

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der makroskopischen Beurteilung bei der Explantation

Bei den Tieren, die mit dem autologen, osteochondralen Transfer behandelt wurden, zeigte sich nach drei Monaten Standzeit, dass alle Transplantate, abgesehen von einer Ausnahme, auf Niveau des Gelenkknorpels waren. Die Oberfläche des Transplantats erschien größtenteils glatt und glänzend. Das Bohrloch auf der Kondylenoberfläche war bei allen Tieren noch deutlich zu erkennen und ließ sich klar vom umliegenden Knorpel abgrenzen (Abb. 13A).

Der Leerdefekt war nur bei einem Tier bis auf Gelenkniveau aufgefüllt. Die restlichen ungefüllten Defekte enthielten Blutkoagel und Bindegewebe. Bei einem Tier war der Knorpel in der Umgebung des Defektes eingebrochen.

Nach sechs Monaten Standzeit erschien die Defektoberfläche bei einigen Tieren rau und stumpf. Bei einem Tier war die Defektoberfläche eines gefüllten Defektes bräunlich verfärbt. Auch nach sechs Monaten ließ sich das Transplantat deutlich vom umgebenden Knorpel abgrenzen.

Bei allen Leerdefekten war nach sechs Monaten ein Ansatz von Knorpelbildung zu beobachten. Diese Regenerat-Oberfläche erschien porzellanfarben und heller als der umgebende Knorpel. Der Knorpel hatte eine unregelmäßige Oberfläche und wies in einigen Präparaten Spalten und Risse auf (Abb. 13C).

Bei den Tieren, die mit den autologen Spongiosaclustern behandelt wurden, waren nach drei Monaten nur zwei der Defekte bis auf Niveau aufgefüllt, und bei einem dieser beiden war der umliegende Knorpel etwas eingebrochen. Die restlichen Defektfüllungen lagen knapp unter dem Niveau des umliegenden Knorpels (Abb. 13B). Bei keinem der behandelten Defekte konnten noch Reste der Kollagenmembran oder des Fibrinklebers nachgewiesen werden. Die Leerdefekte waren mit Blutkoageln und Bindegewebe gefüllt, bei einem der Defekte waren einige Knorpelinseln auf der Oberfläche zu erkennen.

Nach der Standzeit von sechs Monaten waren bei zwei Tieren sowohl der gefüllte Defekt als auch der Leerdefekt mit Blutkoageln und Bindegewebe gefüllt. Bei allen anderen Präparaten hatten sich auf dem Leerdefekt und auf dem aufgefüllten Defekt deutliche Knorpelinseln gebildet, die teilweise die ganze Defektoberfläche überzogen (Abb. 13D). Bei allen Defekten war die Oberfläche deutlich von der des umliegenden Knorpels abzugrenzen. Die Oberfläche des neu gebildeten Knorpels erschien rau mit Rissen und Spalten. Bei vier Tieren war etwas vermehrt Synovialflüssigkeit im Gelenk vorhanden.

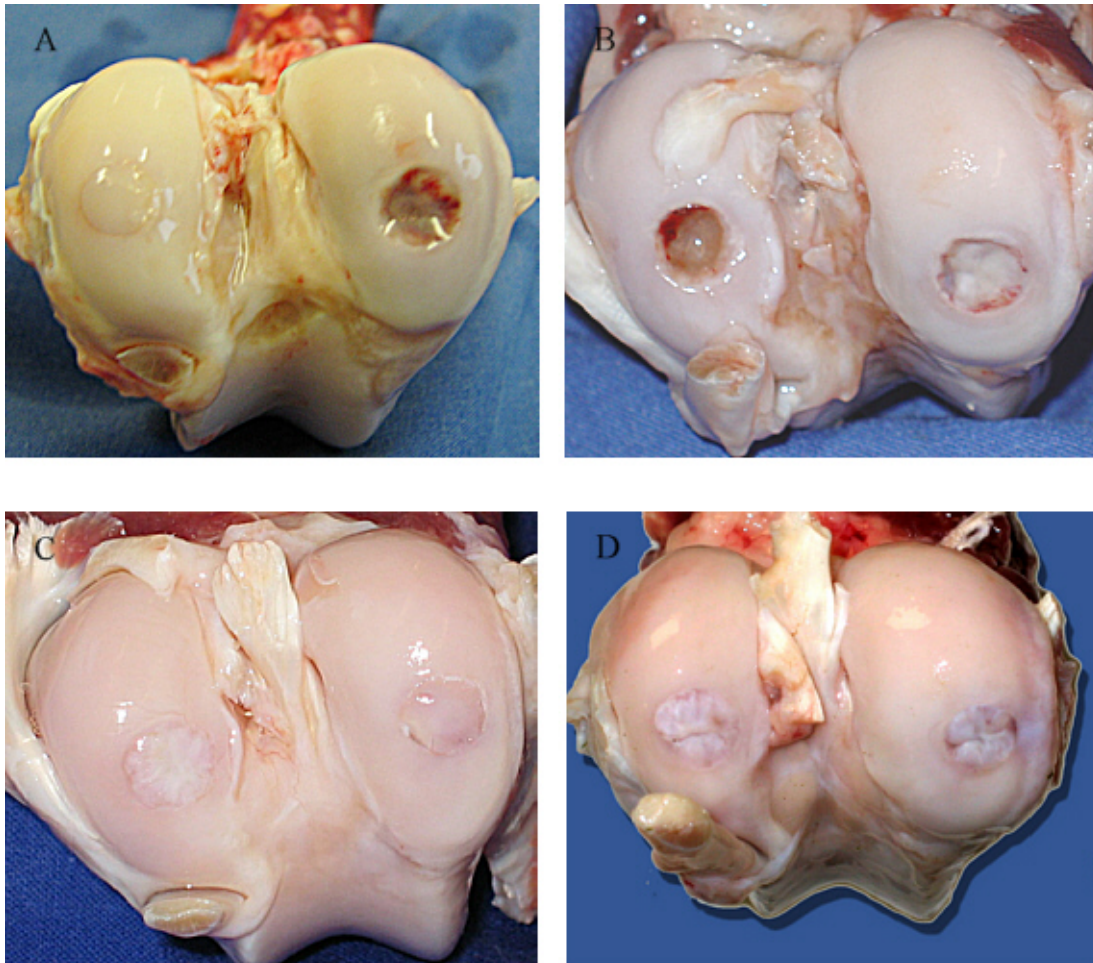


Abbildung 13: Auswahl an Präparaten nach der Explantation. Der Rollkamm (kranial) der Femurkondyle zeigt bei allen Photos nach unten.

A: Autologer, osteochondraler Transfer nach drei Monaten (links: aufgefüllter Defekt, rechts: Leerdefekt)

B: Autologe Spongiosacluster nach drei Monaten (links: Leerdefekt, rechts: aufgefüllter Defekt)

C: Autologer, osteochondraler Transfer nach sechs Monaten (links: Leerdefekt, rechts: aufgefüllter Defekt)

D: Autologe Spongiosacluster nach sechs Monaten (links: Leerdefekt, rechts: aufgefüllter Defekt)

4.2 Ergebnisse der Histologie

4.2.1 Ergebnisse der mikroskopischen Beurteilung

Autologer, osteochondraler Transfer

Zwölf Wochen nachdem der Defekt gesetzt wurde, war bei der Hälfte der Tiere im gefüllten Defekt die subchondrale Lamelle wieder völlig hergestellt. Allerdings erwies sich diese regenerierte subchondrale Lamelle als sklerosiert und verdickt. In zwei weiteren Präparaten war die subchondrale Lamelle noch leicht unterbrochen und ein Zylinder war eingesunken. In fünf von sechs Schnittpräparaten war im subchondralen Knochen eine zur Längsausrichtung des Knochens senkrechte Trabekelstruktur zu erkennen, wobei die Trabekel etwas verdickt erschienen (Abb. 14). In einem Präparat fand sich eine Stufe von ungefähr einem halben Millimeter, die allerdings schon intra operationem bestand. Drei Defekte in dieser Gruppe

wiesen mäßige Anreicherungen von Entzündungszellen aus. Bei drei Präparaten wurde in der Safranin-Orange-Färbung sichtbar, dass einige Bereiche im Knorpel schwächer angefärbt als das umgebende Knorpelgewebe waren. Bei nur einem einzigen Präparat fand sich ein kleiner positiv angefärbter Knorpelanteil im Knochengewebe.

Bei den Tieren mit sechs Monaten Standzeit befanden sich fünf von sechs Knorpel-Knochen-Zylindern noch an dem Ort, an den sie transplantiert wurden, bei einem Zylinder war die Hälfte der Knorpelschicht eingesunken. Bei diesem Präparat präsentierte sich die Trabekelstruktur sehr ungerichtet und aufgeweitet. Im unteren Defektbereich war Bindegewebe zu beobachten. Die anderen fünf Defekte besaßen eine senkrechte Trabekelstruktur und der Bohrkanal war kaum noch zu erkennen (Abb. 14). Beim überwiegenden Teil der Präparate war der subchondrale Knochen im Bereich des Zylinders und in dem umgebenden Gewebe verdickt und die Lumina waren etwas verengt. In einem Schnitt konnte im oberen Defektbereich, bei einem anderen Präparat im ganzen Defektbereich keine Lakune erkannt werden, da der Knochen so verdichtet war. Dagegen waren die Lumina in dem Knochen unterhalb des Defektes aufgeweitet. Die Knorpelschicht aller transplantierten Zylinder war erhalten, doch die Anfärbbarkeit mit Safranin-Orange war nur bei einem Präparat gleichmäßig und zufriedenstellend. Der Knorpel der restlichen fünf Zylinder wurde überhaupt nicht oder nur in Teilbereichen angefärbt. Auch hier gab es nur bei einem Präparat einen kleinen Knorpelanteil im Knochengewebe.

Leerdefekt der Gruppe des osteochondralen Transfers

Nach drei Monaten Standzeit waren zwei Leerdefekte nur geringfügig (Abb. 15), ein Leerdefekt war mit positiv angefärbtem Knorpelgewebe bis zur Knorpel-Knochen-Grenze gefüllt. Zwei Präparate wiesen eine dünne Knorpelschicht bzw. Knorpelinseln auf und nur ein Präparat war mit Knorpel und Knochen voll rekonstruiert. Allerdings stellte sich dieser voll rekonstruierte Knochen extrem dicht dar und die Lakunen waren im Vergleich zum nativen subchondralen Knochen enger. Dieses erwies sich als das einzige Präparat mit einer neu gebildeten, intakten subchondralen Lamelle. Der an die ungefüllten Defekte angrenzende Knochen war in der unmittelbaren Umgebung des Defektes und unterhalb des gesunden Knorpels stark verdickt und zeigte verengte Lakunen. In drei Präparaten war der Knorpel der intakten Gelenkfläche in der Safranin-Orange Färbung geringfügig weniger intensiv gefärbt. In einem dieser drei Schnitte zeigte sich ein kleiner Bereich am Rande des gesunden Knorpels, der gar nicht angefärbt wurde. In den anderen drei Schnitten war der Knorpel intensiv rot mit Safranin-Orange angefärbt. Bei vier Präparaten dieser Gruppe fand sich mehr oder weniger positiv angefärbtes Knorpelgewebe im Defektbereich.

Nach sechs Monaten Standzeit war ein operativ ungefüllter Defekt nur geringfügig mit Bindegewebe aufgefüllt. Der ursprüngliche Bohrkanal war fast noch vollständig erhalten und vollständig mit einer in die Tiefe ziehenden knorpeligen Schicht überzogen (Abb. 15). Ein

weiterer Defekt war bis zur Knorpel-Knochen-Grenze mit Knochen aufgefüllt. Ein Ansatz zur Trabekelbildung war bei diesem Präparat zu erkennen. Der gebildete Knochen erschien unstrukturiert, da die Trabekel nicht ausgerichtet waren und er enthielt noch Inseln von Bindegewebe. In der direkten Umgebung des Defektes war der Knochen geringfügig verdickt. Drei Präparate hatten eine intakte Knorpelschicht, die in zwei Proben intensiv und in einer etwas schwächer angefärbt war. Bei diesen drei Defekten hatte sich der obere Defektbereich mit mehr oder weniger senkrecht ausgerichtetem Knochen gefüllt und der untere Defektbereich war entweder leer oder mit Bindegewebe gefüllt. Knochen war in den unteren Bereichen nicht zu erkennen. In der Umgebung des Defektes zeigte sich bei allen drei Schnitten der Knochen geringfügig verdickt. Bei einem Defekt war eine fast vollständig geschlossene Knorpelschicht erkennbar, unter der sich ein Hohlraum gebildet hatte. Knochen war in der unmittelbaren Umgebung dieses Defektes nicht entstanden. Auch hier fand sich bei vier von sechs Präparaten positiv angefärbtes Knorpelgewebe im Knochenbereich.

Autologe Spongiosacluster

Nach drei monatiger Standzeit gab es einige Präparate, die Bindegewebe und Blutkoagel enthielten, ein Präparat, welches nur zur Hälfte aufgefüllt war (Abb. 14) und ein Präparat mit Knorpelinseln, die auf stark sklerosiertem Knochengewebe lagen. Bei einem anderen Defekt hatte sich an einer Defektseite etwas Knochengewebe mit aufliegendem Knorpelgewebe gebildet. In der Umgebung der Defekte war bei allen Präparaten der Knochen verdickt mit verengten Lumina. Bei zwei Präparaten waren die Lakunen unterhalb der Defekte stark erweitert.

Die Safranin–Orange Färbung färbte nur bei einem Präparat den umgebenden Knorpel intensiv rot an, bei allen anderen Präparaten war der Knorpel im Randbereich des Defektes schwach bis gar nicht angefärbt. Der auf nur einem einzigen Defekt neu gebildete Knorpel färbte sich überwiegend intensiv an, wies aber auch Bereiche auf, in denen er gar keine Farbe angenommen hatte. Es gab in dieser Gruppe nur ein Präparat mit kleinen Knorpelanteilen im Defektbereich (Abb. 14).

Nach der Standzeit von sechs Monaten waren drei von sechs Defekten mit einer Knorpelschicht überzogen, und bei zwei dieser Defekte war die subchondrale Lamelle wieder fast vollkommen hergestellt. Diese war in zwei Fällen etwas verdickt, aber es war im Knochenbereich kein Defekt mehr zu erkennen. Der Knorpel wies allerdings noch Spuren des Defektes auf. Die Knorpeloberfläche war unregelmäßig und aufgeraut. Im subchondralen Knochen fand sich bei drei Präparaten Knorpelgewebe. Der Knochen war sehr stark verdickt, es waren teilweise gar keine Lumina mehr vorhanden. Die anderen drei Defekte waren bis zur Knorpel-Knochen-Grenze teils mit Bindegewebe oder schon mit Knochen aufgefüllt. Es hatten sich auf einigen Defekten schon Knorpelinseln gebildet. Ein Defekt hatte eine große

Anzahl an Entzündungszellen und wies eine sehr unregelmäßige Struktur auf; Knochenbildung hatte in diesem Fall nicht stattgefunden. Die Färbung war in dieser Gruppe bei allen Schnitten etwas weniger intensiv (Abb. 14), und ein Präparat zeigte im Defektbereich und darüber hinaus im umgebenden Knorpel einen völlig ungefärbten Bereich. Bei drei Präparaten dieser Gruppe fand sich Knorpelgewebe im ursprünglichen Defektbereich.

Leerdefekt der Gruppe der Spongiosacluster

In dieser Gruppe gab es nach drei Monaten Standzeit nur zwei Defekte, die einen Ansatz zur Knorpelbildung zeigten. Die anderen Präparate waren noch mit Bindegewebe und Blutkoageln teilweise bis an die Knorpel-Knochen-Grenze gefüllt (Abb. 15). Allerdings hatte sich der Defekt bei einigen Tieren schon sehr verkleinert. Der Knochen in der direkten Umgebung des Defektes war bei den meisten Präparaten sehr verdickt und die Lakunen waren verengt. Die subchondrale Lamelle hatte sich bei fünf von sechs Tieren außerhalb des Defektes verdickt. Sie war bei keinem der Defekte wieder hergestellt. Die Safranin-Orange Färbung hatte in vier von sechs Fällen gleichmäßig intensiv angefärbt. Nur in zwei Defekten war der Knorpel etwas schwächer angefärbt und in einem sind einige Stellen am Rande des umgebenden Knorpels gar nicht angefärbt. In drei von sechs Präparaten war positiv angefärbtes Knochengewebe im subchondralen Knochen zu finden.

Nach der Standzeit von sechs Monaten war ein Defekt komplett mit einer Knorpelschicht überzogen. In der Mitte des Defektes zog ein kurzer Knorpelstrang in die Tiefe. Diese Knorpelschicht lag auf einer dünnen Schicht sehr dichten Knochens, darunter war der Bohrkanal hohl. Bei zwei Defekten hatte sich von den Seiten etwas Knorpel gebildet, bei dem es schien, als ob die Enden aufeinander zuwachsen, und der von einer Schicht trabekulärem Knochen gestützt wurde. Darunter allerdings bildete sich ein Hohlraum. Ein Defekt war von einer kompletten Knorpelschicht überzogen, die sehr unregelmäßig aussah und auch in die Tiefe zog. Unter dieser Knorpelschicht fand sich wieder eine Schicht sehr dichten Knochens und darunter dann Trabekel mit sehr kleinen Lumina. Zwei Defekte waren mit Bindegewebe bis zur Knorpel-Knochen-Grenze aufgefüllt und es konnten Anfänge der Knorpelbildung beobachtet werden (Abb. 15). Auffällig in dieser Gruppe war, dass der neu gebildete Knorpel in der Safranin-Orange Färbung intensiv rot angefärbt wurde, der neu gebildete Knochen extrem dicht war und sehr kleine bis gar keine Lumina besaß. In fünf von sechs Präparaten fand sich Knorpelgewebe im subchondralen Knochen.

