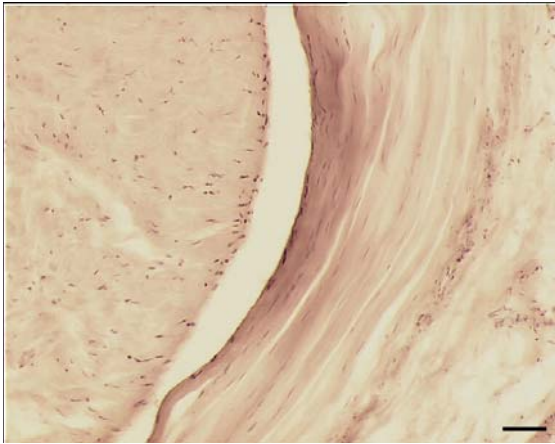


Abb.42 Markierung für 8A4 im Bereich des  
Gleitspalts einer Makakensehne  
Referenzstrecke 50µm

## **4. Diskussion**

### **4.1. Wertigkeit des gewählten methodischen Ansatzes**

#### **4.1.1. Wahl der geeigneten Präparate**

Die Entscheidung, diese Untersuchung an Primaten und nicht am Menschen durchzuführen, wurde durch den Mangel an geeignetem menschlichen Untersuchungsmaterial erzwungen. Wie sich in vorangegangenen Untersuchungen an formalinfixierten Humanpräparaten aus dem anatomischen Präparierkursus zeigte, sind immunhistochemische Nachweise aufgrund der massiven unspezifischen Hintergrundreaktionen bei diesen Präparaten nicht sinnvoll möglich.

Die Gewinnung von frischen Humanpräparaten geht jedoch mit einer deutlichen Zerstörung des Viszerokraniums einher. Eine minimalinvasive Präparation der Sehne im Bereich der Umlenkung um den Hamulus ist nicht möglich, weil die Präparatentnahme sehr präzise unter Sicht an der frei zugänglichen Unterseite der Schädelbasis durchgeführt werden muss, um die winzigen Gewebsanteile beim Herauspräparieren nicht zu beschädigen. Da zu diesem Zweck die gesamte Mandibula entfernt werden muss, um das Präparationsgebiet überhaupt ausreichend einsehen zu können, ist es unmöglich, diese Region von humanen Spendern zu bekommen, weil eine nicht vertretbare Zerstörung des Gesichtsbereichs eintreten würde. Eine Gewinnung der benötigten Präparate im Rahmen von gerichtlichen Sektionen war daher faktisch ausgeschlossen.

Die Menschen, die ihre Körper der Anatomie zu Verfügung stellen, sind meist fortgeschrittenen Alters, was bedeutet, dass sich aufgrund von Zahnverlust bzw. Zahnersatz massive Veränderungen in der Okklusion, sowie im Kau-, Schluck- und Sprachverhalten ergeben können. Zudem nimmt beim älteren Menschen die Wahrscheinlichkeit einer pathologischen bzw. altersbedingten Veränderung im Schädelskelett stark zu. Außerdem besteht nach der Präparation keine Möglichkeit mehr, diese Leichen noch sinnvoll im Rahmen eines Präparierkurses einzusetzen.

Da die anatomische Geometrie von Primaten und Menschen in dieser Schädelregion durchaus vergleichbar ist, d.h. dieselbe Sehne zieht in einer topographisch dem Menschen vergleichbaren Situation um den Hamulus pterygoideus, erscheinen Makaken und Paviane als die am ehesten geeigneten Spender (Abb. 43; 44a,b,c). Das von diesen Tieren gewonnene Material entspricht, bezogen auf das in freier Wildbahn erreichbare



Lebensalter, dem des voll bezahnten jüngeren Erwachsenen. Alle hier verwendeten Tiere waren voll bezahnt.

Die biomechanische Situation beim Primaten (kauen, schlucken, etc.) ist für den klinischen Bezug also vermutlich sogar repräsentativer, als bei menschlichen Präparaten, welche von sehr alten zahnlosen Spendern stammen.



Abb. 43 Vergleich der topographischen Situation der Schädelbasis bei Makake, Pavian und Mensch. Trotz des Größenunterschiedes sind die Verlaufsrichtungen von Sehne und Hamulus in allen Fällen ähnlich.

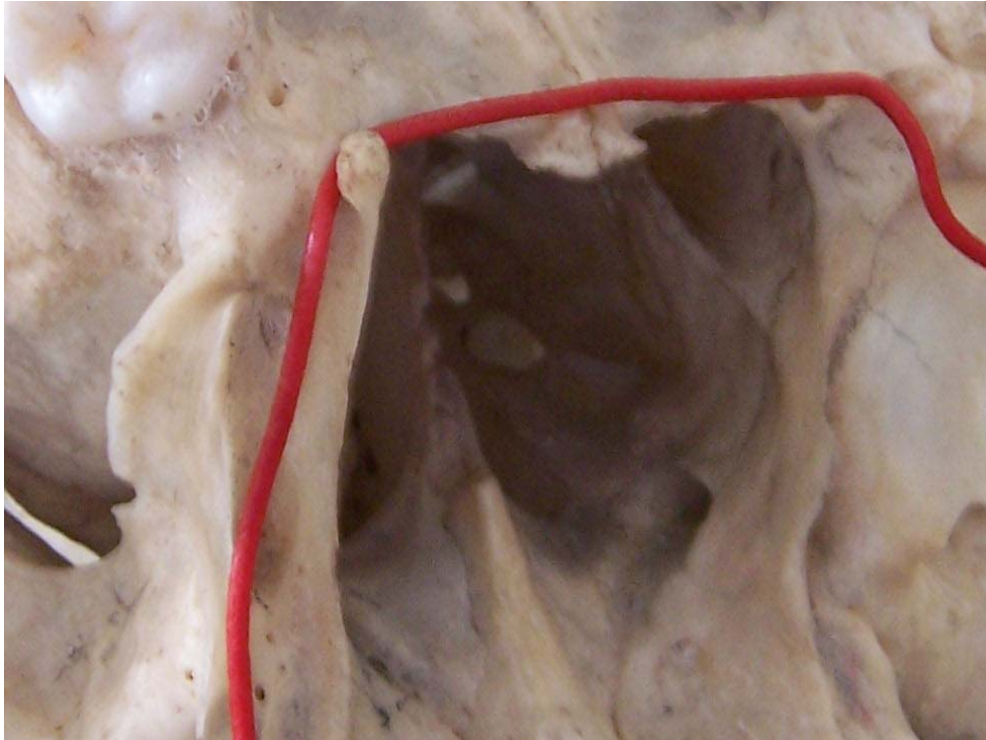


Abb. 44a Detailaufnahme der anatomischen Situation am Menschen mit plastisch nach-geformten Verlauf der Sehne (rot) des M. tensor veli palatini um den Hamulus pterygoideus.



