

4 Ergebnisse

Alle 24 Schafe erholten sich schnell von den operativen Maßnahmen und wiesen kein gestörtes Allgemeinbefinden auf. Die Futter- und Wasseraufnahmen waren unbeeinträchtigt. Bei den Versuchstieren ergaben sich weder Wundheilungsstörungen noch postoperative Wundinfektionen am operierten Gelenk. Die Tiere der Scaffold-Gruppen zeigten eine mittelgradige Lahmheit die ersten Tage nach der Operation. Nach zehn Tagen wurden die Fäden gezogen und die Hautwunde war vollständig verheilt. Operationsbedingte Komplikationen wurden bei keinem der Tiere während der Standzeit von drei Monaten beobachtet.

Für die makroskopische Bewertung standen alle 48 Defekte zur Verfügung. Die mikroskopische Auswertung erfolgte an 47 Defekten, da sich ein Paraplastblock am Mikrotom nicht schneiden ließ.

Wurde bei der statistischen Auswertung ein signifikanter Unterschied mit dem Kruskal-Wallis-Test beobachtet, wurde der Mann Whitney U-Test durchgeführt, um zu bestimmen, zwischen welchen Gruppen der signifikante Unterschied bestand. Bei diesem Test wurde die OCT-Gruppe mit der SC-Gruppe, die OCT-Gruppe mit den Scaffold-Gruppen, aber auch die beiden Scaffold-Gruppen untereinander in Bezug auf die Histomorphometrie, Osteoklasten- und Gefäßanzahl verglichen. Als Anschlussstest des Friedman-Testes wurde der Wilcoxon-Test durchgeführt. Bei diesem Test wurden die Füllungen mit den Leerdefekten, oder die Füllungen mit den nativen Kondylen, aber auch die nativen Kondylen mit den Leerdefekten mit Hilfe der Histomorphometrie, Osteoklasten- und Gefäßanzahl verglichen. In dieser Studie werden nur die Anschlussstests aufgeführt.

4.1 Ergebnisse der makroskopischen Beurteilung nach Explantation

In die Auswertung gingen bei allen vier Gruppen jeweils sechs Tiere ein. Bei der Tötung der Tiere wurden keine klinisch erkennbaren Infekte im Kniegelenk beobachtet. Bei der Betrachtung der Gelenkfüllung wurden in den ersten beiden Gruppen (OCT und SC) jeweils zwei Tiere mit vermehrter Synovialflüssigkeit beobachtet. In den Scaffold-Gruppen wurde lediglich bei einem Tier, versorgt mit hartem Scaffold, vermehrt Synovia bemerkt.

In der OCT-Versuchsgruppe war der Defekt bei fünf von sechs Tieren bis auf Niveau des umgebenden Knorpels aufgefüllt. Die Regeneratoberflächen waren identisch mit dem umliegenden Knorpel glatt, glänzend und elfenbeinfarben. Die makroskopische Beurteilung aller Präparate der SC-Gruppe ergab im Wesentlichen eine unvollständige Rekonstruktion der Gelenkfläche. Der Defektbereich war deutlich zu erkennen, und die Oberfläche vieler Defekte war rotbräunlich gefärbt. Bei den beiden Scaffold-Gruppen war der Defekt im Randbereich bis auf Niveau aufgefüllt und die Oberfläche mit dem des umliegenden Gelenkknorpels identisch. In der Mitte der Defekte war die Regeneratoberfläche, wie bei der SC-Gruppe, rotbräunlich verfärbt (Abb. 12).