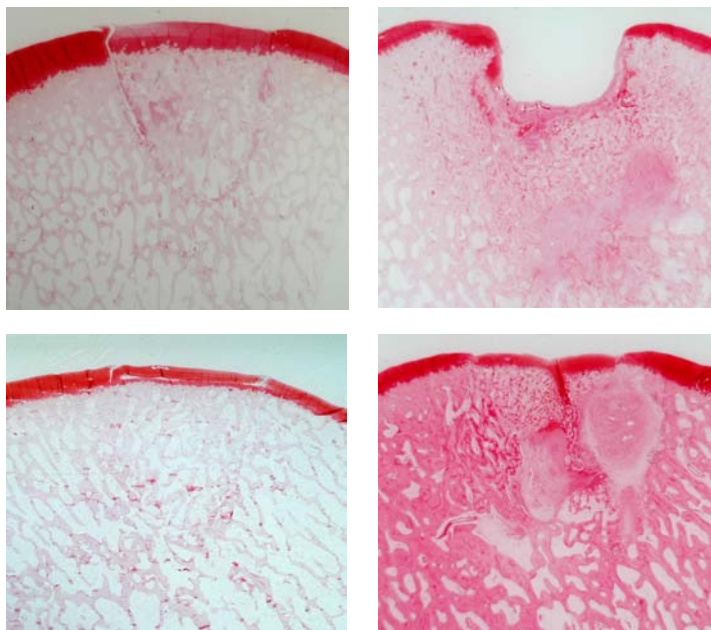


Abbildung 14: Gefüllter Defekt. Von links nach rechts: Autologer, osteochondraler Transfer; autologe Spongiosacluster. Oben: nach drei Monaten, unten: nach sechs Monaten.

Färbung: Safranin-Orange, links ist kranial

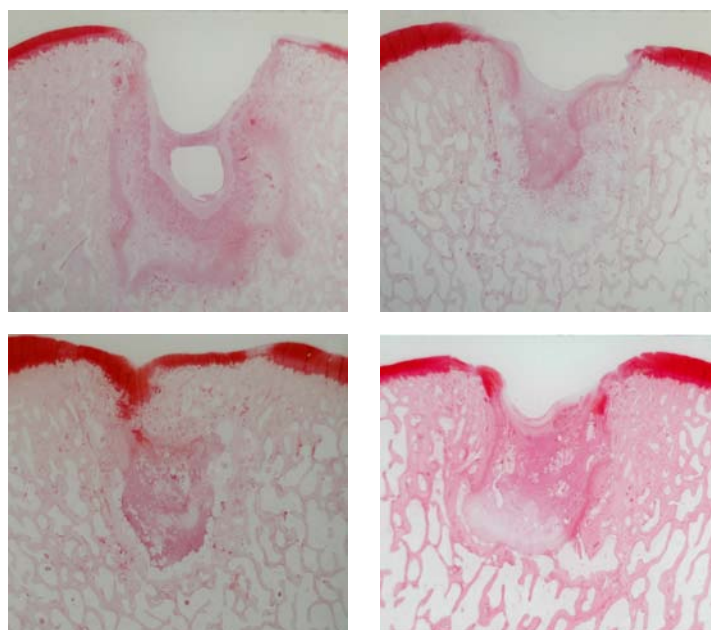


Abbildung 15: Leerdefekt. Von links nach rechts: Autologer, osteochondraler Transfer; autologe Spongiosacluster, Oben: nach drei Monaten, unten: nach sechs Monaten.

Färbung: Safranin-Orange, links ist kranial.

Zusammenfassend wurde beobachtet:

- Das Einheilungsverhalten der OCT-Tiere nach drei und sechs Monaten Standzeit war deutlich besser als das der SPC-Tiere.
- Die Leerdefekte beider Operationstechniken unterschieden sich kaum voneinander.
- Bei den OCT-Tieren war überwiegend eine senkrecht ausgerichtete Trabekelstruktur im gefüllten Defekt zu beobachten; während die Trabekel bei der SPC-Gruppe ungeordnet oder so verdickt waren, dass eine Ausrichtung nicht festgestellt werden konnte.

4.2.2 Osteoklasten

Die Anfärbung der Osteoklasten erfolgte durch eine TRAP-Färbung (Tartrat-resistent acid Phosphatase) (Abb. 16). Die ausgezählten Osteoklasten wurden auf die bildanalytisch berechnete Knochenfläche bezogen und auf 50 mm² hochgerechnet, damit die unterschiedlich großen ROIs miteinander verglichen werden konnten.

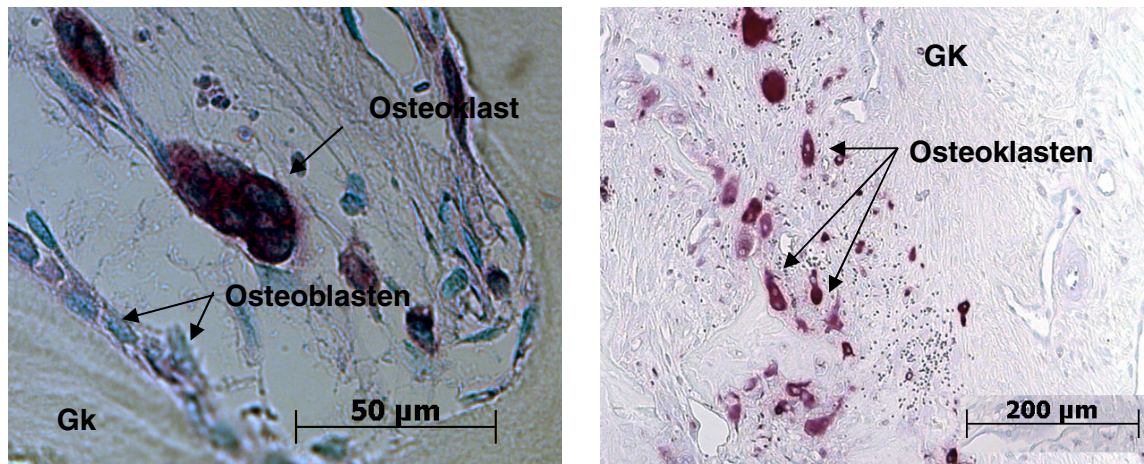


Abbildung 16: Rot angefärbte Osteoklasten und Osteoblasten im subchondralen Knochen, TRAP-Färbung, Gk= Geflechtknochen

Die Ergebnisse werden nun wie folgt beschrieben: Die Defekte wurden zwischen den Zeitpunkten verglichen, anschließend werden die Operationsmethoden und dann die Defekte untereinander verglichen. Zuerst wurden der Defektbereich (ROI 4) und dann die Randbereiche betrachtet. Die Mediane der auf das Knochengewebe bezogenen Zahlen und die dazugehörigen Streudiagramme werden hinter den entsprechenden Daten erwähnt und finden sich zusätzlich zusammen mit den absoluten Zahlen in Tabelle 7.

ROI4

Vergleich zwischen drei und sechs Monaten Standzeit

Insgesamt zeigten sich innerhalb der OCT-Gruppe deutliche Unterschiede im Zeitverlauf. Im gefüllten Defekt und im Leerdefekt waren bei der OCT-Gruppe nach drei Monaten viel mehr Osteoklasten vorhanden als in der Gruppe nach sechs Monaten. Der Unterschied war im gefüllten Defekt signifikant ($p=0,010$), während im Leerdefekt der Unterschied lediglich

deutlich ist ($p=0,055$). Die SPC-Tiere hatten bezüglich der Osteoklastenzahl weder im Leerdefekt noch bei dem gefüllten Defekt einen signifikanten Unterschied in den verschiedenen Standzeiten gezeigt (Füllung: $p=0,873$; Leerdefekt: $p=0,631$) (Tabelle 2).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate	274	337	178	58
6 Monate	32	121	167	68

Tabelle 2: Mediane der relativen Osteoklastenzahlen der beiden Operationsmethoden und der Leerdefekte in ROI 4.

OCT

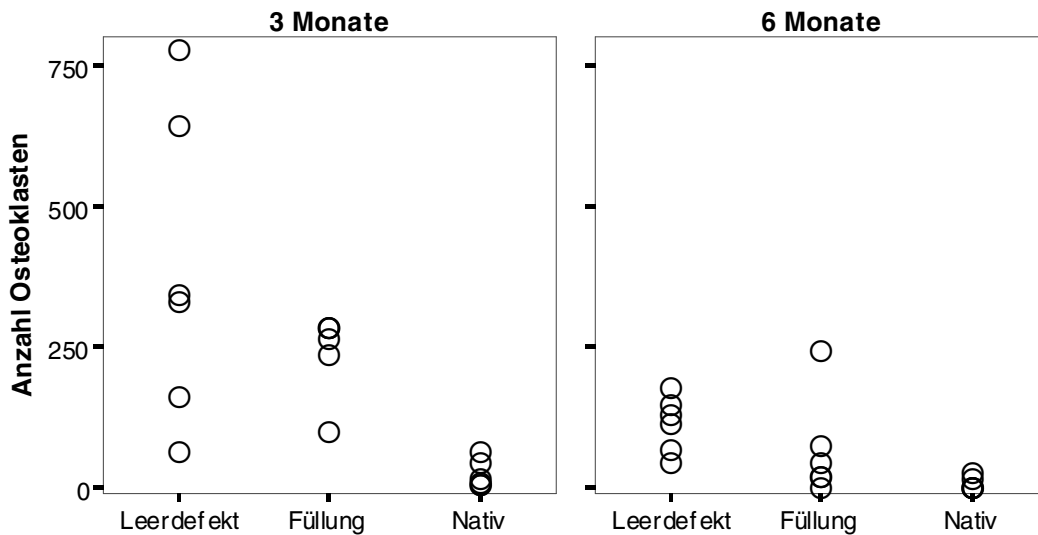


Abbildung 17: Graphische Darstellung der relativen Osteoklastenzahlen in der OCT-Gruppe nach drei und sechs Monaten

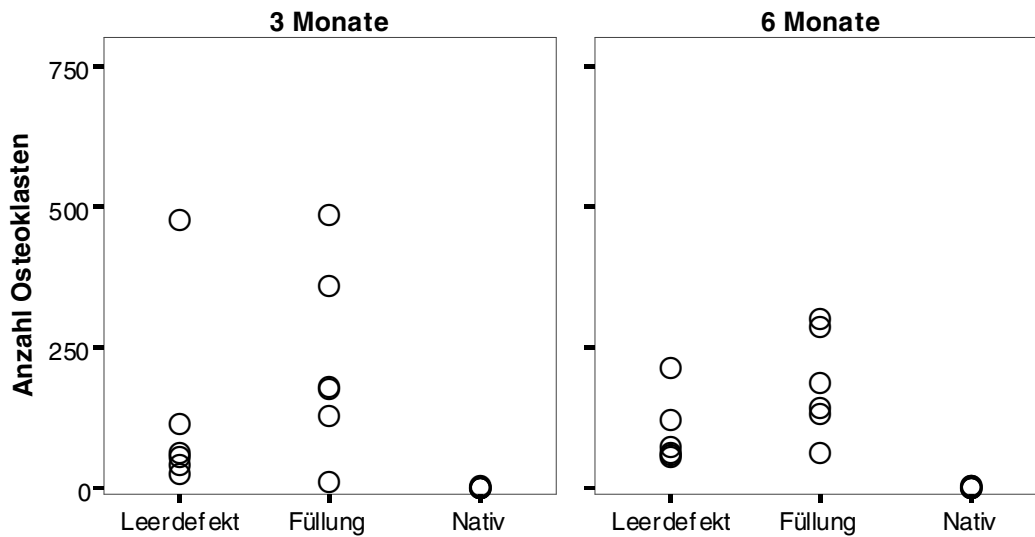
SPC

Abbildung 18: Graphische Darstellung der relativen Osteoklastenzahlen in der SPC-Gruppe nach drei und sechs Monaten

Vergleich zwischen den Operationstechniken

In den gefüllten Defekten konnten bei beiden Operationsmethoden viele Osteoklasten nachgewiesen werden. Bei beiden Gruppen war die Spannweite zwischen Minimal- und Maximalwert sehr groß. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen der OCT-Gruppe und der SPC-Gruppe nach drei Monaten ($p=0,631$), dafür aber nach sechs Monaten Standzeit ($p=0,037$).

Bei den Leerdefekten war es genau umgekehrt. Nach drei Monaten zeigten die OCT-Tiere signifikant mehr Osteoklasten ($p=0,037$) als die Spongiosacluster. Nach sechs Monaten unterschieden sich die Gruppen bezüglich der Osteoklastenzahl kaum ($p=0,522$). Insgesamt hatte die Osteoklastenzahl abgenommen (Tabelle 3).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate	274	337	178	58
6 Monate	32	121	167	68

Tabelle 3: Mediane der relativen Osteoklastenzahl zwischen OCT- und SPC-Gruppe im gefüllten Defekt und im Leerdefekt in ROI 4

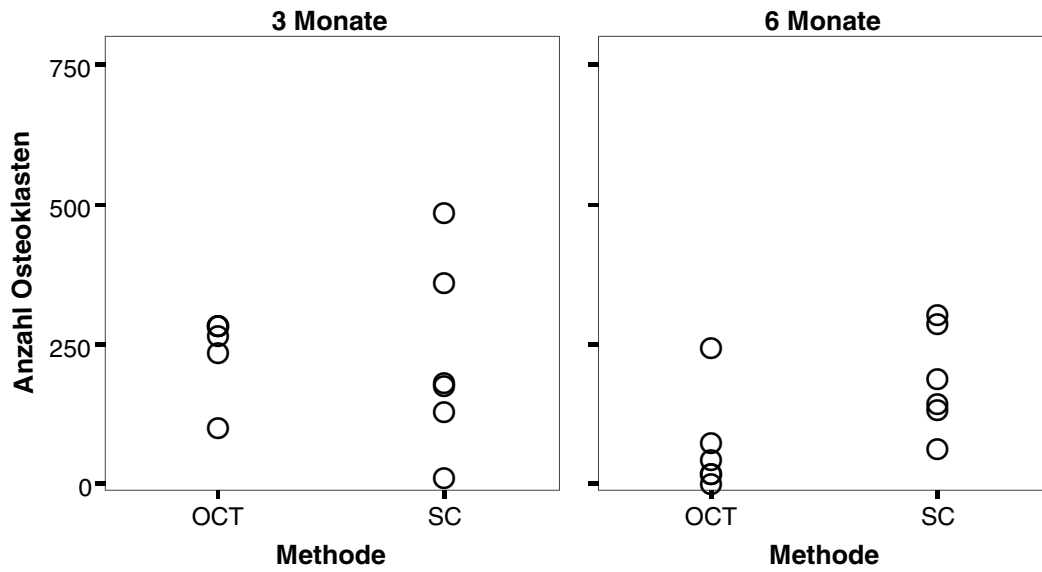
Füllung:

Abbildung 19: Graphische Darstellung der Osteoklastenzahl beider Operationstechniken in ROI 4 nach drei und sechs Monaten im gefüllten Defekt

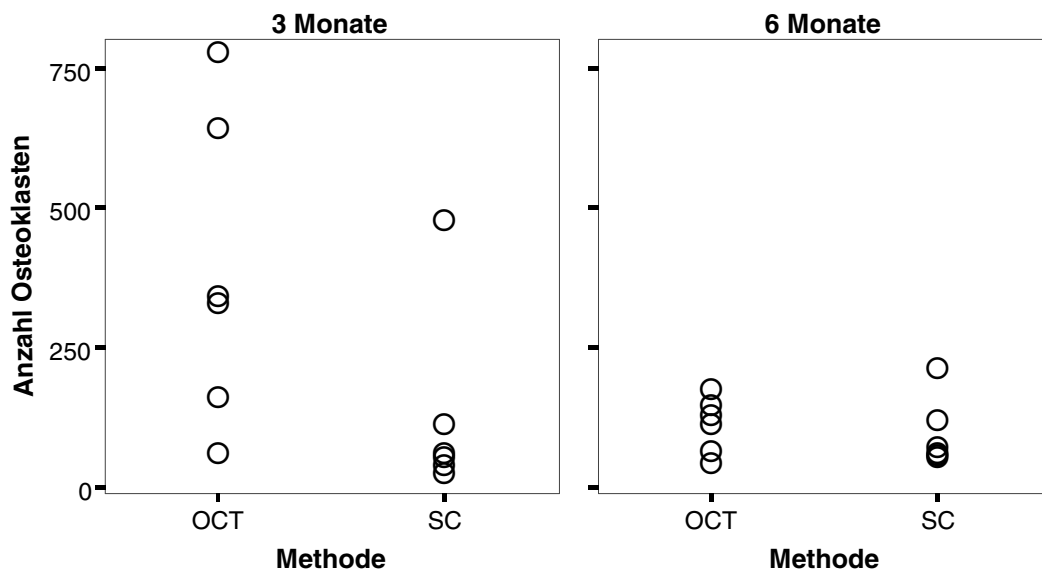
Leerdefekt:

Abbildung 20: Graphische Darstellung der Osteoklastenzahl beider Operationstechniken in ROI 4 nach drei und sechs Monaten im Leerdefekt

Randbereiche der Defekte

Vergleich zwischen drei und sechs Monaten Standzeit

An den Seiten der Defekte hatten die OCT-Tiere nach drei Monaten sowohl im Leerdefekt, als auch im gefüllten Defekt signifikant mehr Osteoklasten als die Tiere mit sechs Monaten Standzeit (Füllung: ROI 1: $p=0,01$; ROI 3: $p=0,004$; Leerdefekt: ROI 1: $p=0,006$; ROI 3: $p=0,004$), während die SPC-Tiere keinen signifikanten Unterschied zwischen der drei Monats-Gruppe und der sechs Monats-Gruppe aufwiesen (Füllung: ROI 1: $p=0,337$; ROI 3: $p=0,109$; Leerdefekt: ROI 1: $p=0,337$; ROI 3: $p=0,337$).