Abb. 44b Detailaufnahme der anatomischen Situation am Makaken mit plastisch nach-geformten Verlauf der Sehne (rot) des M. tensor veli palatini um den Hamulus pterygoideus.

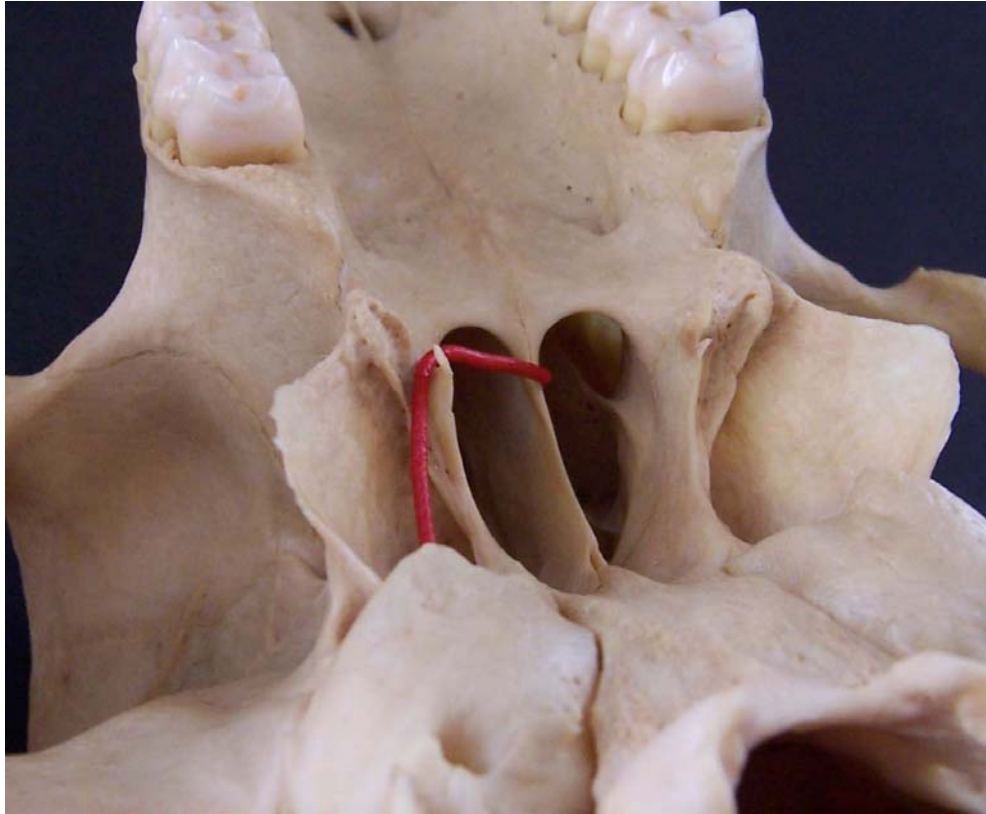


Abb. 44c Detailaufnahme der anatomischen Situation am Pavian mit plastisch nach-geformten Verlauf der Sehne (rot) des M. tensor veli palatini um den Hamulus pterygoideus.

Die Makaken und Paviankadaver dienten bereits im Rahmen eines anderen Forschungsprojektes der Untersuchung von Zusammenhängen, welche auf den Menschen übertragen werden sollen, und wurden uns dankenswerterweise vom Institut für chirurgische Forschung der LMU in Großhadern zur Verfügung gestellt. Der postmortalen Präparatentnahme waren maximal 7 Tage dauernde Versuche am Herz-Kreislaufsystem vorangegangen. Bis zu diesem Zeitpunkt wurden die Tiere artgerecht ernährt und gehalten. Ein weiteres Indiz für die Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Untersuchung auf den Menschen besteht darin, dass auch bei beiden Affenarten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der analysierten Moleküle vorliegen.

#### **4.1.2. Wahl der geeigneten Nachweismethode**

Die in dieser Untersuchung angewandte immunhistochemische Nachweismethode beruht auf einer spezifischen Affinität von Antigen und Antikörper. Die Antigen-Antikörper-Bindung bildet einen dreidimensionalen Komplex, der weder durch rein kovalente, noch rein elektrostatische Anziehungskräfte aufrechterhalten wird, sondern ein Zusammenspiel von Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophoben Wechselwirkungen und Ionenbindungen darstellt (Kiernan 1999). Das sog. Schlüssel-Schloss-Prinzip beschreibt die Eigenschaft eines Antikörpers, spezifisch an das entsprechende Antigen anzudocken. Aufgrund dieser Eigenschaft eignen sich immunhistochemische Nachweismethoden exzellent zur Markierung von Makromolekülen und zur Analyse ihrer Verteilung im Gewebe (Kiernan 1999; Lehninger et al. 1994).

Die Avidin–Biotin–Peroxidase Methode (Kiernan 1999) ist in dieser Untersuchung die Nachweismethode der Wahl, da sich hier die geringsten unspezifischen Hintergrundmarkierungen ergeben. Sie basiert auf der Fähigkeit des Glycoproteins Avidin bis zu 4 Moleküle des Vitamins Biotin chemisch zu binden. Aufgrund der molekularen Konfiguration werden aber in der Regel weniger Biotinmoleküle gebunden. In der ABC-Technik kommen drei Reagenzgruppen zur Anwendung. Der Primärantikörper heftet sich spezifisch an das zu bestimmende Antigen. Im zweiten Schritt wird ein biotinylierter Sekundärantikörper verwendet, welcher gegen die Spezies und den Immunglobulintyp des Erstantikörpers gerichtet ist. Abschließend verbinden sich die freien Stellen des Avidinmoleküls im peroxidase–konjugierten Avidin-Biotin-Komplex mit dem Biotin des Zweitantikörpers. Durch die Peroxidase wird das gesuchte Antigen anhand eines geeigneten Chromogens (hier DAB-Monomer) markiert. Das bedeutet, dass es am Ort des Antigennachweises zu einem lösungsmittelresistenten Farbniederschlag kommt.