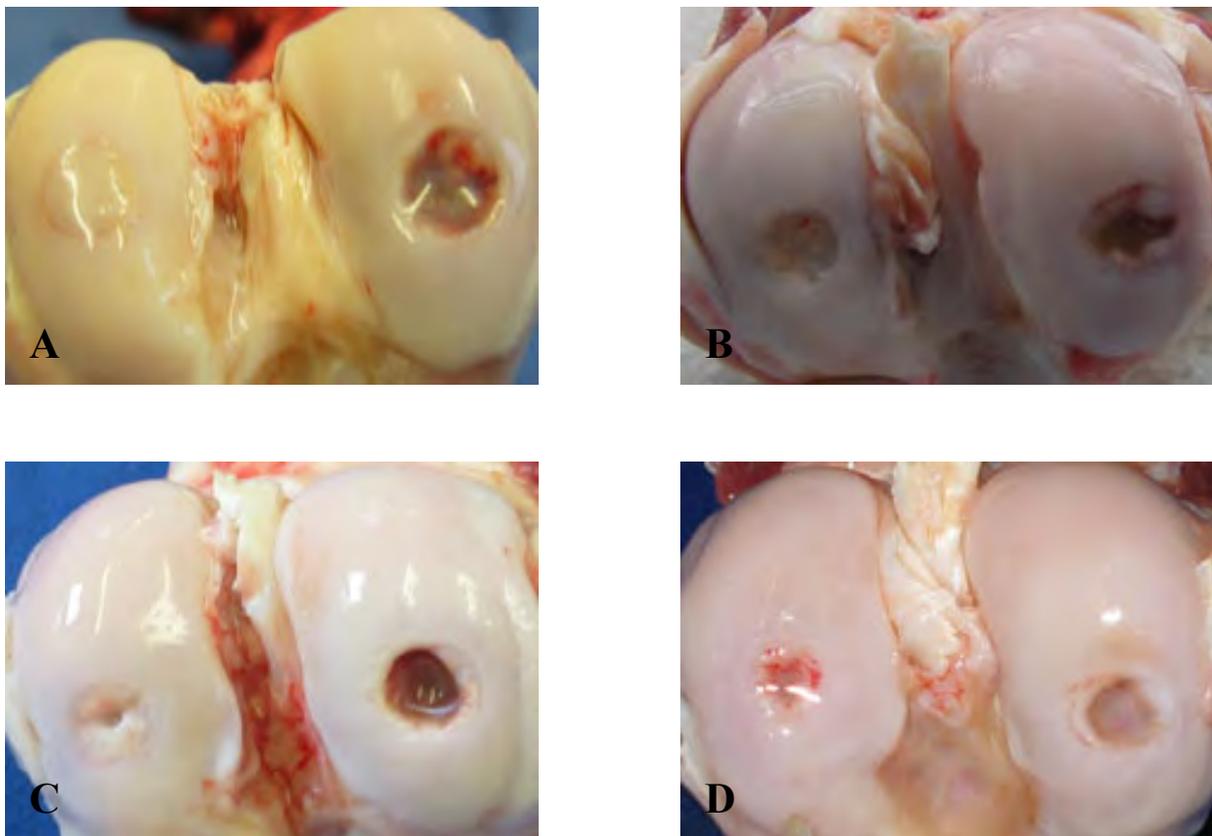


Abb. 12: Defektbereich nach Tötung der Tiere; zwischen den beiden Kondylen ist teilweise das Kreuzband zu erkennen, unten am Bildrand wäre die Trochlea zu sehen; die rechte Kondyle zeigt den Leerdefekt und die linke Kondyle die entsprechende Defektauffüllung

A= autologer osteochondraler Transfer, B= Spongiosacluster, C= weicher Scaffold, D= harter Scaffold