In der ROI 2 war bei den OCT-Tieren ein signifikanter Unterschied zwischen dem drei Monatszeitpunkt und dem sechs Monatszeitpunkt. Nach drei Monaten konnten signifikant mehr Osteoklasten gezählt werden als nach sechs Monaten ($p=0,010$). Dagegen unterschieden sich die Ergebnisse der SPC-Tiere nicht signifikant zwischen drei und sechs Monaten ($p=0,668$). Bei den unbehandelten Defekten waren nach sechs Monaten deutlich weniger Osteoklasten bei den OCT-Tieren vorhanden als nach drei Monaten ($p=0,006$). Die Leerdefekte der SPC-Gruppe unterschieden sich nicht signifikant zwischen drei und sechs Monaten ($p=0,749$) (Tabelle 4).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate				
ROI 1	70	84	66	7
ROI 2	68	134	55	4
ROI 3	75	122	123	18
6 Monate				
ROI 1	1	11	16	20
ROI 2	3	7	9	5
ROI 3	2	14	64	10

Tabelle 4: Mediane der relativen Osteoklastenzahlen in ROI 1-3 der beiden Operationsmethoden und der Leerdefekte nach drei und sechs Monaten.

Vergleich der Operationstechniken

Die Leerdefekte der OCT-Gruppe wiesen nach drei Monaten an den Seiten der Defekte signifikant mehr Osteoklasten auf, als die der SPC-Tiere (ROI 1: $p=0,004$; ROI 3: $p=0,010$). Nach sechs Monaten gab es diesbezüglich keinen Unterschied zwischen den Gruppen (ROI 1: $p=0,749$; ROI 3: $p=0,873$). Bei den gefüllten Defekten bestand nach drei Monaten weder in ROI 1 ($p=0,749$) noch in ROI 3 ($p=0,337$) ein signifikanter Unterschied. Dagegen ergab sich nach sechs Monaten ein signifikanter Unterschied in ROI 1 ($p=0,024$) und ROI 3 ($p=0,028$) zwischen den Operationsmethoden. Nach sechs Monaten wurden signifikant mehr Osteoklasten in der SPC-Gruppe gezählt.

In ROI 2 zeigte sich bei den behandelten Defekten kein signifikanter Unterschied in der Anzahl der Osteoklasten zwischen den Gruppen nach drei Monaten ($p=0,631$) und nach sechs Monaten Standzeit ($p=0,289$). Bei den Leerdefekten bestand in ROI 2 nach drei ($p=0,006$), aber nicht nach sechs Monaten ($p=0,522$) ein signifikanter Unterschied in der Osteoklastenzahl zwischen den Gruppen. Es waren nach drei Monaten signifikant mehr Osteoklasten bei der OCT-Gruppe vorhanden (Tabelle 5).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate				
ROI 1	70	84	66	7
ROI 2	68	134	55	4
ROI 3	75	122	123	18
6 Monate				
ROI 1	1	11	16	20
ROI 2	3	7	9	5
ROI 3	2	14	64	10

Tabelle 5: Mediane der relativen Osteoklastenzahlen in ROI 1-3 der beiden Operationsmethoden und der Leerdefekte

ROI 1

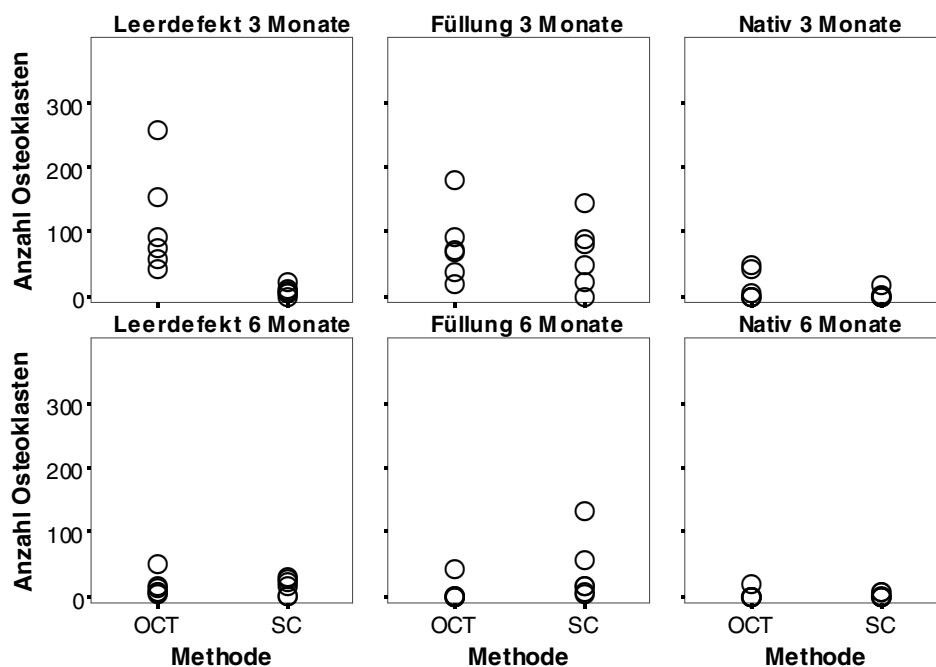


Abbildung 21: Graphische Darstellung der relativen Osteoklastenzahlen in ROI 1

ROI 2

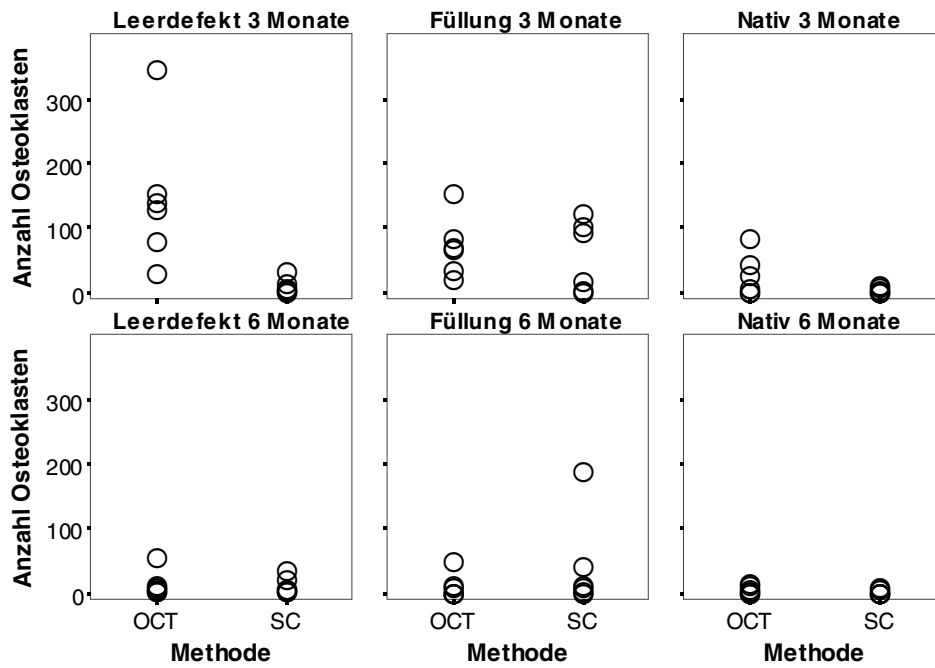


Abbildung 22: Graphische Darstellung der relativen Osteoklastenzahlen in ROI 2

ROI 3

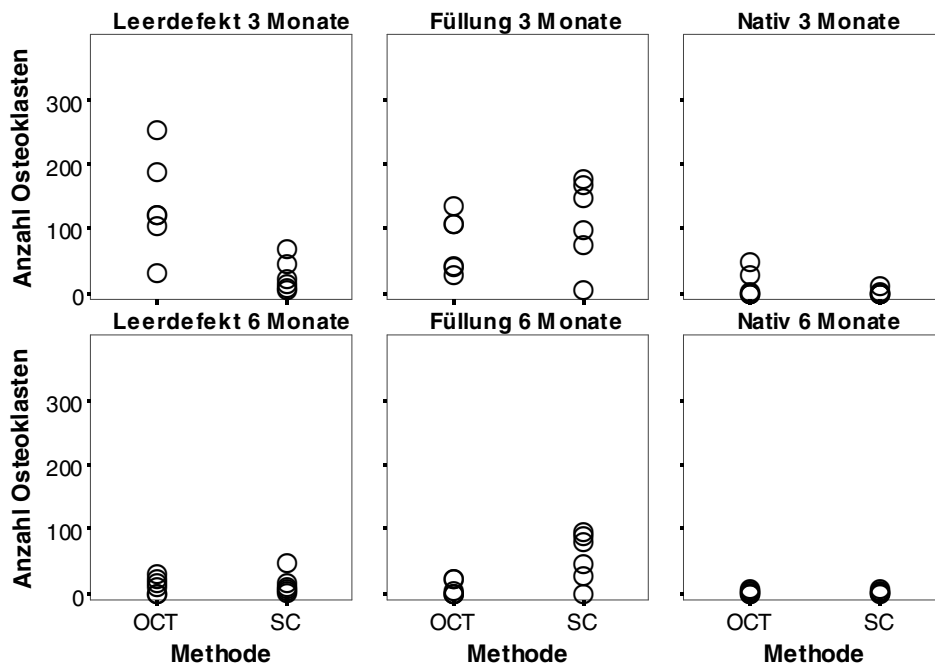


Abbildung 23: Graphische Darstellung der relativen Osteoklastenzahlen in ROI 3

Vergleich zwischen dem gefüllten und ungefüllten Defekt innerhalb einer Gruppe

Die SPC-Tiere wiesen nach drei Monaten Standzeit im gefüllten Defekt signifikant mehr Osteoklasten auf als im Leerdefekt ($p=0,046$). Ansonsten bestanden signifikante Unterschiede bei den OCT-Tieren und bei den SPC-Tieren in ROI 3 des Defektes. Bei den OCT-Tieren waren deutlich mehr Osteoklasten in dem Leerdefekt zu finden ($p=0,046$), während bei den SPC-Tieren mehr Osteoklasten in dem gefüllten Defekt vorhanden waren ($p=0,028$). In ROI 2 und ROI 4 bestanden keine signifikanten Unterschiede in der Osteoklastenzahl.

Nach sechs Monaten war ein Unterschied in ROI 1 in der OCT-Gruppe festzustellen. Der Leerdefekt enthielt mehr Osteoklasten, als der gefüllte Defekt ($p=0,028$). In ROI 3 bestand bei den SPC-Tieren immer noch ein signifikanter Unterschied nach sechs Monaten, allerdings hatten sich die Zahlen einander angenähert ($p=0,046$). In ROI 4 waren nach sechs Monaten bei den SPC-Tieren signifikant mehr Osteoklasten im aufgefüllten Defekt als im Leerdefekt ($p=0,028$) enthalten.

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate				
ROI 1	70	84	66	7
ROI 2	68	134	55	4
ROI 3	75	122	123	18
6 Monate				
ROI 1	1	11	16	20
ROI 2	3	7	9	5
ROI 3	2	14	64	10

Tabelle 6: Mediane der relativen Osteoklastenzahlen in ROI 1-3 der beiden Operationsmethoden und der Leerdefekte

Zusammenfassend wurde beobachtet:

- In der großen ROI 4 befanden sich bei beiden Operationsmethoden im gefüllten Defekt die meisten Osteoklasten bezogen auf die Knochenfläche.
- Sowohl in dem gefüllten Defekt als auch im Leerdefekt waren in der OCT-Gruppe zum frühen Zeitpunkt mehr Osteoklasten vorhanden als zum späten Zeitpunkt.
- Die SPC-Gruppe unterschied sich im gefüllten Defekt und im Leerdefekt nicht zu den beiden Zeitpunkten.
- Nach drei Monaten unterschieden sich die beiden Operationstechniken im gefüllten Defekt nicht in der Anzahl der Osteoklasten, nach sechs Monaten Standzeit war die Osteoklastenzahl in der OCT-Gruppe signifikant niedriger.

- In den Leerdefekten fanden sich nach drei Monaten signifikant weniger Osteoklasten in der SPC-Gruppe. Nach sechs Monaten unterschieden sich die Ergebnisse der Operationstechniken in den Leerdefekten nicht.
- An den Randbereichen und unterhalb des Defektes war kaum ein Unterschied in der Anzahl der Osteoklasten ersichtlich. Es gab nur einen signifikanten Unterschied zwischen der basalen und kaudalen ROI in der SPC-Gruppe bei dem gefüllten Defekt nach drei Monaten ($p=0,028$). Zusätzlich bestanden signifikante Unterschiede im Leerdefekt der Gruppe der Spongiosacluster nach drei Monaten. Die Unterschiede lagen zwischen dem kranialen und kaudalen Randgebiet ($p=0,046$) und zwischen dem basalen und kaudalen Randgebiet ($p=0,046$).

			OCT				Spongiosacluster			
		ROI	3Monate		6Monate		3Monate		6Monate	
			Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung
OK/Absolute Zahlen	ROI 1	Min	37	18	6	0	0	0	1	5
		Max	74	114	34	33	11	66	28	52
		Median	51	60	11	2	6	31	13	16
	ROI 2	Min	26	15	3	0	0	0	1	0
		Max	125	97	35	37	14	86	20	73
		Median	65	54	6	4	4	26	5	8
	ROI 3	Min	28	23	0	0	4	5	2	0
		Max	189	107	25	22	38	124	29	88
		Median	155	104	11	3	14	74	9	34
	ROI 4	Min	55	78	43	15	22	8	43	50
		Max	356	259	142	240	217	338	160	205
		Median	200	211	90	49	51	135	63	120
OK/ 50 mm ² Knochenfläche	ROI 1	Min	42	20	6	0	0	0	1	6
		Max	260	181	53	42	24	146	32	135
		Median	84	70	11	1	7	66	20	16
	ROI 2	Min	29	19	3	0	0	0	1	0
		Max	347	154	54	47	31	122	34	189
		Median	134	68	7	3	4	55	5	9
	ROI 3	Min	32	29	0	0	4	6	2	0
		Max	254	137	31	22	70	178	49	96
		Median	122	75	14	2	18	123	10	64
	ROI 4	Min	62	99	43	0	27	10	56	62
		Max	778	284	178	243	477	484	215	300
		Median	337	274	121	32	58	178	68	167

Tabelle 7: Mediane und Minimum- und Maximumwerte der Osteoklasten (OK) nach drei und sechs Monaten innerhalb der Gruppen

4.3 Ergebnisse der Immunhistochemie

4.3.1 Gefäße

Die Gefäßdarstellung erfolgte mit dem Antikörper gegen *α-smooth muscle actin*. Dieser Antikörper markiert die Zellen der glatten Muskulatur von Blutgefäßen, wodurch die angefärbten Zellen zeigten ein zytoplasmatisches Färbemuster (Abb. 30 und 31). Somit wurden Blutgefäße, die nur aus Endothel und Lumen bestanden, nicht angefärbt. Größere Gefäße, die eine Tunika media mit glatten Muskelzellen besaßen, wurden zuverlässig angefärbt. Es wurden alle angefärbten Gefäße innerhalb der ROI berücksichtigt, auf die Bindegewebsfläche in den Defekten bezogen und auf 10 mm² hochgerechnet. Die ROIs kranial und kaudal des Defektes wurden in der Bildanalyse zusammengefasst und auch weiterhin als eine Einheit betrachtet (ROI 1/3). Es wurde zwischen großen und kleinen Gefäßen unterschieden. Wie bei den Osteoklasten wurden zuerst die Zeitpunkte und die Operationsmethoden in ROI 4 beschrieben. Dasselbe erfolgte dann für die umgebenden ROIs. Eine Auflistung der Mediane der auf das Bindegewebe bezogenen Gefäße findet sich auch hier in Tabellen hinter den entsprechenden Daten und zusammen mit den absoluten Zahlen in Tabelle 12. Die Streudiagramme finden sich hinter den entsprechenden Daten.