Um eine endogene Peroxidaseaktivität, welche die Ergebnisse verfälschen würde, im Präparat auszuschließen, wird diese durch die Inkubation mit einer Kombination aus 3% Wasserstoffperoxid in Methanol irreversibel gehemmt.

Durch die Vorbehandlung mit hochkonzentriertem Pferdeserum wird einer unspezifischen Proteinbindung und damit einer ebenso unspezifischen Hintergrundmarkierung vorgebeugt. Das Serum soll die Proteinbindungsstellen im Präparat absättigen, welche sonst als Störfaktoren wirken würden.

Quantitative Aussagen können mit der hier angewandten immunhistochemischen Nachweisreaktion leider nicht gemacht werden, da kein stöchiometrischer Zusammenhang zwischen gebildetem Chromogenniederschlag und nachgewiesener Antigenmenge besteht. Um mit der reinen Ja (vorhanden)-Nein (nicht vorhanden)-Antwort ein aussagekräftiges Ergebnis formulieren zu können, werden in dieser Untersuchung daher einzelne Regionen des Präparates voneinander abgegrenzt und getrennt bewertet.

#### **4.2 Interpretation der Ergebnisse**

Die meisten untersuchten Sehnen des M. tensor veli palatini offenbaren einige wenige morphologische Kennzeichen, welche auf einen sesamoiden Faserknorpel im Umlenkungsbereich der Sehne um den Hamulus pterygoideus hindeuten. In den freilaufenden Sehnenabschnitten lassen sich solche Merkmale nicht darstellen.

Histomorphologisch wird in den ersten Zellschichten an der Kontaktseite der Sehne eine Gestaltänderung der Fibroblasten erkennbar. Sie wandeln sich von longitudinal ausgerichteten, schlanken Zellen vereinzelt zu rundlichen, eher knorpelähnlichen Zellen. Diese Zone ist allerdings in allen Präparaten auf die ersten drei bis fünf Zellschichten begrenzt.

Neben den typischen Molekülen des straffen, kollagenfaserreichen Bindegewebes der klassischen Zugsehne (u.a. Kollagen I, III, VI, Keratansulfat, Dermatansulfat, Versican und Tenascin) finden sich molekulare Bausteine, welche als Anzeichen für eine eher knorpeltypische Matrixzusammensetzung gewertet werden. Das Vorkommen von solchen Molekülen (Kollagen II, Chondroitin-6-sulfat, Aggrecan, Link Protein) lässt sich als Anpassung an eine lokale Druckbeanspruchung im Bereich der Umlenkung interpretieren.

Nach Milz et al. (2005) ergibt sich hinsichtlich des Auftretens der Glycosaminoglykane eine bestimmte Reihenfolge bei der Reaktion auf lokale Kompression. Dermatansulfat und Keratansulfat sind in allen Sehnen bereits durch die Verformung des Gewebes bei Zugbeanspruchung und die dadurch ebenfalls auftretende geringfügige Druckbeanspruchung nachweisbar.

Das Vorkommen von Dermatansulfat wird mit der Fähigkeit eines Gewebes, eine Zugbeanspruchung aufzunehmen (Gillard et al.1977a) assoziiert. Da sich die Intensität der Markierung für Dermatansulfat im gesamten Verlauf der Sehne nicht ändert, kann man daraus schließen, dass eine gleichmäßige Zugbeanspruchung über die komplette Sehne hinweg vorliegt (Watanabe et al. 1994).

Kommt nun zur Zugbelastung eine Druckbeanspruchung hinzu, lassen sich in diesen Arealen deutlich mehr und andere Glycosaminoglykane nachweisen, als in den nicht druckbelasteten Bereichen. Das gilt vor allem für das zusätzliche Auftreten von Chondroitin-Sulfat (Gillard et al. 1977 a, b; Parry et al.1982; Flint et al. 1982).

Hier kommt bei leicht ansteigender Kompression zunächst das Chondroitin-4-Sulfat und bei stärkerer lokaler Druckbelastung im schon morphologisch deutlich faserknorpeligen Gewebe das Chondroitin-6-Sulfat hinzu (Milz et al. 2005). In den untersuchten Proben zeigt sich, dass der lokale Druck an der Umlenkungsstelle um den Hamulus gerade im Bereich dieses Schwellenwertes zu liegen scheint. Für das Chondroitin-4-Sulfat sind mit einer Ausnahme alle Sehnen in der Kontaktzone zum Hamulus positiv markiert, auch im periostalen Überzug des Knochens lässt sich diese Markierung ausnahmslos nachweisen.

Der Antikörper von Chondroitin-6-Sulfat weist im Sehnenabschnitt nur einen unwesentlichen Unterschied auf, aber im Bereich des Gleitspalts/Periosts sind nur noch etwas mehr als die Hälfte der Präparate positiv markiert.

Der Markerantikörper 7D4 für das Chondroitin-6-Sulfat-oversulphated ist bereits in einem Drittel aller Sehnenproben im Umlenkungsareal nicht vorhanden.

Den Glykosaminoglykanen folgend, ändert sich auch die Verteilung der Proteoglykane in der extrazellulären Matrix (ECM) in Abhängigkeit von Höhe und Dauer der lokalen Kompression. So führt beispielsweise am Gelenkknorpel eine statisch einwirkende Druckbeanspruchung zu einer höheren Proteoglykankonzentration (Flint 1974). Auch unter dynamischer Druckbeanspruchung (Parkinen et al. 1992) und unter intermittierend einwirkender Druckbelastung (Evanko und Vogel 1993) konnten gesteigerte Proteoglykansyntheseraten beobachtet werden. Ein intermittierend einwirkender Druck ist auch verantwortlich für die Bildung und Erhaltung der faserknorpeligen Region in den Strecksehnen der Zehen des Menschen (Milz et al. 1998).