4.2 Ergebnisse der mikroskopischen Beurteilung

4.2.1 Ergebnisse der histologischen Auswertung

4.2.1.1 Safranin-Orange gefärbte Präparate

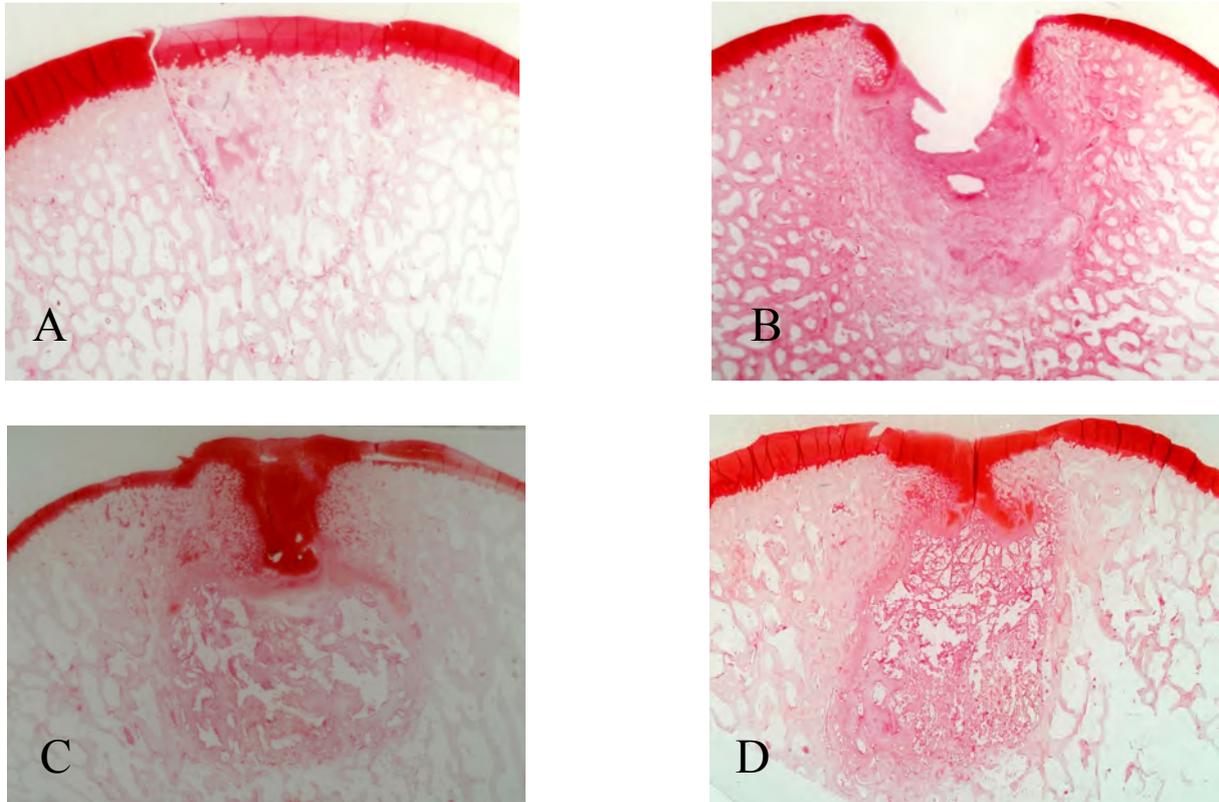


Abb. 13: Safranin-Orange Färbung; Auswahl aufgefüllter Defekte; der Knorpel stellt sich intensiv rot und der Knochen nur blass rot dar **A**= OCT, **B**= SC, **C**= PW, **D**= PH

OCT-Gruppe: Bei dieser Versuchsgruppe waren fünf Präparate bis zum Niveau aufgefüllt, nur ein eingesetzter Zylinder war eingesunken und konnte somit keine kongruente Gelenkfläche bilden. Einer der Defekte zeigte basal stark entzündete Bereiche. Die Dicke der subchondrale Lamelle war bei vier Präparaten verdoppelt bis verdreifacht. Die Spongiosabälkchen des Knochens waren bei fünf Präparaten entsprechend der physiologischen Belastungen des Knochens angeordnet (Abb. 13). Trabekuläre Verdickungen und verengte Lumina wurden in vier Präparaten beobachtet. Im Defektbereich war die Matrix bei drei Präparaten weitgehend normal angefärbt, die anderen drei Präparate wiesen eine mittlere Anfärbbarkeit auf, welches ein Hinweis für einen Proteoglykanverlust sein könnte.

SC-Gruppe: Von den sechs Präparaten war lediglich ein Defektbereich vollständig mit Knochen aufgefüllt. Die anderen fünf Präparate besaßen im Defektbereich eine geringe bis keine trabekuläre Struktur. An den Defekträndern waren die Trabekel verdickt und nicht entsprechend des größten Druckes und Zuges ausgerichtet (Abb. 13). Die Lakunen waren deutlich verkleinert. Bei zwei Präparaten war basal die Knochenstruktur aufgelockert und die Trabekellumina erweitert. Im basalen Defektbereich wurde bei zwei anderen Präparaten ein Hohlraum beobachtet. Zu dem Untersuchungszeitpunkt war in drei Präparaten ein knorpelähnliches Gewebe nachweisbar. Dieses knorpelähnliche Gewebe bedeckte allerdings nicht die gesamte Defektoberfläche. In einem Fall ließ sich eine nahezu normale Farbintensität der Knorpelmatrix mit Safranin-Orange nachweisen. Zwei Regenerate zeigten lediglich eine schwache, inhomogene Anfärbung an den Defekträndern.