ROI 4

Vergleich zwischen drei und sechs Monaten Standzeit

Es bestand kein signifikanter Unterschied in der Anzahl der kleinen und großen Gefäße bei den Leerdefekten der OCT-Gruppe (klein: $p=0,109$; groß: $p=0,262$). Die Leerdefekte der SPC-Gruppe hatten dagegen signifikant mehr kleine Gefäße nach sechs Monaten ($p=0,016$), während die Anzahl der großen Gefäße relativ konstant blieb ($p=0,262$). Bei den behandelten Defekten der OCT-Gruppe und der SPC-Tiere wurde zwischen den Zeitpunkten von drei und sechs Monaten kein Unterschied bezüglich der kleinen und großen Gefäße festgestellt. Die SPC-Gruppe hatte nach sechs Monaten eine deutliche Tendenz bei den kleinen Gefäßen. Es wurden nach sechs Monaten viel mehr kleine Gefäße ausgezählt (OCT: klein: $p=1,0$; groß: $p=0,414$; SPC: klein: $p=0,337$; groß: $p=0,078$) (Tabelle 8).

Standzeit/ Gruppe	OCT				SPC			
	Füllung		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt	
3 Monate	kl: 16	gr: 1	kl: 79	gr: 5	kl: 43	gr: 11	kl: 37	gr: 9
6 Monate	kl: 13	gr: 2	kl: 27	gr: 3	kl: 97	gr: 4	kl: 81	gr: 5

Tabelle 8: Mediane der relativen Gefäßzahlen der beiden Operationsmethoden und der Leerdefekte in ROI 4 nach drei und sechs Monaten.

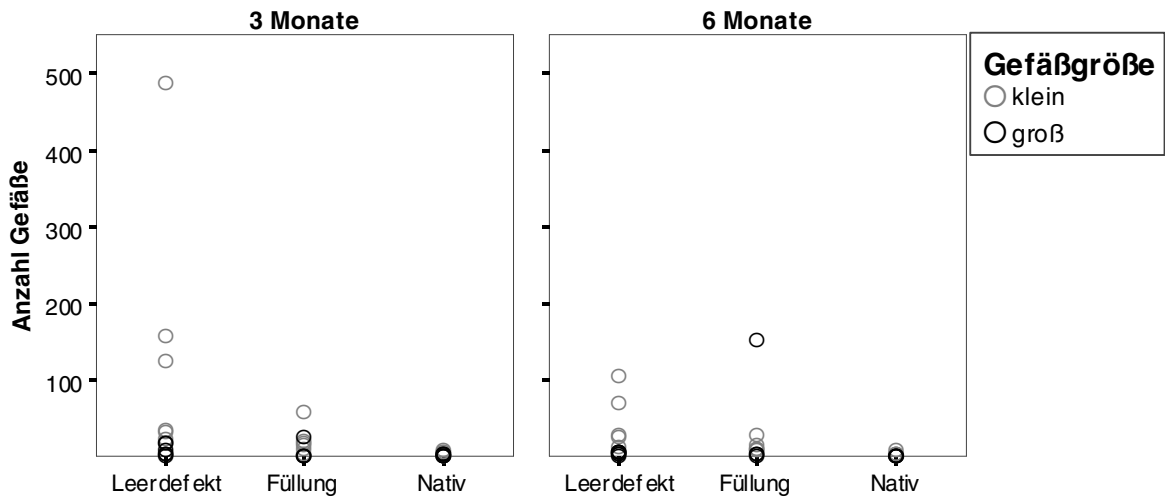
OCT

Abbildung 24: Graphische Darstellung der relativen Gefäßzahl in der OCT-Gruppe nach drei und sechs Monaten

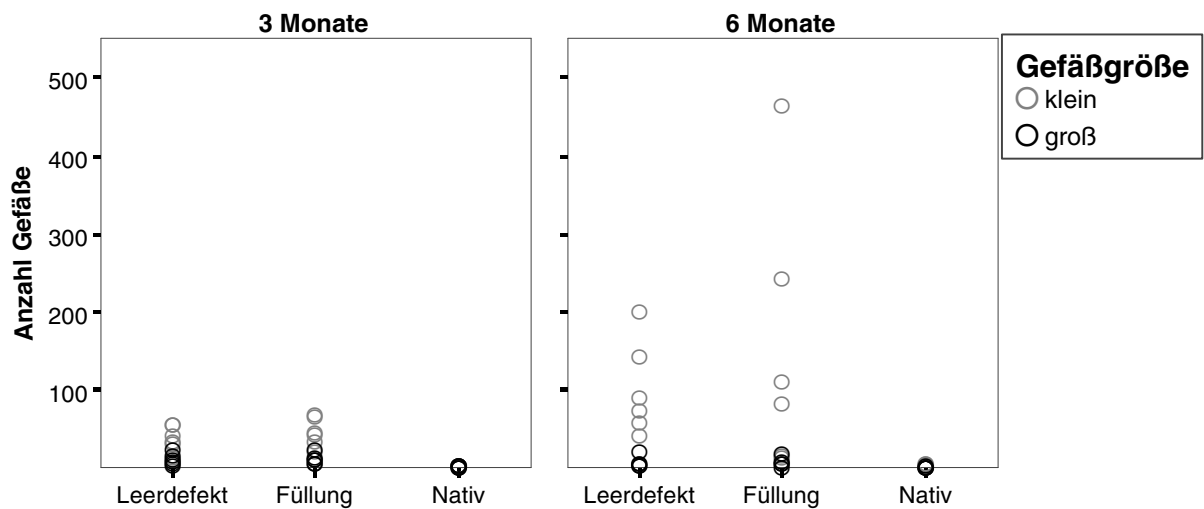
SPC

Abbildung 25: Graphische Darstellung der relativen Gefäßzahl in der SPC-Gruppe nach drei und sechs Monaten

Vergleich der Operationstechniken

Im Defektbereich unterschieden sich die beiden Operationsmethoden nach drei Monaten signifikant in der Anzahl der kleinen Gefäße ($p=0,025$). In der Gruppe der SPC-Tiere waren in dem Defekt deutlich mehr Gefäße zu finden als in der Gruppe der OCT-Tiere (Tabelle 9).

Hier waren bei drei Präparaten die Gefäße in der oberen Defekthälfte lokalisiert, denn der Defekt war in dem unteren Bereich bereits wieder mit trabekulärem Knochen und oben mit Bindegewebe und Blutkoageln gefüllt. Ein Präparat war schon mit Knochen aufgefüllt, der aber sehr verdichtet war. Die Gefäße waren hier über den ganzen Defekt verteilt in den sehr verengten Knochenlakunen (Abb. 31). Bei dem letzten Präparat befanden sich die meisten Gefäße an den Defekträndern und in dem unteren Bereich des Defektes. Direkt im Defektbereich waren bei der OCT-Gruppe bei drei Defekten die Gefäße in der oberen Hälfte zu finden, meistens direkt unter dem Knorpel. Bei den anderen Präparaten waren sie über den ganzen Defekt verteilt.

Nach sechs Monaten war kein signifikanter Unterschied zwischen den Operationstechniken bezüglich der Gefäßanzahl mehr vorhanden (klein: $p=0,150$; groß: $p=0,333$), obwohl der Median der SPC-Gruppe deutlich größer war als der der OCT-Gruppe.

Bei den OCT-Tieren mit sechs Monaten Standzeit waren bei zwei Proben die vorhandenen Gefäße oben im Defektbereich im sehr verdichteten Knochen und bei den anderen vier Präparaten waren die Gefäße überall im Defektbereich verteilt.

Bei SPC-Tieren waren bei vier Tieren die Gefäße überall verteilt und bei zwei Präparaten waren die Gefäße vermehrt in der bindegewebigen Füllung der oberen Hälfte des Defektes zu finden (Abb. 30).

In ROI 4 bestand kein Unterschied in der Anzahl der Gefäße im Leerdefekt zwischen den beiden Gruppen nach drei Monaten Standzeit (klein: $p=0,337$; groß: $p=0,522$). In der Gruppe der Leerdefekte der OCT-Tiere lagen die Gefäße bei zwei von sechs Präparaten in dem Gewebe direkt unter dem neu gebildeten Knorpel. Unten im Defektbereich waren wesentlich weniger, dafür aber größere Gefäße vorhanden. Bei den restlichen vier Proben bestand der Defekthalt noch aus unstrukturiertem Bindegewebe und Blutkoageln mit sehr vielen Gefäßanschnitten im ganzen Defektbereich.

In der Gruppe der Leerdefekte der SPC-Tiere waren zwei von sechs Proben komplett mit Bindegewebe gefüllt und die Gefäße im ganzen Defekt verteilt. Bei drei Präparaten waren die Blutgefäße vermehrt im oberen Bereich des Defektes zu finden. Ein Defekt hatte sich etwas weiter nach basal ausgedehnt. Die Gefäße fanden sich überall in der Defektregion.

Nach sechs Monaten Standzeit war ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Anzahl der Gefäße feststellbar. Allerdings enthielten die SPC-Tiere deutlich mehr kleine Gefäße, als die OCT-Gruppe ($p=0,055$).

Die Verteilung der Gefäße bei den Leerdefekten der OCT-Gruppe war sehr inhomogen. Bei zwei Präparaten war der Defekt noch hauptsächlich mit Bindegewebe gefüllt, und dort waren die Gefäße über den ganzen Defekt verteilt. Bei drei anderen Proben waren die Gefäße eher im oberen Defektbereich lokalisiert, entweder in sehr verdichteten Knochenlakunen oder in

der Bindegewebsfüllung. Ein Schaf hatte einen komplett rekonstruierten Knochen mit sehr wenigen Gefäßen, die gleichmäßig über den Defekt verstreut waren.

Die Ausbreitung der Gefäße in der Gruppe der Leerdefekte der Spongiosacluster war ebenfalls sehr unterschiedlich. Ein Defekt war komplett mit Bindegewebe aufgefüllt, aber die Gefäße waren vorwiegend in der oberen Defekthälfte vorhanden, ebenso ein weiterer Defekt, der in der oberen Defekthälfte noch Bindegewebe enthielt, aber unten schon Knochen rekonstruiert hatte. Auch hier waren die Gefäße vermehrt im oberen Defektbereich zu finden. Bei den vier anderen Tieren waren die Gefäße über den ganzen Defekt verteilt.

Standzeit/ Gruppe	OCT				SPC			
	Füllung		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt	
3 Monate	kl: 16	gr: 1	kl: 79	gr: 5	kl: 43	gr: 11	kl: 37	gr: 9
6 Monate	kl: 13	gr: 2	kl: 27	gr: 3	kl: 97	gr: 4	kl: 81	gr: 5

Tabelle 9: Mediane der relativen Gefäßzahlen der beiden Operationsmethoden und der Leerdefekte in ROI 4.

Füllung

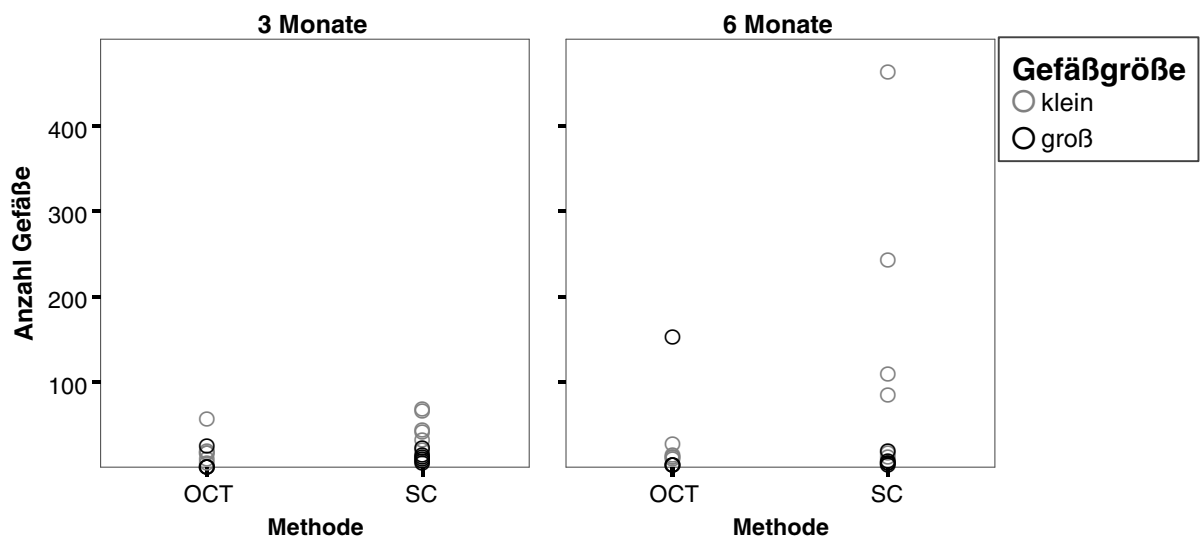


Abbildung 26: Graphische Darstellung der relativen Gefäßzahl nach drei und sechs Monaten im gefüllten Defekt.

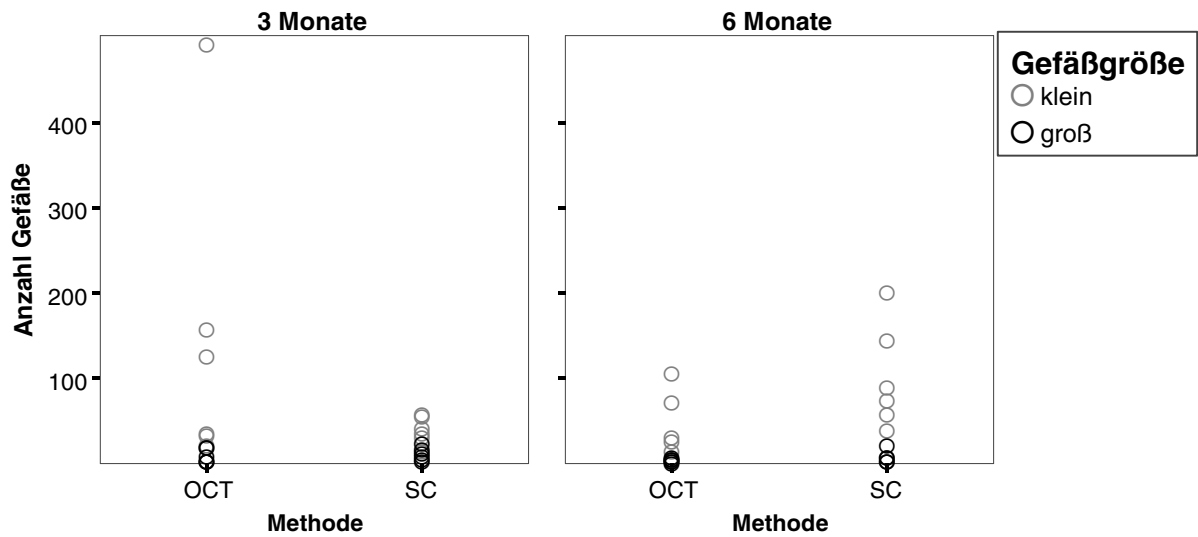
Leerdefekt

Abbildung 27: Graphische Darstellung der relativen Gefäßzahl nach drei und sechs Monaten im gefüllten Defekt.

Randbereiche der Defekte*Vergleich zwischen drei und sechs Monaten Standzeit*

Bei den Leerdefekten der OCT-Tiere war kein signifikanter Unterschied in einer der drei ROIs zwischen drei und sechs Monaten vorhanden. Die Gefäßanzahl veränderte sich mit dem Zeitverlauf nicht signifikant. Bei den Spongiosaclustern dagegen bestand ein signifikanter Unterschied bei den großen Gefäßen im Vergleich von drei und sechs Monaten in ROI 2. Nach sechs Monaten waren viel mehr große Gefäße vorhanden als nach drei Monaten ($p=0,016$). Bei den gefüllten Defekten ergab sich im Vergleich zwischen drei und sechs Monaten kein Unterschied in der Anzahl der kleinen und großen Gefäße in einer der ROIs (Tabelle 10).