Versican und in geringerem Maße Tenascin sind die charakteristischen Markermoleküle des straffen, kollagenfasereichen Bindegewebes. Setzt sich nun der kompressionsbedingte faserknorpelige Umbau durch, so reduzieren sich diese Matrixmoleküle, bis sie stellenweise völlig verschwunden sind. Im Gegenzug erhöht sich die Konzentration von Aggrecan und Link Protein (Milz et al. 2005).

Aggrecan ist das charakteristische Makromolekül des hyalinen Gelenkknorpels, das hauptsächlich mit dem Chondroitin-6-Sulfat assoziiert ist (Heinegård & Oldberg 1993). Es erhöht die Widerstandsfähigkeit gegen Druckbeanspruchung (Jackson et al. 1991), indem durch die hohe Ladungsdichte der sulfatierten Glykosaminoglykane Wasser im Gewebe gebunden wird. Die auf diese Weise entstandenen Wasser-Aggrecan-Hyaluronsäure-Komplexe haben dann die Fähigkeit sich mit den faserigen Netzen aus Kollagen II oder aus Kollagen I-Molekülen zu assoziieren (Hedlund et al. 1999).

Aggrecan wurde unter anderem in den druckbeanspruchten Arealen der tiefen Beugesehnen adulter Rinder (Vogel 1995; Robbins et al. 1997), im sesamoiden Faserknorpel der menschlichen Achillessehne (Waggett et al. 1998), in den Sehnen der Rotatorenmanschette (Berenson et al. 1996) und in den Strecksehnen der Metacarpophalangeal-Gelenke (Milz et al. 1999) nachgewiesen.

Link Protein, ein extrazelluläres Glycoprotein, ist verantwortlich für die Stabilisierung der Interaktion von Aggrecan mit Hyaluronsäure und leistet einen wesentlichen Beitrag zur Bildung und Erhaltung der juvenilen und adulten Knorpelmatrix (Watanabe & Yamada 1999).

Im Großteil der untersuchten Präparate finden sich im Bereich der Kontaktzone zum Hamulus in den Sehnen positive Markierungen für Aggrecan und Link Protein. Das bedeutet, dass auch der Schwellenwert für die gesteigerte Proteoglykansynthese durch die Druckbeanspruchung an der Umlenkung um den Hamulus überschritten wird. Jedoch scheint der Druck nicht auszureichen, um einen ausgeprägten Rückgang von Tenascin und Versican zu initiieren. Während das Versican in allen untersuchten Individuen vorhanden ist, fehlt das Tenascin in etwa jeder fünften Probe. Ob hier ein Zusammenhang mit der mechanischen Beanspruchung besteht, ist unklar.

Ein regelmäßiges Auftreten von Kollagen II in den Strecksehnen der zweiten bis fünften Zehen des Menschen werten Milz et al. (1998) als ein Zeichen der Anpassung an die mechanische Druckbelastung durch die Ausbildung eines sesamoiden Faserknorpels an dieser Stelle. Im Bereich der ersten Zehe, an welcher die Sehne beim Gehen einer geringeren Druckbelastung ausgesetzt ist, konnten die Autoren kein Kollagen II finden.

Die Auswertung der vorliegenden Präparate zeigt, dass in der Sehne nur in knapp der Hälfte der Fälle eine positive Markierung für Kollagen II im Kontaktbereich mit dem Hamulus erkennen lässt. Außerdem ist diese Markierung durchgehend relativ schwach ausgeprägt. Im mineralisierten Teil des Hamulus selbst und am Gleitspalt mit dem periostalen Überzug sind vereinzelt etwas stärkere positive Markierungen festzustellen. Dies könnte mit der unterschiedlich langen Dauer der Druckbeanspruchung während des Ablaufs der Bewegung zusammenhängen. So bleibt die Oberfläche des Hamulus mit der Gleitfläche immer in Kontakt, während sich die Kontaktfläche der Sehne des Musculus tensor veli palatini bei der Exkursion über eine größere Strecke auf der Sehne verschiebt.

Das gleiche Phänomen fand Regner (2001) an einem anderen Hypomochlion. In der Sehne des M. obliquus bulbi superior finden sich vereinzelt strategisch verteilte Faserknorpelzellen im direkten Kontaktbereich mit der Trochlea, jedoch nur ausnahmsweise Markierungen für Kollagen II. Auch Aggrecan war regelmäßig nachweisbar. In der Trochlea selbst zeigt sich ein markant ausgeprägter Faserknorpel mit konstant kräftig, positiven Markierungen für Kollagen II, Chondroitin-6-sulfat und Aggrecan. Das bedeutet, dass in einer Gleitsituation die beteiligten Partner durchaus unterschiedlich reagieren können. In der Sehne erreicht der mechanische Stimulus nicht die notwendige Höhe, um eine Produktion von Kollagen II auszulösen, obwohl eine Druckbeanspruchung effektiv gegeben ist, was sich auch durch den Nachweis von Aggrecan zeigen lässt. Da sich am Hamulus, anders als bei der Trochlea, kein ausgeprägter Faserknorpel darstellen lässt, kann man davon ausgehen, dass hier geringere Druckkräfte als an der Trochlea auf die beiden Gleitpartner einwirken.

In den untersuchten histologischen Schnittpräparaten finden sich darüber hinaus häufig Sehnenanteile, die am Hamulus im Sinne einer Enthese inserieren.

Das Auftreten eines Enthese-Faserknorpels aufgrund von Richtungsänderungen und den dadurch entstehenden Scherkräften wird ausführlich von verschiedenen Autoren beschrieben (Benjamin et al. 1986; Evans et al. 1990; Benjamin & Ralphs 1995; Lewis et



al. 1998). Dabei gilt prinzipiell der Grundsatz: je größer der Grad der Abknickung, desto größer die Menge des gefundenen Faserknorpels.

Die Beobachtung, dass einige Fasern des M. tensor veli palatini direkt am Hamulus inserieren, stimmt mit den Untersuchungsergebnissen von Putz und Kroyer (1999) überein. Diese Anheftung in Form einer kleinen Enthese könnte dafür verantwortlich sein, dass die Markierungen für Kollagen II im Knochen und am Periost kräftiger ausfallen als in der Gleitsehne.