Weiche Scaffold (PW)-Gruppe: Bei einem Präparat war der Knochen über die ursprüngliche Gelenkkontur hypertrophiert und bildete somit eine inkongruente Gelenkoberfläche. Die Trabekelausrichtung dieses Präparates war ungeordnet, die Trabekel verdickt und die Lumina verengt. Drei der Präparate waren annähernd bis auf Niveau aufgefüllt, die anderen zwei waren lediglich zu zwei Dritteln aufgefüllt. Bei allen Präparaten waren die Spongiosabälkchen im Defektbereich und teilweise in den Randbereichen deutlich verdickt und die Lumina verengt bis nicht vorhanden. Die untere Hälfte des eingebrachten Implantats war nach zwölf Wochen noch nicht resorbiert, jedoch waren die Implantatporen mit Knochengewebe aufgefüllt. Die Scaffoldreste waren fast vollständig von Knochengewebe umschlossen. Keines der Präparate zeigte eine durchgehende subchondrale Lamelle im Defektbereich (Abb. 13). Die subchondrale Lamelle war im Randbereich bei zwei Präparaten verdickt. Der Knorpel hatte sehr unterschiedliche Bildungsmuster, denn bei zwei Präparaten zog der Knorpel von den Seiten tief in den Defekt hinein. Bei zwei anderen Präparaten war ca. ein Drittel des Defektes von Knorpel überzogen. Ein Präparat war zur Hälfte und eins zu drei Vierteln mit Knorpel überzogen. Bei der Hälfte der Präparate konnte eine enchondrale Ossifikation an den Defekträndern beobachtet werden.

Harte Scaffold (PH)-Gruppe: Das Niveau der umliegenden Gelenkfläche wurde bei drei Präparaten erreicht. Bei zwei anderen Präparaten war eine leichte Inkongruenz der Gelenkoberfläche zu beobachten. Ein Defektbereich war nur zu zwei Dritteln aufgefüllt. Der synthetische, harte Scaffold war in allen Präparaten in den unteren zwei Dritteln noch deutlich zu erkennen. Die Knochenneubildung in den unteren zwei Dritteln beschränkte sich auf das

Auffüllen der Implantatporen (Abb. 13). Der implantierte Scaffold blieb zum größten Teil als Leitgerüst erhalten, das Knochengewebe ist lediglich Füllmaterial. Die verdickten Spongiosabälkchen umschlossen bei zwei Präparaten den Scaffold vollständig und in dieser Region waren die Lumina verengt. Bei den restlichen Präparaten waren die Trabekel nur an den seitlichen Defekträndern verdickt. Die Hälfte der Präparate bildete eine ununterbrochene subchondrale Lamelle im Defektbereich. Keines der Präparate wies Verdickungen der subchondralen Lamelle auf. Der Knorpel war bei vier Präparaten vollständig über den Defekt gezogen. Bei einem Präparat war der Defektbereich nur im Randbereich mit hyalinartigem Knorpel überzogen. Die Hälfte der Präparate zeigte eine enchondrale Ossifikation.