Standzeit/ Gruppe	OCT				SPC			
	Füllung		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt	
3 Monate								
ROI 1/3	kl: 7	gr: 1	kl: 14	gr: 2	kl: 11	gr: 3	kl: 5	gr: 3
ROI 2	kl: 10	gr: 1	kl: 11	gr: 1	kl: 6	gr: 3	kl: 7	gr: 3
6 Monate								
ROI 1/3	kl: 5	gr: 1	kl: 5	gr: 1	kl: 8	gr: 3	kl: 5	gr: 1
ROI 2	kl: 4	gr: 1	kl: 7	gr: 1	kl: 4	gr: 1	kl: 8	gr: 2

Tabelle 10: Mediane der relativen Gefäßzahlen nach drei und sechs Monaten in den Randbereichen

Vergleich der Operationstechniken

Im Vergleich mit den SPC-Tieren enthielten die OCT-Tiere nach drei Monaten weniger Gefäße an den Seiten des gefüllten Defektes. Allerdings war die Differenz nur bei den großen Gefäßen signifikant ($p=0,006$). Die kleinen Gefäße unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen ($p=0,522$) in den Randbereichen. Ebenfalls unterhalb des Bohrkanals unterschieden sich OCT-Tiere und SPC-Tiere nur in der Anzahl der großen Gefäße ($p=0,016$), nicht bei den kleinen ($p=0,631$). Bei den Leerdefekten hatten die OCT-Tiere nach drei Monaten signifikant mehr kleine ($p=0,006$) Gefäße seitlich des Defektes als die SPC-Tiere. Die Anzahl der großen Gefäße unterschied sich kaum ($p=0,200$). Basal des Bohrkanals war es genau umgekehrt, die Anzahl der großen Gefäße unterschied sich zwischen den Gruppen signifikant ($p=0,025$), während die kleinen Gefäße sich in der Anzahl kaum zwischen den Gruppen unterscheiden ($p=0,078$). Nach sechs Monaten wich die Anzahl der Gefäße im Leerdefekt in keiner der ROIs signifikant voneinander ab. Bei den OCT-Tieren mit drei Monaten Standzeit unterschied sich die Anzahl der Gefäße innerhalb der ROIs am Rand kaum voneinander. Es konnten keine signifikanten Abweichungen zwischen ROI 1/3 und ROI 2 festgestellt werden (klein: $p=0,075$; groß: $p=0,463$). An beiden Seiten und unterhalb des Defektes sind bei allen Schafen mehr kleine als große Gefäße gezählt worden (ROI 1/3 und ROI 2: $p=0,028$). In der SPC-Gruppe konnte ebenfalls beobachtet werden, dass in allen ROIs signifikant mehr kleine als große Gefäße vorhanden waren (ROI 1/3: $p=0,043$; ROI 2 und ROI 4: $p=0,028$), und dass zwischen den Seiten des Defektes und der Region unterhalb des Bohrkanals keine Signifikanz in der Anzahl der Gefäße bestand (klein: $p=0,345$; groß: $p=0,249$). Nach sechs Monaten besaß die OCT-Gruppe an den Seiten des Defektes immer noch deutlich weniger große Gefäße als die SPC-Gruppe (klein: $p=0,109$; groß: $p=0,037$). Basal des Defektes und im Defekt selbst war kaum ein Unterschied zu beobachten (Tabelle 11).

Standzeit/ Gruppe	OCT				SPC			
	Füllung		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt	
3 Monate								
ROI 1/3	kl: 7	gr: 1	kl: 14	gr: 2	kl: 11	gr: 3	kl: 5	gr: 3
ROI 2	kl: 10	gr: 1	kl: 11	gr: 1	kl: 6	gr: 3	kl: 7	gr: 3
6 Monate								
ROI 1/3	kl: 5	gr: 1	kl: 5	gr: 1	kl: 8	gr: 3	kl: 5	gr: 1
ROI 2	kl: 4	gr: 1	kl: 7	gr: 1	kl: 4	gr: 1	kl: 8	gr: 2

Tabelle 11: Mediane der relativen Gefäßzahlen nach drei und sechs Monaten in den Randbereichen

Vergleich zwischen dem gefüllten und ungefüllten Defekt innerhalb einer Gruppe

Bei den kleinen Gefäßen bestand nach drei Monaten weder bei den mit dem autologen, osteochondralen Transfer behandelten Tieren noch bei denen, die mit den Spongiosaclustern versorgt wurden, eine Signifikanz zwischen dem gefüllten Defekt und dem Leerdefekt. In keiner der ROIs unterschied sich die Anzahl der kleinen Gefäße signifikant voneinander.

Nach sechs Monaten war in der OCT-Gruppe ein signifikanter Unterschied in ROI 2 zu erkennen. Der Leerdefekt enthielt erheblich mehr kleine Gefäße als der behandelte Defekt ($p=0,028$). Bei den SPC-Tieren unterschieden sich die Defekte in der Anzahl der Gefäße an den Seiten des Defektes. Beiderseits des Bohrkanals enthielt der Leerdefekt deutlich mehr kleine Gefäße als der gefüllte Defekt ($p=0,028$).

Bei den großen Gefäßen gab es nach drei Monaten keinen Unterschied zwischen Leerdefekt und behandeltem Defekt bei beiden Gruppen. Nach sechs Monaten waren auch bei der OCT-Gruppe kaum Unterschiede vorhanden, während bei den Leerdefekten der SPC-Gruppe seitlich des Bohrkanals signifikant mehr große Gefäße existierten.

Bei beiden Füllungen waren auch hier in allen ROIs deutlich mehr kleine als große Gefäße zu beobachten ($p=0,028$).

ROI 1/3

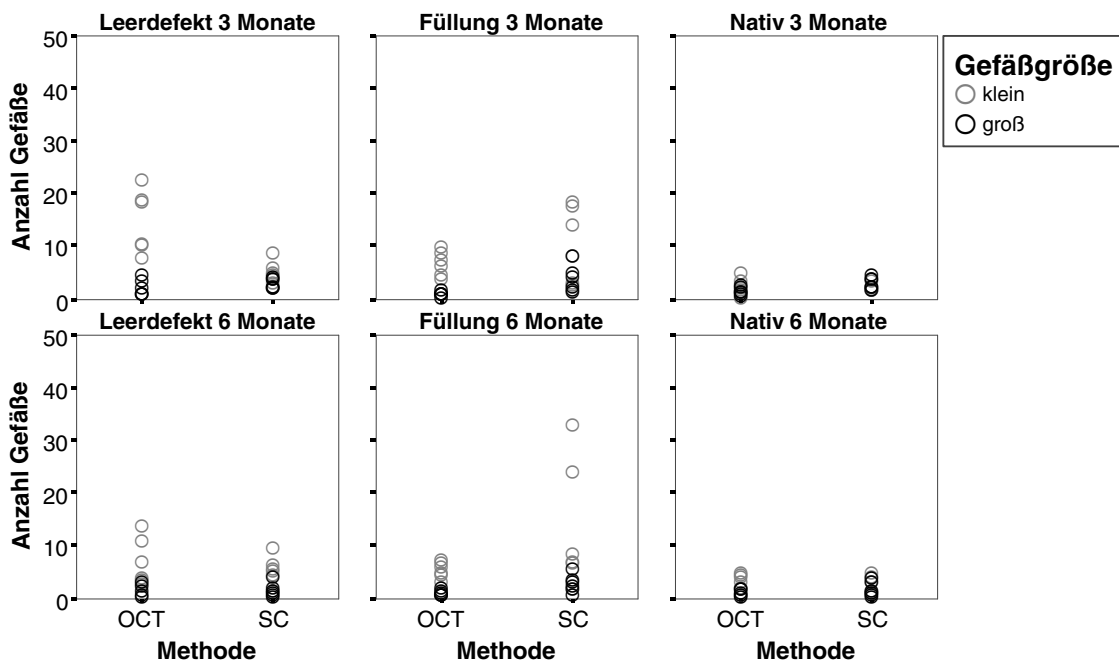


Abbildung 28: Graphische Darstellung der relativen Gefäßzahl in ROI 1/3

ROI 2

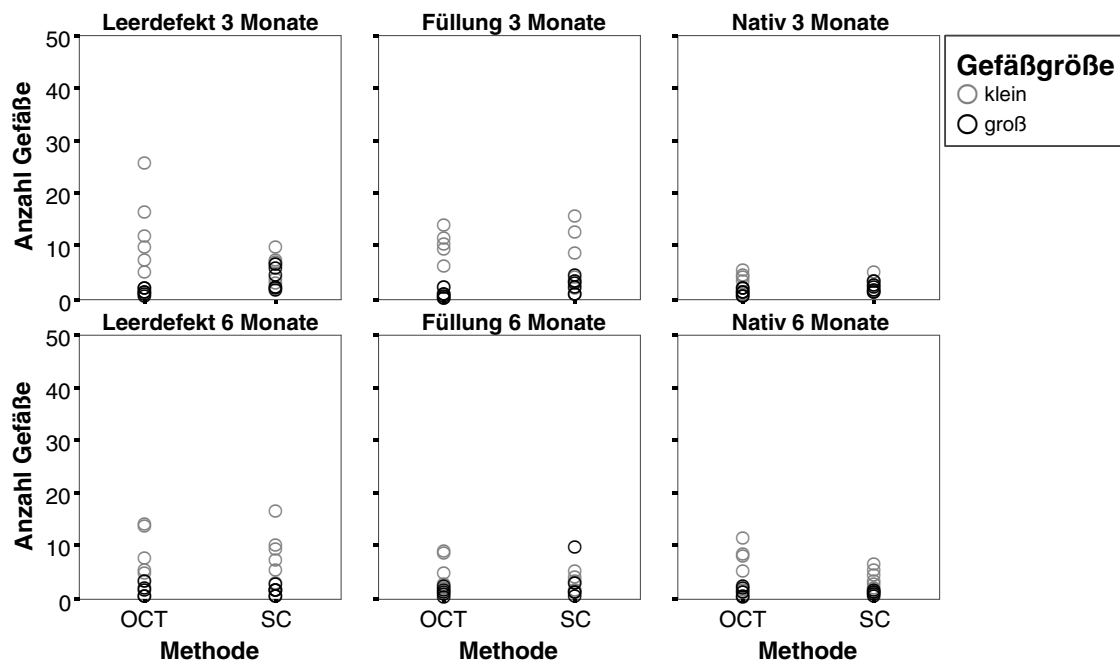


Abbildung 29: Graphische Darstellung der relativen Gefäßzahl in ROI 2

Zusammenfassend wurde beobachtet:

- Es wurden bei beiden Operationstechniken sowohl im Leerdefekt als auch im gefüllten Defekt in allen ROIs signifikant mehr kleine als große Gefäße gezählt.
- Sowohl nach drei als auch sechs Monaten Standzeit waren absolut und relativ in ROI 4 am meisten Gefäße vorhanden.
- Zu beiden Zeitpunkten unterschieden sich die gefüllten Defekte beider Operationstechniken nicht signifikant.
- Es bestand keine Homogenität in der Lokalisation der Gefäße bei beiden Gruppen.
- Nach drei und nach sechs Monaten enthielten die Tiere der SPC-Tiere deutlich mehr kleine und große Gefäße als die der OCT-Gruppe.
- Die Anzahl der Gefäße in den Leerdefekten unterschied sich nach drei Monaten nicht signifikant, allerdings hatte die SPC-Gruppe nach sechs Monaten mehr kleine Gefäße als nach drei Monaten.
- Es gab bei keiner der beiden Operationstechniken einen Unterschied in der Anzahl der großen Gefäße im Vergleich von gefülltem Defekt und Leerdefekt nach drei Monaten.

- Nach sechs Monaten besaß die OCT-Gruppe deutlich mehr kleine Gefäße im Leerdefekt in ROI 2, während die SPC-Gruppe signifikant mehr kleine und große Gefäße in ROI 1/3 im Leerdefekt aufwies.
- Nur in der SPC-Gruppe in ROI 4 waren nach drei ($p=0,028$) und nach sechs Monaten ($p=0,043$) signifikant mehr große Gefäße im gefüllten Defekt im Vergleich mit der gesunden Kondyle enthalten.
- Im Leerdefekt waren bei beiden Gruppen nach drei (OCT: $p=0,028$; SPC: $p=0,028$) und sechs Monaten (OCT: $p=0,028$; SPC: $p=0,046$) signifikant mehr große Gefäße in ROI 4 als bei der gesunden Kondyle vorhanden. In den umgebenden ROIs unterschied sich die Anzahl nicht.

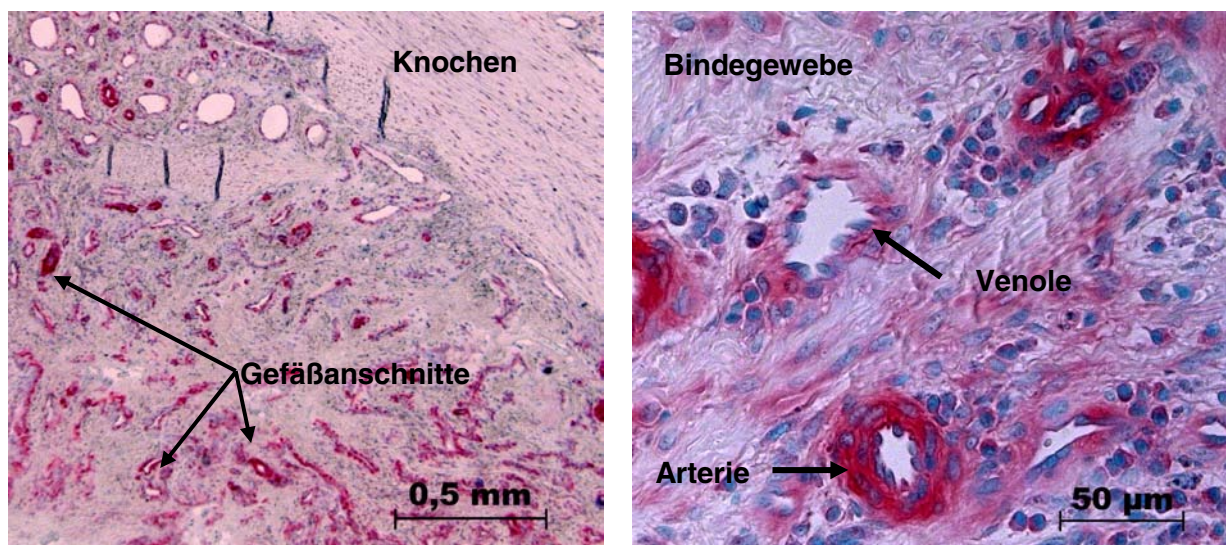


Abbildung 30.: Gefäßanschnitte im Bindegewebe im Defektbereich. Färbung α -SMA

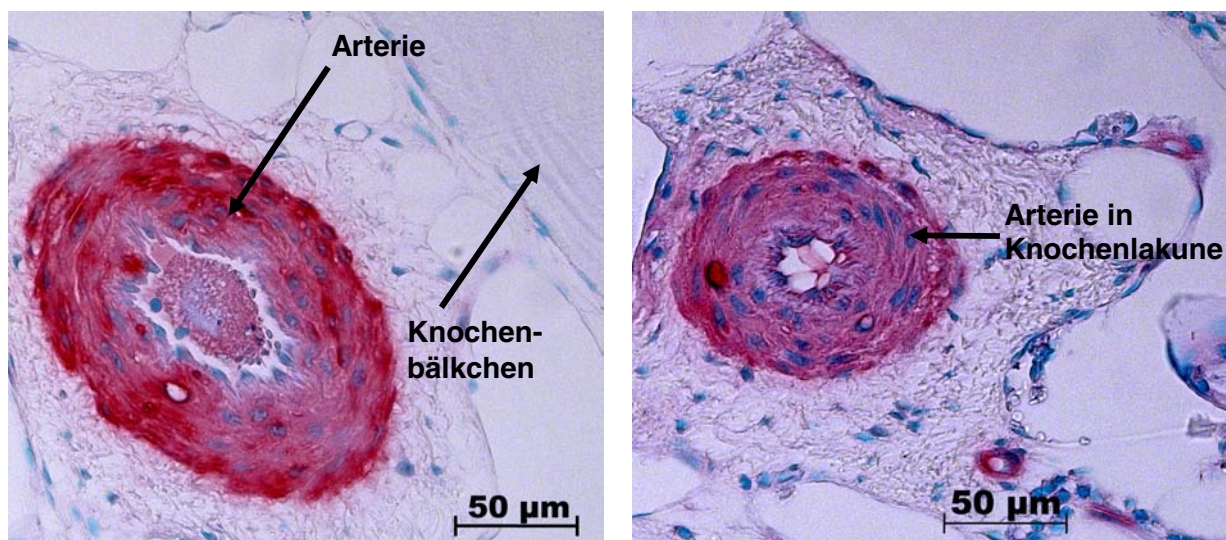


Abbildung 31: Positiv rot angefärbte Gefäßanschnitte im defektnahen Markraum. Färbung α -SMA

Anzahl Gefäße		OCT								Spongiosacluster								
		3 Monate				6 Monate				3 Monate				6 Monate				
		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt		Füllung		Leerdefekt		Füllung		
		Klein	Groß	Klein	Groß	Klein	Groß	Klein	Groß	Klein	Groß	Klein	Groß	Klein	Groß	Klein	Groß	
Absolut	ROI 1/3	Min	42	4	20	2	12	0	16	2	12	9	15	9	10	1	5	2
		Max	78	15	36	6	46	10	37	7	44	23	86	27	52	17	59	14
		Median	59	7	31	4	28	4	32	5	21	15	43	15	22	5	25	10
	ROI 2	Min	18	1	7	1	17	0	5	0	11	5	7	3	15	1	3	0
		Max	51	7	33	7	32	6	27	6	23	20	34	10	79	8	81	12
		Median	30	4	26	2	20	4	9	3	19	8	20	8	20	5	8	3
	ROI 4	Min	55	4	9	0	15	1	14	0	39	7	48	14	50	0	27	0
		Max	359	23	117	50	143	10	56	12	109	29	217	74	282	19	373	19
		Median	110	10	26	2	49	5	32	3	71	15	90	23	211	11	163	10
pro [10 mm ²] Bindegewebe	ROI 1/3	Min	8	1	4	0	3	0	3	0	2	2	3	1	1	0	1	1
		Max	22	4	10	2	14	3	7	2	9	4	18	8	9	4	33	6
		Median	14	2	7	1	5	1	5	1	5	3	11	3	5	1	8	3
	ROI 2	Min	5	0	2	0	3	0	2	0	3	2	2	1	3	0	1	0
		Max	26	2	14	2	14	3	9	2	10	6	16	5	16	3	66	10
		Median	11	1	10	1	7	1	4	1	7	3	6	3	8	2	4	1
	ROI 4	Min	22	2	4	0	6	1	9	0	13	2	21	5	40	0	13	0
		Max	489	18	57	24	104	6	709	152	56	23	67	22	200	21	462	17
		Median	79	5	16	1	27	3	13	2	37	9	43	11	81	5	97	4

Tabelle 12: Mediane und Minimum- und Maximumwerte der absoluten und der auf das Bindegewebe bezogenen Zahlen

4.3.2 Ergebnisse der Bildanalyse

Anhand der Kollagen I und Kollagen II gefärbten Schnitte wurden in der Bildanalyse prozentuale Mittelwerte der Gewebeanteile berechnet. Diese Mittelwerte sind als Balkendiagramme dargestellt und finden sich mit den Minimal-, Maximalwerten und dem Median in Tabelle 16.