Doch auch hier ist die Kollagensynthese im Vergleich zur Proteoglykansynthese deutlich verzögert. So zeigten Liu et al. (1997), dass bei einer chirurgisch erzeugten Bandanheftung, die Aggrecansyntheserate bereits in den ersten drei Tagen deutlich ansteigt, während erst nach sechs Wochen ein erstes Auftreten von Kollagen II nachzuweisen war.

### **4.3 Klinische Bedeutung des Nachweises knorpeltypischer Antigene**

In der Literatur finden sich Hinweise, dass ein Teil der entzündlichen Zerstörungen im Rahmen der rheumatoiden Arthritis auf Autoimmunprozesse gegen Bestandteile der extrazellulären Matrix des Knorpels zurückzuführen ist. Ein charakteristisches Merkmal der Degradationsprozesse bei rheumatoider Arthritis ist die Spaltung von Aggrecan durch das Enzym Aggrecanase im hyalinen Gelenkknorpel (Caterson et al. 1999; Lohmander et al. 1993). Ähnliche Mechanismen können sich auch im Bereich faserknorpeliger Sehnen und Sehnenansätze abspielen.

Link Protein, welches ebenfalls in Geweben vom knorpeligen Phänotyp vorkommt, gilt heutzutage als eines der wesentlichen antigenen Ziele bei den verschiedenen Verlaufsformen der juvenilen und adulten rheumatoiden Arthritis (Guerassimov et al. 1997,1998; Zhang et al.1998).

Es ist deshalb zu vermuten, dass die Anwesenheit von Aggrecan, Link Protein und auch Kollagen II (Falta & Kotzin 1998) in der Sehne des M. tensor veli palatini und im Hamulus pterygoideus, einen, wenn auch sehr kleinen Angriffspunkt für Autoimmunreaktionen darstellt, wie es bereits bei Patienten mit rheumatoider Arthritis für den hyalinen Knorpel beschrieben ist.

Derartige entzündliche Veränderungen am Hamulus und eventuell auch in den dem Hypomochlion anliegenden Abschnitten der Sehne könnten zur Schwellung des benachbarten Gewebes und zur Verdickung der Sehne führen. Interessant ist in diesem

Zusammenhang, dass in der Literatur auf Dysphagie als Symptom bei Patienten mit besonders schwerer Manifestation der rheumatoiden Arthritis hingewiesen wird (Geterud et al. 1991). Allerdings wird bei derartigen klinischen Berichten bisher nie ein direkter Zusammenhang mit der Sehnenumlenkung am Hamulus hergestellt.

An anderer Stelle im Kopfbereich sind Störungen der freien Beweglichkeit einer Sehne an einem Hypomochlion bereits beschrieben und könnten mit der rheumatoiden Arthritis assoziiert sein. Dies ist beispielsweise an der Umlenkung der Sehne des M. obliquus bulbi superior im Bereich der Trochlea der Fall (Milz et al. 2001).

Aggrecan und Link Protein haben darüber hinaus eine klinische Bedeutung bei akuten Bandverletzungen oder chronisch entzündlichen Verletzungen. Inkomplette Rupturen, die zur Veränderung der mechanischen Situation in der Ansatzzone führen, können eine Ossifikation und Kalzifizierung des Bandes auslösen (Perera et al. 1995; Constantin & Bouteiller 1998; Hayashi 1999). Es liegt die Vermutung nahe, dass die Umwandlung in mineralisiertes Gewebe durch Konsumierung des faserknorpeligen Gewebes verursacht sein könnte, wie dies in anderen Körperregionen bereits beschrieben ist. Die Anwesenheit von Aggrecan und Link Protein in der hier untersuchten anatomischen Region könnte daher helfen, die noch immer ungeklärte Ätiologie des Hamulus-Syndroms (abnorme Verdickung und Verlängerung des Hamulus pterygoideus), besser zu verstehen.

## **5. Zusammenfassung:**

Die Mehrzahl der untersuchten Sehnen des M. tensor veli palatini offenbaren einige, wenn gleich schwach ausgeprägte Kennzeichen eines sesamoiden Faserknorpels auf der artikulierenden Sehnenunterseite im Umlenkungsbereich um den Hamulus pterygoideus. In diesen Bereichen lassen sich in der extrazellulären Matrix Moleküle nachweisen, welche charakteristisch für den faserknorpeligen Gewebsphänotyp sind. In den freilaufenden Sehnenabschnitten lassen sich diese Merkmale nicht darstellen. Im periostalen Überzug im Bereich des als Hypomochlion dienenden Hamulus pterygoideus finden sich ebenfalls Anzeichen für eine molekulare Zusammensetzung der extrazellulären Matrix, welche charakteristisch für den faserknorpeligen Phänotyp sind. In den Fällen, in denen eine Insertion von Sehnenfasern am Hamulus vorliegt, finden sich auch Merkmale die auf das Vorliegen einer kleinen faserknorpeligen Enthese hinweisen.

## **6. Literaturverzeichnis**

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. Res. 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

Baugh, R.F., Stocks, R.M.

Eagle's syndrome: a reappraisal.

Ear Nose Throat J. 72(5): 341-344

1993

Benjamin, M., Evans, E.J., and 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., Ralphs, J.

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, 185-203

1995a

Benjamin, M., Qin, S., and Ralphs, J.

Fibrocartilage associated with human tendons and their pulleys.

J. Anat. 187: 625-633

1995b

Benjamin, M., Ralphs, J.

Tendons and ligaments – an overview.

Histol. Histopath. 12: 1135-1144

1997

Benjamin, M., Ralphs, J.

Fibrocartilage in tendons and ligaments – an adaption to compressive load.

J. Anat. 193: 481-494

1998

Berenson, M.C., Blevins, F.T., Plaas, A.H., Vogel, K.G.

Proteoglycans of human rotator cuff tendons.

J. Orthop. Res. 14: 518-525

1996

Berke, W.P.; Fischer, R.

The hamulus syndrome.

Stomatolog. DDR. 36: 24-28

1986

Braus, H.

Anatomie des Menschen.

Springer, Berlin

1954

Brook, I.M.

Pterygoid hamulus hyperawareness.

Br. Dent. J. 153: 150

1982

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

Catelani, C., Cudia, G.

Stylalgia or Eagle syndrome. Report of a case.