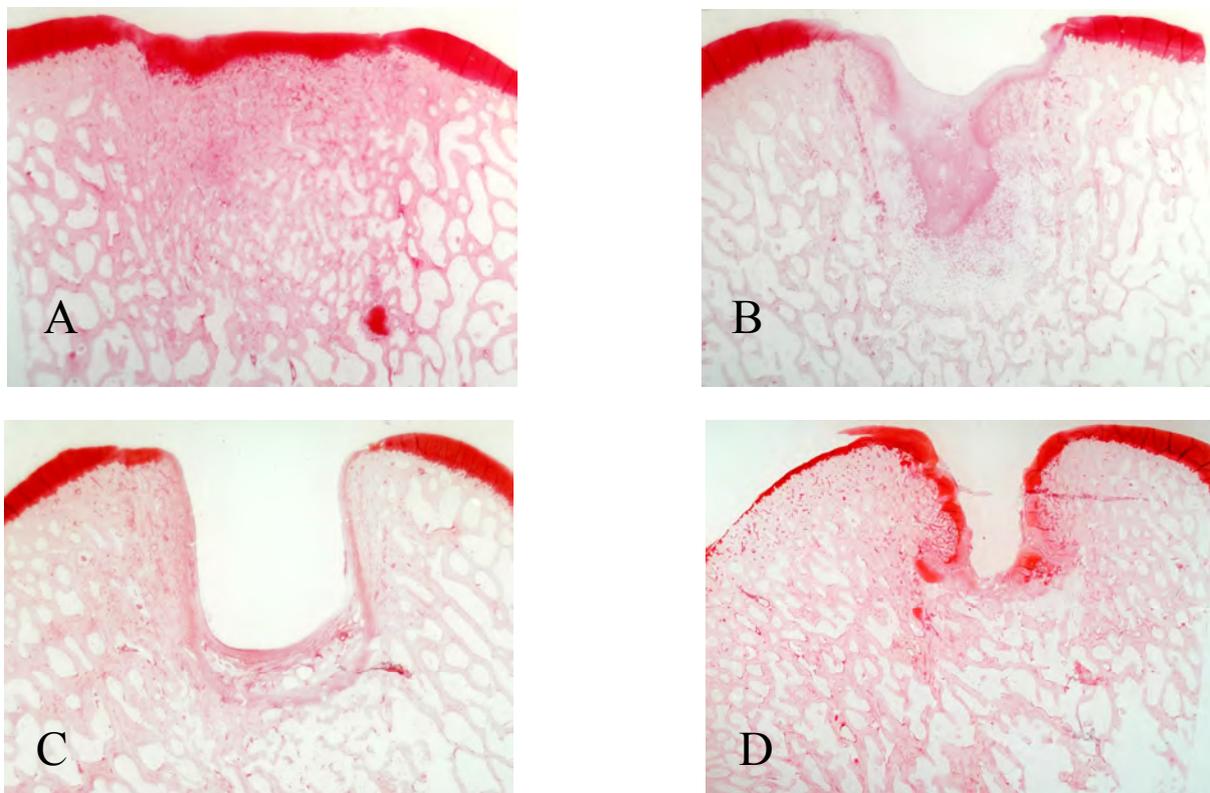


Abb. 15: Safranin-Orange Färbung; Auswahl von Leerdefekten, der Knorpel stellt sich intensiv rot und der Knochen nur blass rot dar; **A**= Leerdefekt aus OCT, **B**= Leerdefekt aus SC, **C**= Leerdefekt aus PW, **D**= Leerdefekt aus PH

Leerdefekt OCT-Gruppe: Zwei der Präparate waren nur bis zur Hälfte im Defekt mit Bindegewebe aufgefüllt. Ein Präparat war zu zwei Drittel und drei Präparate waren nahezu bis auf Niveau aufgefüllt. Zwei der unversorgten Präparate waren lediglich mit Knochen aufgefüllt, bei den anderen Präparaten hatte noch keine knöcherne Durchbauung der Leerdefekte stattgefunden. Diese Präparate waren nur mit Bindegewebe durchsetzt. In der

Mitte des Defektes wies ein Präparat einen Leerraum auf. Im Randbereich des Defektes waren die Trabekel stark verdickt und die Lumina deutlich verkleinert. Ein vollständiger Knorpelüberzug über dem Defekt wurde bei zwei Präparaten beobachtet, während bei zwei anderen Präparaten der Knorpel nur entlang des Defektrandes in die Tiefe zog. Die Knorpelneubildung war bei zwei Präparaten vollständig ausgeblieben (Abb. 15).

Leerdefekt SC-Gruppe: Alle Defekte waren nur bindegewebig aufgefüllt und zeigten eine unvollständige Rekonstruktion der Gelenkflächen, wobei zwei Präparate bis zur Hälfte, drei zu Dreiviertel und ein Präparat nahezu auf Niveau aufgefüllt waren. Bei fünf Präparaten waren die Trabekel im Randbereich verdickt und die Lumina verengt bis nicht mehr vorhanden. Die subchondrale Lamelle war bei drei Präparaten im Randbereich verdickt. Bei einem Präparat wurde im basalen Defektbereich ein Leerraum beobachtet, während in einem anderen Präparat basal die Trabekel aufgelockert waren. Die Knorpelneubildung zeigte viele verschiedene Formen. Der Knorpel bildete sich bei zwei Präparaten geringgradig im Randbereich über dem Defekt, aber auch in der Mitte des Defektes. Bei einem Präparat seitlich vom Randbereich hatte sich nur ein Fünftel Knorpel gebildet. Knorpelversprengungen im Defekt zeigte nur ein Präparat. In zwei Leerdefektpräparaten war nach zwölf Wochen kein knorpelähnliches Gewebe nachweisbar (Abb. 15).