Nach drei Monaten war die nicht aufgefüllte Fläche der Füllung bei den OCT-Tieren sehr ähnlich der gesunden Kondyle ($p=0,345$), während die Leerfläche des Leerdefektes signifikant größer war als die des gefüllten Defektes und der nativen Kondyle (Füllung:

$p=0,028$; nativ: $p=0,028$). Nach sechs Monaten unterschied sich der Auffüllungsgrad beim gefüllten Defekt und bei dem nativen Kondylus kaum ($p=0,116$). Der Leerdefekt war im Vergleich mit den Leerdefekten nach drei Monaten mehr aufgefüllt und der Median hatte sich auch wieder in die Richtung der Füllung und der gesunden Kondyle verändert. Der Leerdefekt besaß aber immer noch signifikant mehr Leerfläche als die Füllung und die gesunde Kondyle (Füllung= $0,028$; nativ: $p=0,028$). Die SPC-Tiere hatten nach drei Monaten im Vergleich zu der nativen Kondyle in dem Leerdefekt und dem gefülltem Defekt eine sehr große nicht aufgefüllte Fläche. Zwischen gefülltem Defekt und dem Leerdefekt bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,917$). Beide Flächen wichen jedoch signifikant von der gesunden Kondyle ($p=0,028$) ab. Der Auffüllungsgrad der Leerdefekte der SPC-Gruppe nach drei Monaten unterschied sich nicht von den Leerdefekten der OCT-Tiere ($p=0,631$), während die gefüllten Defekte bei den OCT-Tieren signifikant mehr gefüllt waren als bei den SPC-Tieren ($p=0,010$). Nach sechs Monaten war im Vergleich zu drei Monaten Heilungszeit bei der SPC-Gruppe die Leerfläche der Füllung signifikant kleiner ($p=0,037$). Der Leerdefekt der SPC-Gruppe zum 6-Monatszeitpunkt war gleich aufgefüllt wie zum 3-Monatszeitpunkt ($p=0,522$), allerdings signifikant geringer als der gefüllte Defekt ($p=0,046$) und die native Kondyle ($p=0,028$) nach sechs Monaten. Der Auffüllungsgrad der Leerdefekte unterschied sich innerhalb der Gruppen kaum. Sowohl bei den OCT-Tieren, als auch in der SPC-Gruppe hatten sich die Leerdefekte relativ wenig gefüllt und unterschieden sich nicht signifikant ($p=0,337$). Während bei den OCT-Tieren die gefüllten Defekte zu beiden Zeitpunkten gleich waren ($p=0,749$), zeigten die gefüllten Defekte der SPC-Gruppe nach sechs Monaten signifikant weniger Leerfläche ($p=0,037$) als nach drei Monaten, waren aber trotzdem deutlich weniger gefüllt als die der OCT-Tiere ($p=0,055$) (Tabelle 13).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate	4	19	16	13
6 Monate	3	15	6	19

Tabelle 13: Mediane der bildanalytisch berechneten Leerfläche im Defektbereich nach drei und sechs Monaten

Der prozentuale Anteil von Kollagen I an der Defektfläche stellte den Anteil des neu gebildeten Knochens im Defektbereich dar. Da nur der Knochen Kollagen I enthielt, hat das Bildbearbeitungsprogramm nur den mineralisierten Knochen berechnet, nicht jedoch die Knochenlakunen.

Die Fläche an neu gebildetem Knochen variierte bei den Leerdefekten bei beiden Gruppen sowohl nach drei, als auch nach sechs Monaten nicht signifikant. Die Knochenfläche des

gefüllten Defektes bei den OCT-Tieren war weder nach drei Monaten ($p=0,078$) noch nach sechs Monaten ($p=0,200$) signifikant größer als bei den SPC-Tieren, unterschied sich aber signifikant von dem Knochenanteil des nativen Gelenks (3 Monate: $p=0,046$; 6 Monate: $p=0,028$). Im Vergleich mit den Leerdefekten hatten die gefüllten Defekte der OCT-Gruppe nach drei ($p=0,028$) und nach sechs Monaten ($p=0,046$) signifikant mehr Knochenfläche. Bei der SPC-Gruppe unterschieden sich die Leerdefekte und gefüllten Defekte bezüglich der Knochenfläche zu keinem Zeitpunkt signifikant (3 Monate: $p=0,463$; 6 Monate: $p=0,753$). Bei dieser Gruppe war ebenfalls kein signifikanter Unterschied in dem Knochenanteil zwischen dem gefüllten Defekt und dem gesunden Gelenk feststellbar (3 Monate: $p=0,917$; 6 Monate: $p=0,249$) (Tabelle 14).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt
3 Monate	56	48	48	50
6 Monate	61	52	54	46

Tabelle 14: Mediane des bildanalytisch berechneten Kollagen I Anteils im Defektbereich nach drei und sechs Monaten

Der prozentuale Anteil an Kollagen II war stellvertretend für den Anteil an neu gebildeten bzw. transplantierten hyalinen Knorpel. Der Knorpelanteil der OCT-Tiere war nach drei und sechs Monaten sowohl im gefüllten Defekt, im Leerdefekt als auch im gesunden Gelenk fast gleich groß. Es gab keine signifikanten Unterschiede in der Zeit und zwischen den Defekten bezüglich des Kollagen II- Anteils. Die Knorpelfläche der Tiere, deren Defekte mit Spongiosaclustern behandelt wurden, war bei der Füllung nach drei Monaten signifikant kleiner als bei den gefüllten Defekten der OCT-Gruppe ($p=0,025$), den gefüllten Defekten der SPC-Gruppe nach sechs Monaten ($p=0,016$), sowie dem nativen Knorpel nach drei Monaten. Nach sechs Monaten hatte sich der Knorpelanteil bei der SPC-Gruppe in dem gefüllten Defekt deutlich erhöht und unterschied sich nicht mehr von dem Knorpelanteil der OCT-Tiere ($p=0,522$). Der Knorpelanteil differierte zwischen Leerdefekt und gefülltem Defekt in beiden Gruppen zu keiner der beiden Standzeiten (SPC: 3 Monate: $p=0,463$; 6 Monate: $p=0,345$; OCT: 3 Monate: $p=0,345$; 6 Monate: $p=0,917$) (Tabelle 15).

Standzeit/ Gruppe	OCT		SPC	
	Füllung	Leerdeft	Füllung	Leerdeft
3 Monate	12	9	4	4
6 Monate	10	11	13	9

Tabelle 15: Mediane des bildanalytisch berechneten Kollagen II Anteils im Defektbereich nach drei und sechs Monaten

Der restliche Anteil der Defekte, wie Bindegewebe und Knochenlakunen wurden hier als undefinierter Rest bezeichnet.

Zusammenfassend kann für die Ergebnisse der Bildanalyse festgestellt werden, dass:

- der anhand der Leerfläche gemessene Auffüllungsgrad der SPC-Gruppe im gefüllten Defekt nach drei Monaten deutlich unter dem der OCT-Gruppe lag.
- sich nach sechs Monaten die SPC-Gruppe in den einzelnen Gewebeanteilen des aufgefüllten Defektes stark dem der OCT-Gruppe angenähert hatte.
- weder nach drei noch nach sechs Monaten signifikante Unterschiede zwischen Leerdeft und gefülltem Defekt bezüglich des Kollagen II Anteils in beiden Gruppen bestanden.
- sich in den nativen Präparaten die Gewebeanteile kaum voneinander unterschieden.

Es folgt die Darstellung der Parameter als Balkendiagramme.

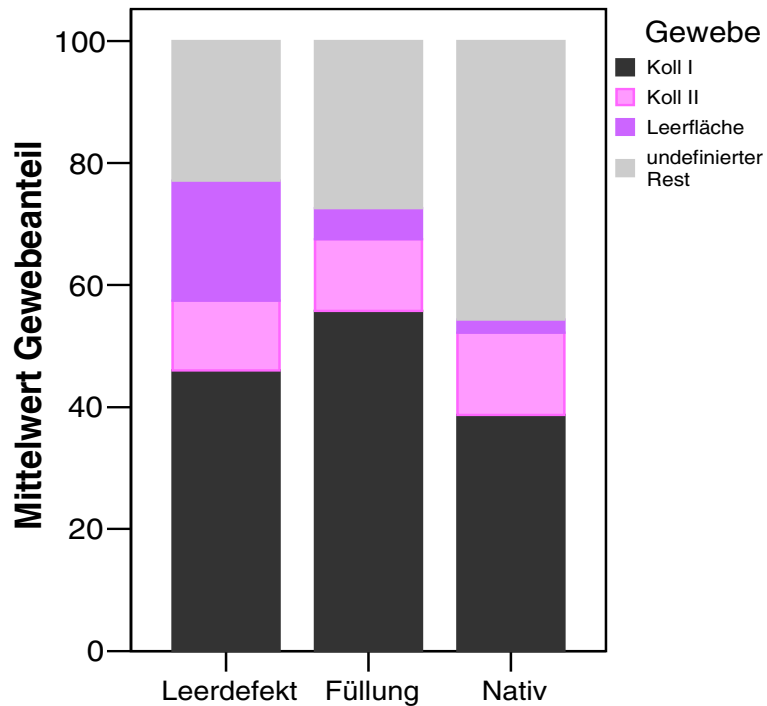


Abbildung 32: OCT-Gruppe nach drei Monaten; Mittelwert der unterschiedlichen Gewebeanteile in den unterschiedlichen Defekten und der nativen Kondyle.

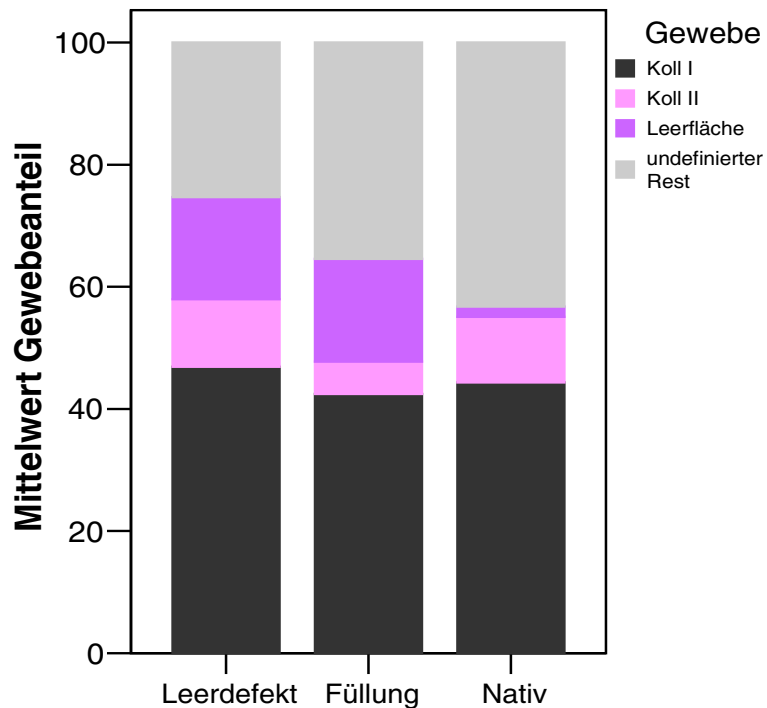


Abbildung 33: SPC-Gruppe nach drei Monaten; Mittelwert der unterschiedlichen Gewebeanteile in den unterschiedlichen Defekten und der nativen Kondyle.

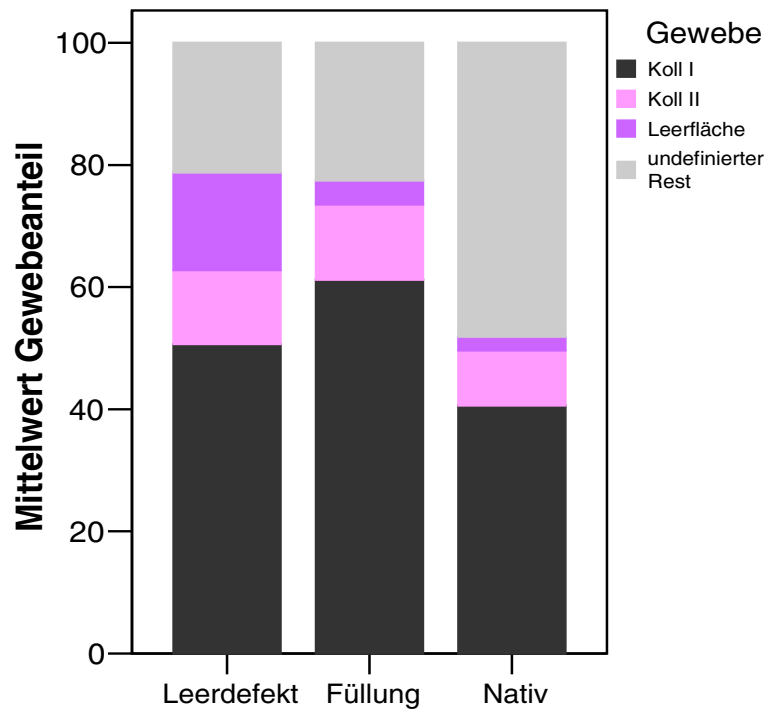


Abbildung 34: OCT-Gruppe nach sechs Monaten; Mittelwert der unterschiedlichen Gewebeanteile in den unterschiedlichen Defekten und der nativen Kondyle.

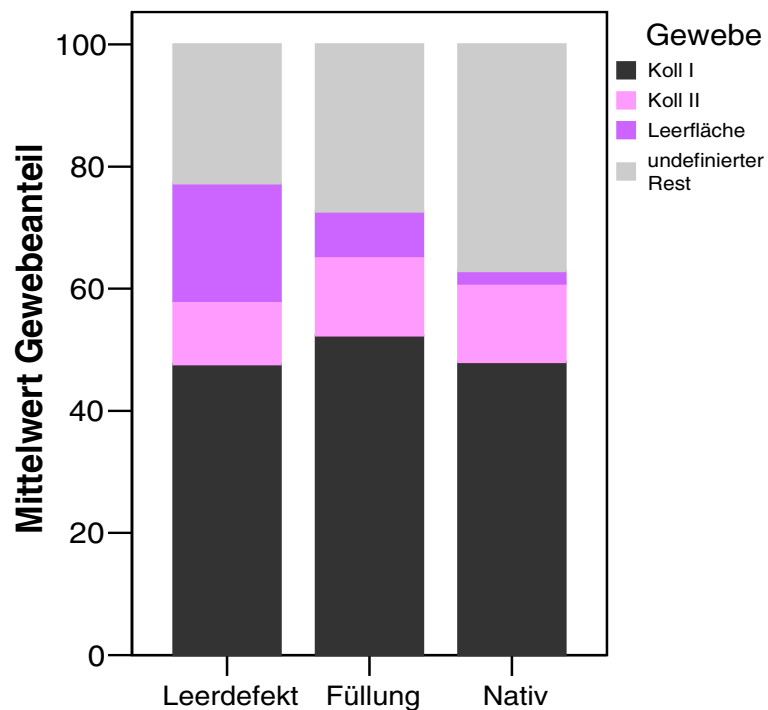


Abbildung 35: SPC-Gruppe nach sechs Monaten; Mittelwert der unterschiedlichen Gewebeanteile in den unterschiedlichen Defekten und der nativen Kondyle.