Dent. Cadmos. 57(19): 70-74

1989

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.  
1990

Caterson, B.; Flannery, C.R.; Hughes, C.E.; Little, C.B.

Mechanisms of proteoglycan metabolism that lead to cartilage destruction in the pathogenesis of arthritis.

Drugs of Today 35: 397-402

1999

Charbeneau, D.T.; Blanton, P.L.

The pterygoid hamulus: A consideration in the diagnosis of posterior palatal lesion.

Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 52: 574-576

1981

Chase, D.C., Zarmen, A., Bigelow, W.C., McCoy, J.M.

Eagle's syndrome: a comparison of intraoral versus extraoral surgical approaches.

Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 62(6): 625-629

1986

Constantin, A.; Bouteiller, G.

Acute neck pain and fever as the first manifestation of chondrocalcinosis with calcification of the transverse ligament of the atlas: Five case-reports with a literature review.

Revue du Rhumatisme (English Edition) 65: 583-585

1998

Disse, J., Graf von Spee, F., Krause, W.

Bartlebens, Handbuch der Anatomie I. Skelettlehre.

Gustav Fischer, Jena

1896

Eisler, P.

Handbuch der Anatomie II.

Fischer, Jena

1912

Ettinger, R.L., Hanson, J.G.

The styloid or "Eagle" syndrome: an unexpected consequence.

Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 40(3): 336-340

1975

Eyrich, G.K.; Locher, M.C.; Warnke, T.; Sailer, H.F.

The pterygoid hamulus as a pain-inducing factor: A report of a case and a radiographic study.

Int. J. Oral Maxillofac. Surg. 26: 275-277

1997

Evanko, S.P.; Vogel, K.G.

Proteoglycan synthesis in fetal tendon is differentially regulated by cyclic compression in vitro.

Arch. Biochem. Biophys. 307: 153-164

1993

Evans, E.J.; Benjamin, M.; Pemberton, D.J.

Fibrocartilage in the attachment zones of the quadriceps tendon and patellar ligament of man.

J. Anat. 171: 155-162

1990

Falta, M.T.; Kotzin, B.L.

T-cells as primary players in rheumatoid arthritis.

In (eds) Miossec, P.; van den Berg, W.B.; Firestein, G.S. T-Cells in arthritis.

Birkhäuser, Basel, Boston, Berlin: 201-231

1998



Fiamminghi, L., Collini, M., Bozzetti, A.  
Eagle syndrome or the styloid process syndrome.  
Riv. Odontostomatol. Implantoprotesi. (1): 33-37  
1984

Flint, M.H.  
Pathogenesis of osteoarthritis (Letter).  
Lancet 865: 1047-1048  
1974

Flint, M.H., Gillard, G.C., Reilly, H.C.  
The glycosaminoglycans of Dupuytren's disease.  
Connect. Tissue Res. 9:173-179  
1982

Forman, D., Jaffe, J.  
Facial pain treated by temporomandibular joint arthroscopy and styloidectomy.  
J. Am. Dent. Assoc. 120(3): 324  
1990

Frick, H., Leonhardt, H., Starck, D.  
Allgemeine Anatomie – Spezielle Anatomie I.  
Thieme, Stuttgart  
1992

Gardener, E., Gray, J.D.  
Anatomy.  
W.B. Saunders Company, Philadelphia  
1963

Geterud, A., Bake, B., Bjelle, A., Jonsson, R., Sandberg, N., Ejnell, H.  
Swallowing problems in rheumatoid arthritis.  
Acta Otolaryngol. 111:1153-61,  
1991

Gillard, G.C., Reilly, H.C., Bell-Booth, P.G., Flint, M.H.

A comparison of the glycosaminoglycans of weight-bearing and non-weight-bearing human dermis.

J. Invest. Dermatol. 69 :257-261,

1977a

Gillard, G.C., Merrilees, M.J., Bell-Booth, P.G., Reilly, H.C., Flint, M.H.

The proteoglycan content and the axial periodicity of collagen in tendon.

Biochem. J. 163:145-151

1977b

Gores, R.J.

Pain due to long hamular process in the edentulous patient.

Lancet 84: 353-354

1964

Guerassimov, A.; Duffy, C.; Zhang, Y.; Banerjee, S.; Leroux, J.Y.; Reimann, A.; Webber, C.; Delaunay, N.; Vipparti, V.; Ronbeck, L.; Cartman, A.; 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: 1480-4

1998

Hayashi, T.; Hirose, Y.; Sagoh, M.; Murakami, H.

Ossification of the transverse ligament of the atlas associated with atlanto-axial dislocation.

Neurol. Med. Chir. 38: 425-428

1998

Hedlund, H.; Hedbom, E.; Heinegard, D.; Mengarelli-Widholm, S.; Reinholt, F.P.; Svensson, O.

Association of the aggrecan keratan sulfate-rich region with collagen in bovine articular cartilage.

J. Biol. Chem. 274: 5777-5781

1999

Heinegård, D.; Oldberg, O.

Glycosylated matrix proteins

In: Royce, P.M.; Steinmann, B.; eds. Connective tissue and its heritable disorders.

New York: Wiley&Liss: 189-209

1993

Hertz, R.S.

Pain resulting from elongated pterygoid hamulus: report of case.

J. Oral. Surg. 26: 209-210

1968

Hessle, H., Engvall, E.

Type VI collagen. Studies on its localization, structure, and biosynthetic form with monoclonal antibodies.

J Biol Chem. Mar 25; 259(6): 3955-3961

1984

Hjorting-Hansen, E.; Lous, I.

Hamulus pterygoid syndrome.

Tandlaegebladet 91: 833-837

1987a

Hjorting-Hansen, E.; Lous, I.

The pterygoid hamulus syndrome.

Ugeskr-Laeger 149: 979-982

1987b

Jackson, R.L.; Bush, S.J.; Cardin, A.D.

Glycosaminoglycans: Molekular properties, protein interactions and role in physiological processes.

Physiol. Rev. 71: 481-539

1991

Kelly, R.J., Jackson, F.E., DeLave, D.P., Dunn, J.

The Eagle syndrome. Hemicrania secondary to elongated styloid process.

US Navy Med. 65(4): 11-16

1975

Kiernan, J.A.