Leerdefekt PW-Gruppe: Bei zwei Präparaten war der Defekt kaum aufgefüllt und entsprach fast der Ursprungsgröße des gebohrten Leerdefektes, hier wurde auch kein Knorpel gebildet. Zwei Präparate waren dreiviertel und zwei andere waren nahezu bis auf Niveau aufgefüllt. Nur ein Präparat war knöchern durchsetzt, die anderen Leerdefekt-Präparate waren bindegewebig aufgefüllt. Bei vier Präparaten waren die Trabekel im seitlichen Randbereich verdickt und die Lumina verengt bis nicht vorhanden. Bei zwei Präparaten war die subchondrale Lamelle deutlich verdickt. Bei der Hälfte der Präparate war Knorpel an den Defekträndern neu gebildet, die dann in die Tiefe des Defektes strahlten und von diesen hatte ein Präparat zusätzlich noch Knorpelinseln im basalen Defektbereich. Bei einem Präparat wurden im Defekt kleine Knorpelversprengungen beobachtet (Abb. 15). Bei einem Präparat wurde zuvor gebildetes Knorpelgewebe wieder zerstört und mittels Osteoblasten durch Knochengewebe ersetzt (Abb. 14).

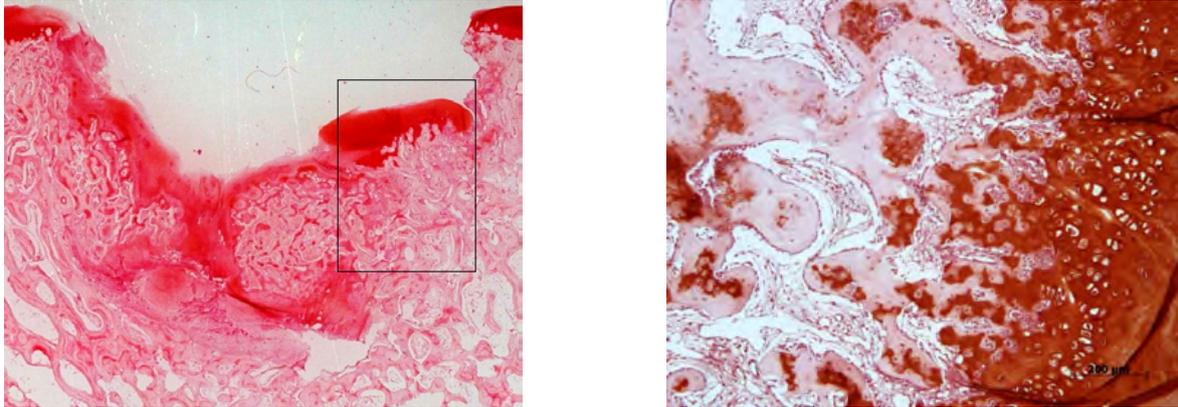


Abb. 14: Chondrale Ossifikation: die gebildeten Chondrozyten-Tochterzellen wurden von einer Knochenmanschette umgeben und somit wurde die Ernährung behindert. Das gebildete Knorpelgewebe wurde zerstört und mittels Osteoblasten durch Knochengewebe ersetzt.

Leerdefekt PH-Gruppe: Bei vier Präparaten blieb das Regeneratgewebe unter dem Niveau der ursprünglichen Gelenkfläche. Ein Präparat war im Defekt geringgradig mit Bindegewebe aufgefüllt. Drei Präparate waren bis zur Hälfte aufgefüllt, wobei ein Präparat einen größeren knöchernen Anteil besaß und die anderen zwei Präparate mehr Bindegewebe als Spongiosabälkchen aufwiesen. Im Randbereich des Defektes wurden bei allen Präparaten verdickte Trabekel beobachtet. Bei drei Präparaten war die subchondrale Lamelle im Defektrandbereich deutlich verdickt. Zwei Präparate hatten eine kongruente Gelenkoberfläche gebildet, die zum größten Teil bindegewebig aufgefüllt waren. Bei einem dieser Präparate war der Defekt vollständig mit Knorpel bedeckt, jedoch dünner als das angrenzende native Knorpelgewebe. Das andere Präparat zeigte eine Knorpelbildung oberhalb des Defektes vom Randbereich aus bis in die Mitte und dann bis zum Grund des Defektes. Bei vier Präparaten wurde der Knorpel von den Rändern entlang der Füllung gebildet, so dass der gesamte Defekt oberflächlich mit Knorpel überzogen war (Abb. 15). Bei drei Präparaten wurde eine enchondrale Ossifikation an den Defekträndern beobachtet (Abb. 14).