			OCT		SPC	
			3 Monate	6 Monate	3 Monate	6 Monate
Gefüllter Defekt	Anteil Koll I an ROI (%)	Min	43	53	20	26
		Max	63	70	55	74
		Median	56	61	48	54
		Mittelwert	56	61	42	52
	Anteil Koll II an ROI (%)	Min	7	6	2	6
		Max	18	26	11	21
		Median	12	10	4	13
		Mittelwert	12	12	5	13
	Anteil Leerfläche an ROI (%) (Koll I)	Min	2	1	8	4
		Max	11	8	29	12
		Median	4	3	16	6
		Mittelwert	5	4	17	7
Leerdeфект	Anteil Koll I an ROI (%)	Min	31	39	27	35
		Max	59	60	59	58
		Median	48	52	50	46
		Mittelwert	46	51	47	48
	Anteil Koll II an ROI (%)	Min	1	3	2	5
		Max	38	27	41	21
		Median	9	11	4	9
		Mittelwert	11	12	11	10
	Anteil Leerfläche an ROI (%) (Koll I)	Min	6	5	6	11
		Max	36	33	39	31
		Median	19	15	13	19
		Mittelwert	20	16	17	19
Native Kondyle	Anteil Koll I an ROI (%)	Min	30	30	38	43
		Max	51	55	51	56
		Median	37	40	46	48
		Mittelwert	39	41	44	48
	Anteil Koll II an ROI (%)	Min	6	7	8	10
		Max	17	11	14	18
		Median	15	9	11	12
		Mittelwert	13	9	11	13
	Anteil Leerfläche (%) Koll I	Min	2	2	1	1
		Max	3	4	2	3
		Median	2	2	2	2
		Mittelwert	2	2	2	2

Tabelle 16: Mediane und Minimum- und Maximumwerte der einzelnen Gewebeanteile

4.4 Semiquantitativer Score

4.4.1 Prozentualer Anteil hyalinen Knorpels

Das erste Kriterium von Score A beschreibt die prozentuale Auffüllung der Defekte mit hyalinem Knorpel, gemessen in der Bildanalyse anhand der positiven Kollagen II Färbung (Abb. 36). Nach einer Zeit von drei Monaten waren die meisten Leerdefekte der Tiere mit dem osteochondralen, autologen Transfer, sowie die der SPC-Gruppe noch nicht weit genug aufgefüllt und erhielten deshalb 0 Punkte. Vereinzelt war neu gebildeter Knorpel erkennbar. Bei den behandelten Defekten waren deutliche Punktunterschiede zu beobachten. Die Defekte der OCT-Gruppe hatten nach drei Monaten eine wesentlich höhere Punktzahl (Median: 7) in diesem Kriterium als die der SPC-Gruppe (0). Die Leerdefekte beider Gruppen unterschieden sich nach drei Monaten kaum in den einzelnen Punktevergaben und der Median war in beiden Gruppen bei 0. Nach einer Heilungszeit von sechs Monaten erhielten die Leerdefekte der OCT-Gruppe eine höhere Punktzahl (5) als die der SPC-Gruppe (1). Die gefüllten Defekte der beiden Gruppen unterschieden sich nach sechs Monaten nicht (OCT: 2; SPC: 2). Es wurden sehr niedrige Werte bei beiden Gruppen erreicht, da das knorpelige Regenerat nicht aus hyalinem Knorpel bestand, bzw. die Qualität des transplantierten Knorpels abgenommen hatte.

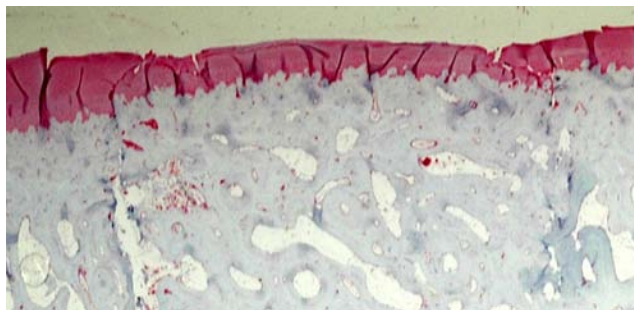


Abbildung 36: Positiv rot angefärbtes Kollagen II im hyalinen Knorpel

4.4.2. Struktur, Oberflächenbeschaffenheit, Dicke des Knorpels und Verbindung zum umliegenden Knorpel

Um die Struktur des neu gebildeten bzw. transplantierten Knorpels zu beurteilen, wurden die Oberflächenbeschaffenheit (A), die strukturelle Integrität (B), die Knorpeldicke (C) und die Verbindung zum umliegenden Knorpel (D) bewertet. In diesem zweiten Kriterium im Score A unterschieden sich die Mediane der Leerdefekte beider Gruppen nach drei Monaten kaum (OCT: A: 1; B: 0,5; C: 0; D: 0; SPC: A: 1; B: 0; C: 0; D: 0). Beide Gruppen erhielten vereinzelt Punkte in diesem Kriterium. Nach der Standzeit von sechs Monaten hatte sich das Bild verändert. Bei den Leerdefekten, die in der OCT-Gruppe gesetzt wurden, konnten vereinzelt keine Punkte vergeben werden (OCT:A: 1; B: 0,5; C: 0; D: 0). Die Knorpeldicke und die

Verbindung zum umliegenden Knorpel wurden bis auf Ausnahmen bei allen Regeneraten mit hoher Punktzahl bewertet. Allerdings fanden sich auch bei einigen Präparaten aufgeraute Oberflächen, Fissuren und Risse im Knorpel. Die Verbindung zum umliegenden Knorpel war bei einigen Defekten vorhanden. Die strukturelle Integrität wurde bei fast allen Leerdefekten der OCT-Gruppe mit 0 Punkten bewertet. Die Leerdefekte der SPC-Gruppe erhielten nur vereinzelt Punkte, da entweder noch kein Knorpelregenerat entstanden war oder die Kriterien nicht erfüllt wurden (A: 1; B: 0; C: 0; D: 0).

Bei den aufgefüllten Defekten erreichten die OCT-Tiere deutlich mehr Punkte (A: 2; B: 2; C: 1; D: 0) als die SPC-Tiere (A: 0; B: 0; C: 0; D: 0).

4.4.3. Degenerative zelluläre Veränderungen des Implantats

Das dritte Kriterium beurteilte degenerative Veränderungen im Implantat bzw. im Transplantat. Der Median für den gefüllten Defekt der SPC-Gruppe (0) lag unter dem der OCT-Gruppe (1). In der OCT-Gruppe erhielten alle gefüllten Defekte eine mittlere Punktzahl; an nur ein Präparat wurde die volle Punktzahl vergeben, da bei diesem keine degenerativen Anzeichen zu erkennen waren. Bei den 6 Monats-Tieren war zu beobachten, dass bei den OCT-Tieren die Knorpelqualität vermindert war. Zwei Tiere erzielten zwar die volle Punktzahl, aber die restlichen Präparate zeigten so deutliche Anzeichen von Degeneration im transplantierten Knorpel, dass sie keine Punkte bekamen. Die SPC-Gruppe hatte nach sechs Monaten nur drei gefüllte Defekte, die mit einer Knorpelschicht bedeckt waren und einen, bei dem sich Knorpelinseln beobachten ließen. Alle anderen Präparate erzielten 0 Punkte. Aus diesem Grund konnten auch nur die ersten drei Präparate beurteilt werden. Zwei von diesen erhielten einen von zwei Punkten, da Chondrozytencluster (Abb. 38 und 39), teilweise sehr zellarme Bereiche (Abb. 39) und ungefärbte Bereiche (Abb. 37) vorhanden waren. Das andere Präparat bekam keine Punkte, da die Anzahl der Chondrozytencluster zu hoch war. Die Mediane sowohl der OCT-Gruppe als auch der SPC-Gruppe lagen bei 0 Punkten. Bei den Leerdefekten in allen vier Gruppen wurde die Gesamtpunktzahl in keinem Fall erreicht, und alle Tiere zeigten im neu gebildeten Knorpel Degenerationserscheinungen. Vereinzelt bekamen einige Präparate einen Punkt. An 20 von 24 Präparaten wurden null Punkte vergeben, wobei auch beachtet werden muss, dass einige Präparate noch gar keinen Knorpel enthielten, der beurteilt werden konnte. Der Median der SPC-Gruppe (0) lag unter dem der OCT-Gruppe (0,5) nach drei Monaten Heilungszeit.

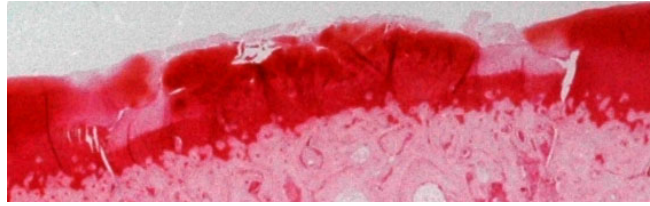


Abbildung 37: Proteoglykanverlust in ungefärbten Bereichen des Knorpelgewebes in der Safranin-Orange Färbung

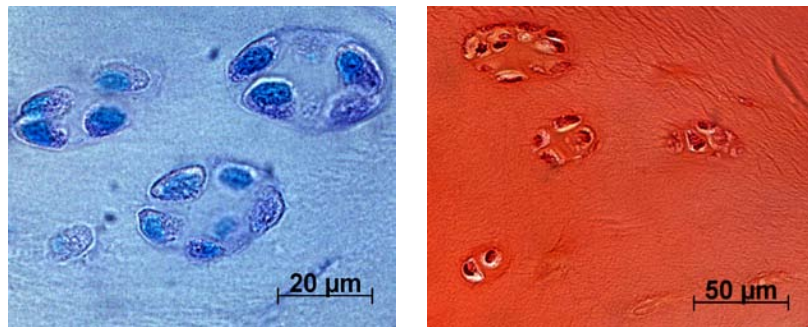


Abbildung 38: Chondrocytencluster im Knorpelgewebe *links:* TRAP-Färbung *rechts:* Safranin-Orange



Abbildung 39: Hypozelluläre Bereiche, Proteoglykanverlust und Chondrozytencluster im Knorpel in der Safranin-Orange Färbung

4.4.4. Degenerative Veränderungen im umliegenden Knorpel

Als nächstes Kriterium wurden die Degenerationserscheinungen im angrenzenden, gesunden Knorpel beurteilt.

Nach drei Monaten wies der transplantierte Knorpel der OCT-Tiere kaum degenerative Vorgänge auf. Drei von sechs Tieren erhielten die volle Punktzahl. Die anderen drei gefüllten Defekte erhielten zwei von drei möglichen Punkten, da einige Chondrozytencluster zu finden waren oder die Anfärbung des Knorpels an einigen Stellen etwas schwächer war (Abb. 37). Insgesamt erhielt diese Gruppe sehr hohe Punktzahlen in diesem Kriterium (2,5). In der SPC-Gruppe bekamen drei von sechs gefüllten Defekten zwei von maximal drei Punkten, weil nur wenige degenerative Prozesse zu verzeichnen waren. Die anderen drei erhielten dagegen nur wenige bis gar keine Punkte, da die degenerativen Vorgänge, wie z.B. Bildung von Chondrozytenclustern (Abb. 38), schlechte Anfärbung des Kollagen II oder große

hyozelluläre Bereiche (Abb. 39) zu weit fortgeschritten waren. Der Median der SPC-Gruppe (1,5) lag deutlich unter dem der OCT-Tiere (2,5). Nach sechs Monaten Standzeit stellte sich heraus, dass in diesem Kriterium die SPC-Tiere die besseren Punktzahlen bekommen hatten (OCT: 1,5; SPC: 2). Zwei Tiere erreichten die höchste Punktzahl und bei drei Tieren zeigten sich moderate degenerative Prozesse, die aber noch mit zwei von drei Punkten bewertet wurden. Lediglich ein Tier bekam nur einen Punkt wegen zu fortgeschrittener Degeneration. Zwei OCT-Tiere erhielten nach sechs Monaten die volle Punktzahl, eines erreichte mit wenigen Auffälligkeiten noch zwei Punkte, doch die restlichen Tiere wiesen bemerkenswerte Degenerationprozesse auf, so dass sie gar keinen bzw. nur einen Punkt bekamen. Die Leerdefekte erlangten im Vergleich zwischen den Operationsmethoden, im Zeitverlauf und innerhalb der Gruppen sehr inhomogene Punktzahlen. Bei den SPC-Tieren hatten nach drei Monaten die Hälfte der Präparate zwei von drei möglichen Punkten; die restlichen drei Tiere mussten aufgrund der fortgeschrittenen Degeneration mit null oder nur einem Punkt eingestuft werden.

Nach sechs Monaten wurde die SPC-Gruppe durchgehend mit hohen Punktzahlen (2) bewertet. In der Gruppe der OCT-Tiere erhielten die Leerdefekte in diesem Beurteilungskriterium nach drei Monaten ebenfalls sehr hohe Punktzahlen. Bis auf ein Tier mit Höchstpunktzahl erzielten alle weiteren fünf Präparate mit moderaten Degenerationserscheinungen zwei Punkte von möglichen drei. Nach sechs Monaten gab es einmal die Höchstpunktzahl, zweimal erste Anzeichen von Clusterbildung und schwächerer Anfärbung und bei drei Tieren null Punkte, da es große Randbereiche im Knorpel gab, die keine Zellen mehr enthielten, viel Clusterbildung aufwiesen und auch kaum angefärbt waren. Zusammenfassend lässt sich hier sagen, dass der Median in der Gruppe der OCT-Tiere bei den Leerdefekten und bei den behandelten Defekten nach drei Monaten (Leerdefekt: 2; Füllung: 2,5) größer war als nach sechs Monaten (Leerdefekt: 1; Füllung: 1,5), während bei der SPC-Gruppe der Median der Leerdefekte und der behandelten Defekte nach sechs Monaten größer war als nach drei Monaten.

4.4.5. Rekonstruktion des subchondralen Knochens

Als fünftes Kriterium in Score A wurde die Rekonstruktion der subchondralen Lamelle beurteilt. Nach drei Monaten hatte sich trotz transplantierten Knorpel-Knochen-Zylinders die subchondrale Lamelle nur bei drei Präparaten einmal vollständig und zweimal zum Teil rekonstruiert. Bei drei Schafen konnten keine Punkte vergeben werden, da ein Zylinder nach der Operation eingesunken war, bei den beiden anderen der Bohrkanal noch deutlich sichtbar und die Verbindung zwischen Transplantat und umgebenden Knochen noch unterbrochen war. Bei der SPC-Gruppe hatte noch keine Auffüllung im Defektbereich stattgefunden, und somit mussten fast alle Präparate mit null Punkten bewertet werden. Nur

ein Tier hatte einen komplett aufgefüllten Defekt mit einigen Knorpelinseln. Der Median der OCT-Gruppe (0,5) war in diesem Kriterium nach drei Monaten nur geringfügig höher als in der SPC-Gruppe (0). Bei den Leerdefekten von OCT- und SPC-Tieren nach drei Monaten Standzeit hatte die OCT-Gruppe (2) auch hier einen etwas höheren Median als die SPC-Gruppe (1,5).

Bei den Leerdefekten der SPC-Tiere nach sechs Monaten (0) gab es einmal eine Teil- und einmal eine vollständige Rekonstruktion der subchondralen Lamelle (Abb. 40). Alle anderen Präparate waren entweder noch nicht vollständig aufgefüllt oder der Knochen ist im oberen Defektbereich durch eine Kanalbildung unterbrochen. Im Gegensatz dazu wurden von den Leerdefekten der OCT-Tiere nach sechs Monaten höhere Punktzahlen erzielt (1). Bei drei Tieren erfolgte die Rekonstruktion zumindest teilweise und bei einem sogar vollständig. Bei lediglich zwei Tieren mussten aufgrund mangelnder Auffüllung oder Kanalbildung null Punkte vergeben werden.

Für dieses Kriterium kann man zusammenfassen, dass der Median der OCT-Tiere bei dem gefüllten Defekt und dem Leerdefekt nach drei Monaten kleiner war als nach sechs Monaten, während der Median der SPC-Tiere bei dem Leerdefekt und dem gefüllten Defekt bei 0 lag.

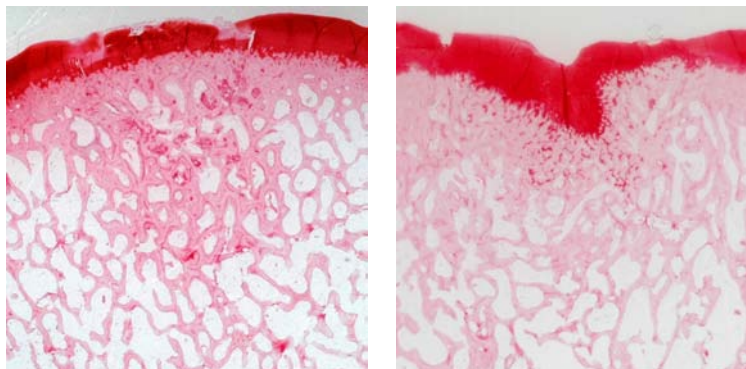


Abbildung 40: links: Intakte subchondrale Lamelle nach sechs Monaten in der OCT-Gruppe; rechts: Durch leicht in die Tiefe ziehenden Knorpel unterbrochene subchondrale Lamelle nach sechs Monaten in der SPC-Gruppe. Färbung: Safranin-Orange

4.4.6 Verbindung zwischen regenerierten Knorpel und neuem subchondralem Knochen

Als vorletztes Kriterium wurde die Verbindung zwischen dem neu gebildeten bzw. transferierten Knorpel und dem neuen subchondralen Knochen beurteilt. Nach drei Monaten war in dieser Hinsicht ein deutlicher Unterschied zwischen den Gruppen zu erkennen. Da die OCT-Tiere einen Knorpel-Knochen-Zylinder als Implantat erhalten hatten, erreichten fast alle Tiere dieser Gruppe die volle Punktzahl (2). Lediglich bei einem Präparat sah die Verbindung zwischen Knorpel und Knochen etwas unregelmäßig aus. Im Gegensatz dazu wurde die SPC-Gruppe (0) bis auf eine Ausnahme mit null Punkten bewertet, was durch den mangelnden Auffüllungsgrad dieser Gruppe zu erklären ist. Nach sechs Monaten war die Punktzahl bei der OCT- Gruppe unverändert (2). Fünf von sechs Präparaten erhielten die

volle Punktzahl, ein Defekt wurde mit nur einem Punkt bewertet, da sich der Knorpel an einigen Stellen etwas vom Knochen gelöst hatte. Die SPC-Gruppe dagegen hatte nach sechs Monaten Standzeit mehr Punkte erreicht (1). Ein Tier erhielt die volle Punktzahl. Zwei Tiere wurden mit null Punkten bewertet, da noch keine Auffüllung mit Knochen stattgefunden hatte.