Histological and histochemical methods. Theory and practice.

3rd Edition, Butterworth-Heinemann 390 - 418

1999

Kopsch, Fr.

Rauber-Kopsch: Lehrbuch und Atlas der Anatomie des Menschen, 1. Band

G. Thieme, Leipzig

1940

Kronman, J.H.; Padamsee, M.; Norris L.H.

Bursitis of the tensor veli palatini muscle with an osteophyte on the pterygoid hamulus.

Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 71: 420-422

1991

Kroyer, A.

Funktionelle Morphologie des Hamulus pterygoideus

Dissertation an der LMU München

1997

Kummer, B.

Bauprinzipien des Säugerskelettes.

Thieme

1959

Kummer, B.

Funktioneller Aufbau und funktionelle Anpassung des Knochens.

Anat. Anz. 110: 261-293

1962

Kummer, B.

Die Beanspruchung des menschlichen Hüftgelenkes.

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., Hrsg.

Orthopädie in Praxis und Klinik. Band I Allgemeine Orthopädie.

Thieme, Stuttgart

1980

Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M.;

Kohlenhydrate in: Tschesche, H.(Hrsg.). Prinzipien der Biochemie.

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford 345-363

1994

Lewis, A.R.; Ralphs, J.R.; Kneafsey, B.; Benjamin, M.

The distribution of collagens and glycosaminoglycans in the joint capsule of the proximal Interphalangeal joint of the human finger.

Anat. Rec.250: 281-291

1998

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

Lorman, J.G., Biggs, J.R.

The Eagle syndrome.

AJR Am. J. Roentgenol. 140(5): 881-882

1983

Liu, S.H.; Panossian, V.; Al-Shaikh, R.; Tomin, E.; Shepherd, E.; Finerman, G.A.; Lane, J.M.

Morphology and matrix composition during early tendon to bone healing.

Clin. Orthop. 339: 253-260

1997

Mayne, R.

Preparation and applications of monoclonal antibodies to different collagen types.

Clin Biochem. Apr; 21 (2):111-115.

1988

Mc Neilly, C.M., Banes, A.J., Benjamin, M., Ralphs, J.R.

Tendon cells in vivo form a three dimensional network of cell processes linked by gap junctions.

J. Anat. 189: 593-600

1996

Merkel, F.  
Henle's Grundriß der Anatomie des Menschen.  
Verlag Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig  
1901

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

Milz, S., Putz, R.  
Quantitative morphology of the subchondral plate of the tibial plateau.  
J. Anat. 185: 103-110  
1994

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.  
Fibrocartilage 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.  
Fibrocartilage in the extensor tendons of the human metacarpophalangeal joints.  
Anat. Rec. 256: 139-145  
1999

Milz, S., Schluter, T., Putz, R., Moriggl, B., Ralphs, J.R., Benjamin, M.

Fibrocartilage in the transverse ligament of the human atlas

Spine. Aug 15; 26 (16):1765-1771

2001

Milz S., Benjamin M., Putz R.

Molecular parameters indicating adaptation to mechanical stress in fibrous connective tissue.

Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology 178:1-71

2005

Mortellaro, C., Biancucci, P., Picciolo, G., Vercellino, V.

Eagle's syndrome: importance of a corrected diagnosis and adequate surgical treatment.

J. Craniofac. Surg. 13(6): 755-758.

2002

Myatt, H.M.; Mackay, I.S.

Snoring – a simple surgical solution

Clin. Otol. Laryng. Allied. Sci. 21: 419-424

1996

Parkkinen, J.J.; Lammi, M.J.; Helminen, H.J.; Tammi, M.

Local stimulation of proteoglycan synthesis in articular cartilage explants by dynamic compression in vitro.

J.Orthop. Res. 10: 610-620

1992

Parry, D.A.D., Flint, M.H., Gillard, G.C., Craig, A.S.

A role for glycosaminoglycans in the development of collagen fibrils.

FEBS-Letters 149: 1-7

1982



Pauwels, F.

Die Bedeutung der Bauprinzipien der unteren Extremität für die Beanspruchung des Beinskelettes.

Z. Anat. Entw. Gesch. 114: 525-538

1949

Pauwels, F.

Eine neue Theorie über den Einfluß mechanischer Reize auf die Differenzierung der Stützgewebe.

(X. Beitrag zur funktionellen Anatomie und kausalen Morphologie des Stützgewebes)

Z. Anat. Entw. Gesch. 121: 478-515

1960

Pauwels, F.

Die Druckverteilung im Ellbogengelenk.

Z. Anat. Entw. Gesch. 123: 643-667

1963

Pauwels, F.

Gesammelte Abhandlungen zur 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

Perera, S.; Davis, C.H.; Gupta, R.C.

Spinal cord compression caused by ossification of the transverse ligament of the atlas.

Br. J. Neurosurg. 9: 787-789

1995

Pernkopf, E.

Topographische Anatomie, 4. Band

Urban & Schwarzenberg, München

1957

Peters, R.

Die histologische Struktur der Kompakta des Femurschaftes und ihre Beziehung zu Dichte und Festigkeit.

Dissertation, Köln

1975

Ploetz, E.

Funktioneller Bau und funktionelle Anpassung der Gleitsehnen.

Z. Orthop. 67: 212-234

1938

Putz, R.; Pabst, R.

Sobotta: Atlas der Anatomie des Menschen, 1. Band

Urban & Schwarzenberg

1993

Putz, R.; Kroyer, A.

Functional morphology of the pterygoid hamulus

Ann. Anat. 181 (1): 85-88

1999

Regner, F.

Molekulare Zusammensetzung der extrazellulären Matrix von Trochlea und Sehne des  
M. obliquus bulbi superior.

Dissertation LMU München

2001

Robbins, J.R.; Evanko, S.P.; Vogel, K.G.

Mechanical loading and TGF-beta regulate proteoglycan synthesis in tendons.

Arch. Biochem. Biophys. 342: 203-211

1997

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

Rufai, A., Ralphs, J.R., Benjamin, M.

Ultrastructure of fibrocartilage at the insertion of the rat achilles tendon.

J. Anat. 189: 185-191

1996

Rüdiger, N.

Topographisch Chirurgische Anatomie des Menschen.