Bei den Leerdefekten war die Verteilung der Punkte innerhalb der Gruppen recht homogen. Die SPC-Gruppe hatte nach drei Monaten durchgehend keinen Punkt erhalten (0). Bei den Tieren in der OCT-Gruppe hatte ein Leerdefekt die volle Punktzahl bekommen, einer hatte einen Punkt erhalten und die restlichen Leerdefekte wurden mit null Punkten bewertet, da sie entweder nicht weit genug aufgefüllt waren oder die Verbindung zwischen Knorpel und Knochen zu unregelmäßig war. Der Median der OCT-Gruppe lag bei 0. Nach sechs Monaten wurden bei beiden Gruppen in den Leerdefekten ähnliche Punkte vergeben und der Median lag bei beiden Gruppen bei 0,5.

4.4.7. Safranin-O Färbung

Als letztes Kriterium in Score A wurde die Knorpelfärbung von Safranin-Orange und damit die Proteoglykankonzentration beurteilt (Abb. 37). Aus Mangel an Knorpel wurden fünf von sechs gefüllten Defekten der SPC-Gruppe auch hier nach drei Monaten wieder mit null Punkten bewertet (0). Nur ein Defekt war genügend mit Knochen und Knorpel aufgefüllt und hatte zwei Punkte bekommen. Die gefüllten Defekte der OCT-Gruppe (1,5) wurden zur Hälfte mit der Höchstpunktzahl bewertet, zur anderen Hälfte mit einem Punkt. Die schlechte Anfärbung war nach sechs Monaten bei der OCT-Gruppe noch stärker als bei der 3 Monatsgruppe (0,5). Nur drei Schafe erhielten einen Punkt, da die Färbung nicht homogen positiv war. Der Rest der Gruppe wurde aufgrund zu schwacher und zu unregelmäßiger Färbung mit null Punkten bewertet. Nach sechs Monaten bekam in diesem Kriterium die SPC-Gruppe höhere Punktzahlen. Drei von sechs Schnitten enthielten Knorpel, der durchgehend und intensiv angefärbt war. Ein Präparat war an einigen Stellen etwas schwächer angefärbt und erhielt deshalb einen Punkt, der Rest dieser Gruppe wurde mit null Punkten bewertet, da die Färbung nicht intensiv oder zu unregelmäßig war.

Bei den Leerdefekten war die Bewertung auch in diesem Score-Kriterium innerhalb der Gruppen und zwischen den Gruppen sehr inhomogen. Die SPC-Gruppe mit drei Monaten (0) Standzeit erhielt bis auf einen Leerdefekt 0 Punkte, da die Defekte noch nicht genügend gefüllt waren. Es gab nur ein Tier, bei dem sich Knorpelinseln gebildet haben und die Färbung mit einem Punkt bewertet werden konnte. Die OCT-Tiere erzielten geringfügig bessere Punkte (0,5). Ein Tier kam mit vollaufgefülltem Leerdefekt und geschlossener Knorpelschicht auf die volle Anzahl von zwei Punkten. Zwei Leerdefekte hatten einen Ansatz von Knorpelbildung und die Anfärbung wurde mit einem Punkt bewertet. Drei Defekte

wurden wegen mangelnder Auffüllung mit 0 Punkten beurteilt. Nach sechs Monaten erreichten zwei Leerdefekte der OCT-Gruppe die volle Punktzahl, denn der Knorpel war intensiv und durchgehend positiv gefärbt. Drei Tiere bekamen einen Punkt wegen schwächerer Anfärbung und ein Tier wurde wegen Nichtauffüllung mit null Punkten bewertet. In der SPC-Gruppe wurde zweimal die volle Punktzahl vergeben, da der Knorpel intensiv und ohne Ausnahme rot angefärbt war. Ein Defekt wurde nur mit einem Punkt bewertet, da die Färbung oft durch ungefärbte Areale unterbrochen wurde. Der Rest dieser Gruppe wurde mit null Punkten bewertet, da der Knorpel kaum rot angefärbt war. Der Median lag nach sechs Monaten bei der OCT-Gruppe (1) geringfügig höher als bei der SPC-Gruppe (0,5).

4.4.8 Score B

In Score B wurden allgemeine Kriterien wie die Auffüllung des Defektbereiches, die laterale und die basale knöcherne Integration sowie die Entzündungs- und Fremdkörperreaktion beurteilt. Der Auffüllungsgrad wurde aus den Ergebnissen aus der Bildanalyse berechnet. Hierbei wurde nur der tatsächliche Auffüllungsgrad der Defekte beurteilt, unabhängig davon, mit welchem Gewebe die Defekte aufgefüllt waren. Aufgrund der Tatsache, dass bei den OCT-Tieren ein ganzer Knorpel-Knochen-Zylinder transplantiert wurde, bekam diese Gruppe nach drei Monaten insgesamt eine sehr hohe Punktzahl (3,5). Die SPC-Gruppe erreichte geringfügig weniger Punkte nach drei Monaten in dem gefüllten Defekt (2,5). Nach sechs Monaten hatten sich die mit dem autologen, osteochondralen Transfer behandelten Defekte in der Punktevergabe nicht verändert, während die SPC-Tiere an Punkten aufgeholt hatten und fast genau dieselbe Anzahl an Punkten erreichten (3) wie die OCT-Tiere.

Bei den Leerdefekten war die Punktevergabe sehr inhomogen. Vereinzelt wurde die volle Punktzahl vergeben, aber die meisten Tiere bekamen eine mittlere Punktzahl. Null Punkte wurden in keiner Gruppe vergeben. Nach drei Monaten lag der Median der SPC-Gruppe (3) etwas über dem der OCT-Tiere (2,5). Nach sechs Monaten lag der Median beider Gruppen bei 3.

Bei der Beurteilung des lateralen Einwachsungsverhaltens unterschieden sich die gefüllten Defekte der OCT-Tiere in der Punktevergabe kaum voneinander, zu beiden Standzeiten erhielt die Hälfte der Tiere die volle Punktzahl (1,5); die restlichen Defekte waren zumindest teilweise auf beiden Seiten oder wenigstens auf einer Seite mit dem umgebenden Knochen verwachsen. Etwas anders sah es bei den Defekten der SPC-Gruppe aus, die sich innerhalb der Gruppen aber auch kaum unterschieden. Diese Art der Defektfüllung erhielt bei der lateralen Integration etwas weniger Punkte als die Defekte, die mit dem Knorpel-Knochen-Zylinder gefüllt wurden (1). Die Hälfte der Präparate war auch hier mindestens auf einer Seite mit dem umgebenden Knochen verwachsen. Nur ein einziges Tier erhielt null Punkte.

Bei den Leerdefekten war die erreichte Punktzahl in beiden Gruppen zu beiden Standzeiten sehr niedrig. Nur zwei Defekte waren lateral vollständig integriert. Beide gehörten zur OCT-Gruppe, jedoch zu unterschiedlichen Heilungszeiten. Bei einigen Tieren konnte zumindest eine einseitige Verbindung beobachtet werden, aber die meisten Tiere wurden mit 0 Punkten bewertet. Bei den Leerdefekten lag der Median der OCT-Gruppe (1) über dem der SPC-Gruppe (0). Nach sechs Monaten lag der Median der beiden Gruppen bei 1.

Bei der basalen knöchernen Integration konnte man beobachten, dass die OCT-Gruppen beider Standzeiten bei vier von sechs Defekten die volle Punktzahl erhielten (3 Monate: 3; 6 Monate: 3). In der SPC-Gruppe erreichte nur ein Defekt nach drei Monaten zumindest zwei Punkte, drei Defekte waren basal zwischen 50 und 70% integriert; zwei Defekte wurden mit null Punkten bewertet (1). Nach sechs Monaten erhielten zwar immer noch zwei Defekte null Punkte, dafür erreichten aber zwei andere Defekte die volle Punktzahl und die letzten zwei Defekte waren zwischen 70 und 90% aufgefüllt, deshalb wurden sie mit zwei Punkten beurteilt (2). Bei den Leerdefekten lag der Median der SPC-Gruppe (0,5) nach drei Monaten geringfügig über dem der OCT-Gruppe (0). Nach sechs Monaten lag der Median bei beiden Gruppen bei 0.

Die Beurteilung der Entzündungsreaktion ergab kaum eine Streuung innerhalb der beiden Operationstechniken und innerhalb der Heilungszeit. Es gab nur bei zwei Tieren, beide gehörten zu der SPC-Gruppe, eine so starke Entzündungsreaktion, dass null Punkte gegeben werden mussten. Hier und da waren einige wenige Entzündungszellen zu beobachten, aber der überwiegende Teil der Defekte wies keinerlei Anzeichen von Entzündungen auf. Genauso sah es auch bei den Leerdefekten aus. In der SPC-Gruppe wurden zweimal null Punkte für eine starke Entzündungsreaktion vergeben. Der Rest der Leerdefekte war in dieser Hinsicht eher unauffällig. Fremdkörperriesenzellen wurden in keinem Defekt beobachtet.

SCORE A		OCT				Spongiosacluster			
		3 Monate		6 Monate		3 Monate		6 Monate	
		Leer- defekt	Füllung	Leer- defekt	Füllung	Leer- defekt	Füllung	Leer- defekt	Füllung
Prozentualer Anteil hyalinen Knorpels	Mi	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max	4	8	6	6	2	6	8	8
	Median	0	7	5	2	0	0	1	2
Oberflächenbeschaffenheit	Min	0	1	0	0	0	0	0	0
	Max	2	2	2	2	2	2	1	2
	Median	1	2	0,5	0	1	0	0	0
Strukturelle Integrität	Min	0	1	0	0	0	0	0	0
	Max	2	2	2	0	0	0	0	1
	Median	0,5	2	0	0	0	0	0	0
Knorpeldicke	Min	0	1	0	0	0	0	0	0
	Max	1	2	2	2	0	1	1	1
	Median	0	1	2	0	0	0	0	0,5
Verbindung zum umliegenden Knorpel	Min	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max	2	1	2	0	1	0	2	2
	Median	0	0	1,5	0	0	0	0,5	0,5
Degenerative zelluläre Veränderungen	Min	0	1	0	0	0	0	0	0
	Max	1	2	1	2	0	1	1	1
	Median	0,5	1	0	0	0	0	0	0
Degenerative Veränderungen im umliegenden Knorpel	Min	2	2	0	0	0	0	2	1
	Max	3	3	3	3	2	2	3	3
	Median	2	2,5	1	1,5	1,5	1,5	2	2
Rekonstruktion des subchondralen Knochens	Min	0	0	0	0	0	0	0	0
	Max	1	2	2	2	0	1	1	1
	Median	0	0,5	1	1	0	0	0	0,5
Verbindung zwischen regenerierten Knorpel und neuem subchondralem Knochen	Min	0	1	0	1	0	0 1	0	0
	Max	2	2	1	2	0	0	1	2
	Median	0	2	0,5	2	0	0	0,5	1
Safranin-Orange	Min	0	1	0	0	0	0	0	0
	Max	2	2	2	1	1	2	2	2
	Median	0,5	1,5	1	0,5	0	0	0,5	1,5

SCORE B		OCT				Spongiosacluster			
		3 Monate		6 Monate		3 Monate		6 Monate	
Kriterium		Leer- defekt	Füllung	Leer- defekt	Füllung	Leer- defekt	Füllung	Leer- defekt	Füllung
		Auffüllung im Defektbereich	Min	2	3	2	2	2	1
	Max	3	4	4	4	3	3	3	4
	Median	2,5	3,5	3	3,5	3	2,5	3	3
Laterale knöchernen Integration	Min	0	1	0	0	0	0	0	1
	Max	2	2	2	1	1	2	1	2
	Median	1	1,5	1	1,5	0	1	1	1
Basale knöchernen Integration	Min	0	1	0	0	0	0	0	0
	Max	3	3	3	3	2	2	0	3
	Median	0	3	0	3	0,5	1	0	2
Entzündungs- reaktion	Min	1	1	1	1	0	0	0	0
	Max	2	2	2	2	2	2	2	2
	Median	1	1,5	2	2	2	2	2	2
Fremdkörper- reaktion	Min	1	1	1	1	1	1	1	1
	Max	1	1	1	1	1	1	1	1
	Median	1	1	1	1	1	1	1	1

Tabelle 17: Mediane sowie Minimum und Maximumwerte von Score A und Score B beider Operationstechniken zu beiden Standzeiten

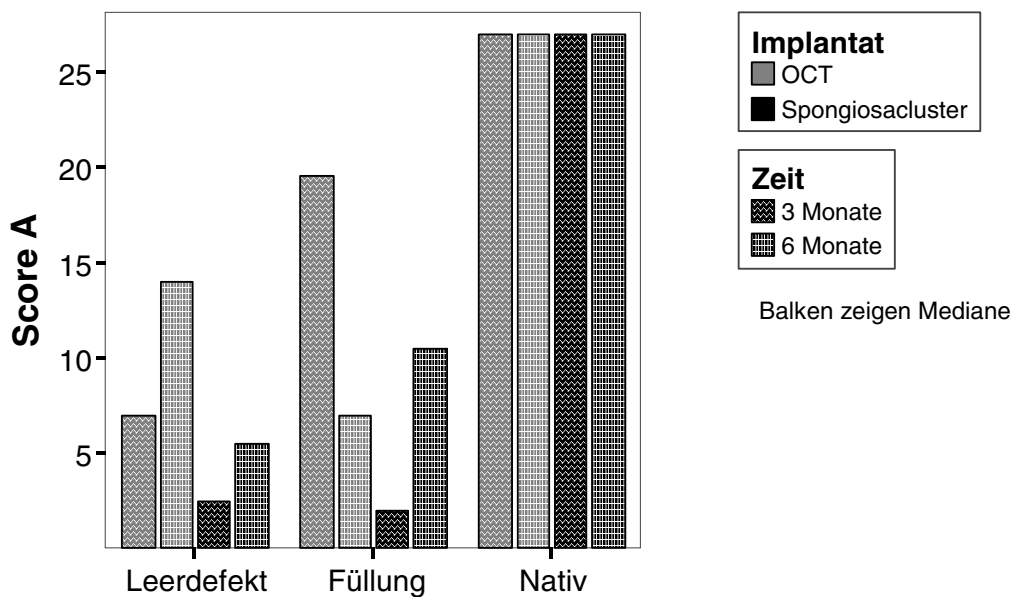


Abbildung 41: Graphische Darstellung von Score A, Vergleich zwischen Leerdefekt, Füllung und nativer Kondyle

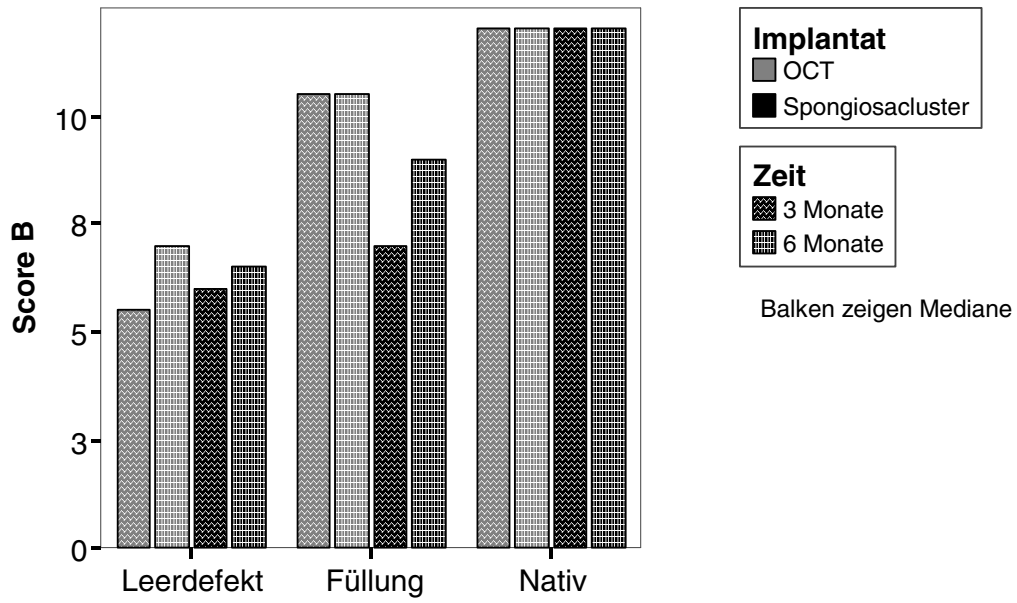


Abbildung 42: Graphische Darstellung von Score B,
Vergleich zwischen Leerdefekt, Füllung und nativer Kondyle