Hasden Buchhandlung, Stuttgart

1874

Salomon, E., Aulich, C.  
Atlas der Anatomie des Menschen  
Gebhardt & Reisland, Leipzig  
1842

Sasaki, T.; Imai, Y.; Fujibayashi, T.  
A case of elongated pterygoid hamulus syndrome.  
Oral Diseases 7: 131-133  
2001

Sela, J., Abu el Naaj, I., Peled, M.  
The styloid process elongation syndrome (Eagle syndrome): a case report.  
Refuat Hapeh Vehashinayim. 20(1): 44-45  
2003

Shankland, W.E. 2nd  
Bursitis of the hamular process. Part I: Anatomical and histological evidence.  
Cranio. 14: 186-189  
1996

Shankland, W.E. 2nd  
Bursitis of the hamular process. Part II: Diagnosis, treatment and report of three case studies.  
Cranio. 14: 306-311  
1996

Shankland, W.E. 2nd  
Pterygoid hamulus bursitis: one cause of craniofacial pain.  
J. Prosthet. Dent. 78(1): 111-112  
1997

Slavin, K.V.

Eagle syndrome: entrapment of the glossopharyngeal nerve? Case report and review of the literature.

J. Neurosurg. 97(1): 216-218

2002

Spalteholz, W.

Handatlas der Anatomie des Menschen, 1. Band

Hirzel, Leipzig

1922

Thot, B., Revel, S., Mohandas, R., Rao, A.V., Kumar, A.

Eagle' syndrome. Anatomy of the styloid process.

Indian J. Dent. Res. 11(2): 65-70

2000

Tillmann, B.

A contribution to the functional morphology of articular surfaces.

Thieme, Stuttgart, pp1-50

1978

Verstraeten ,A.A., Mackie, E.J., Hagemann, P.C., Hilgers, J., Schol, D.J., De Jongh, G.J., Schalkwijk, J.

Tenascin expression in basal cell carcinoma.

Br. J. Dermatol. 127: 571-4,

1992

Vogel, K.G., Koob, T.J.

Structural specialisation in tendons under compression.

International Review of Cytology 115: 267-293

1989

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. Rosemont: American academy of orthopaedic surgeons: 205-215

1995

Waggett, A.; Kwan, A.; Woodnutt, D.; Ralphs, J.; Benjamin, M.

Characterisation of collagens and proteoglycans at the insertion of the human Achilles tendon.

Matrix Biol. 16: 457-470

1998

Watanabe, M., Nojima, M., Shibata, T., Hamada, M.

Maturation-related biochemical changes in swine anterior cruciate ligament and tibialis posterior tendon.

J. Orthop. Res. 12: 672-682

1994

Watanabe, M.; Yamada, Y.

Mice lacking link protein develop dwarfism and craniofacial abnormalities.

Nature Genetics 21: 225-229

1999

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

Wolff, J.

Das Gesetz der Transformation der Knochen.

Berlin, Hirschwald

1892

Nachdruck Stuttgart, Schattauer 1991

Wooten, J.W.; Tarsitano, J.J.; Reavis, D.K.

The pterygoid hamulus: a possible source for swelling, erythema and pain: report of three cases.

J. Am. Dent. Assoc.81: 688-690

1970

Yetiser, S., Gerek, M., Ozkaptan, Y.

Elongated styloid process: diagnostic problems related to symptomatology.

Cranio. 15(3): 236-241

1997

Zeidler, D. Jr., Haber-Cohen, A.

Eagle syndrome.

Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 70(1): 129

1990

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

## **7. Lebenslauf**

### **Michael Gitt**

#### **Persönliche Daten:**

Geboren: 12. Juli 1974 in München  
Eltern: Dr. med. dent. Michael Rudolf Gitt, Zahnarzt  
Ingrid Renate Gitt, geb. Eichler, Sekretärin und Hausfrau  
Konfession: evangelisch  
Familienstand: verheiratet

#### **Schulbildung:**

1981 – 1985 Grundschule in der Pfarrer-Grimm-Str., München  
1985 – 1992 Louise-Schroeder-Gymnasium, München  
1992 – 1994 Obermenzinger Gymnasium, München  
1994 Abitur

#### **Studium der Zahnmedizin:**

1994 – 1997 Vorklinisches Studium an der Ludwigs-Maximilians-Universität in München  
1997 – 1999 Klinisches Studium an der LMU in München  
2000 Approbation

#### **Berufliche Laufbahn:**

2000 – 2001 Assistenzarzt in der Gemeinschaftspraxis Dr. Weingut, Norbert; Dr. Hartmann, Ulrich in Schrobenhausen  
2001 – 2001 Assistenzarzt in der Praxis Dr. Lechner, Sigrid, in Pfaffenhofen an der Ilm  
2001 – 2002 Assistenzarzt in der Praxis Dr. Zebuhr, Lothar, in Zolling  
2002 Assistenzarzt in der Praxis Dr. Feldt, Lothar in Dachau  
seit Okt. 2002 niedergelassen in der Gemeinschaftspraxis Dr. Michael Gitt; Michael Gitt jun. in Dachau



## **Danksagung**

Ich bedanke mich auf diesem Weg herzlich bei Allen, die mich auf meinem wissenschaftlichen und klinischen Werdegang begleitet und unterstützt haben.

Herrn Priv. Doz. Dr. S. Milz gilt mein herzlicher Dank für die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten, die Überlassung des Themas, die Einarbeitung in die experimentellen Untersuchungen, für seine stetig gewährte Hilfestellung, sowie für seine grenzenlose Geduld.

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. R. Putz möchte ich für die kritische Durchsicht der Arbeit danken.

Zu Dank verpflichtet bin ich dem Institut für chirurgische Forschung der LMU in Großhadern für das Überlassen der Primatenkadaver.

Unendlich dankbar bin ich meinen Eltern und Großeltern für deren jahrelange, liebevolle und grenzenlose Unterstützung, sowie für ihren unermüdlichen Glauben an mich während des Studiums im Allgemeinen und im Speziellen während der Erstellung dieser Arbeit.

Zum Abschluss widme ich diese wissenschaftliche Arbeit meiner lieben Ehefrau Susi, der ich für Ihre Liebe und Unterstützung täglich aufs Neue von ganzem Herzen Danke sagen möchte.