4.2.1.2 TRAP gefärbte Präparate

Die Osteoklasten zeigten Durchmesser von 50 bis zu 100 µm und hatten bis zu zehn Zellkerne. Da sich die Osteoklasten an der Knochenoberfläche in den Howship-Lakunen (Resorptionslakunen) befinden, wurden sie im knöchernen Teil des Regenerats gezählt und die Anzahl der Osteoklasten pro Defekt auf 50mm² Knochenfläche bezogen. Im folgenden Text wird jeweils der Medianwert der Osteoklasten dargestellt.

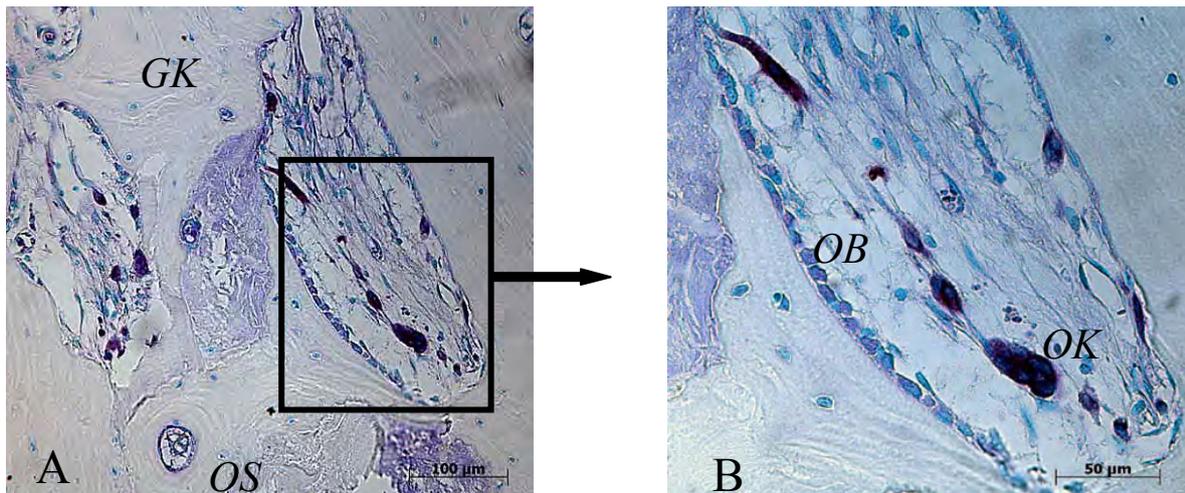


Abb. 16: TRAP-gefärbte Präparate, Gegenfärbung mit Methylgrün

A = mehrkernige Osteoklasten im Defektbereich: *OS* = Osteon; *GK* = Geflechtknochen;

B = Ausschnitt aus dem knöchernen Defektbereich: *OB* = Osteoblasten; *OK* = Osteoklasten

Aufgefüllter Defekt:

Bei den aufgefüllten Defekten waren in der kranialen ROI bei der OCT-Gruppe die höchste Anzahl der Osteoklasten mit 71 Osteoklasten/50mm² Knochenfläche zu finden, annähernd so viele besaß die SC-Gruppe mit 66 Osteoklasten/50mm². Die PW-Gruppe hatte 22 Osteoklasten/50mm² in der kranialen ROI und die PH-Gruppe nur 3 Osteoklasten/50mm². Mit großem Abstand hatte die SC-Gruppe mit 123 Osteoklasten/50mm² in der kaudalen ROI die meisten Osteoklasten. Bei der OCT-Gruppe wurden 75 Osteoklasten/50mm² gezählt. Die Präparate der PW-Gruppe besaßen mit 38 Osteoklasten/50mm² nur die Hälfte der Osteoklastenzahl. Bei der PH-Gruppe lag die Osteoklastenzahl bei 30 Osteoklasten/50mm². In der basalen ROI wurden im gefüllten Defekt 67 Osteoklasten/50mm² bei der OCT-Gruppe, 54 Osteoklasten/50mm² bei der SC-Gruppe, 43 Osteoklasten/50mm² bei der PW-Gruppe und 24 Osteoklasten/50mm² bei der PH-Gruppe gezählt. Wird die Füllung mit dem Leerdefekt in Bezug auf ROI 4 verglichen, zeigte sich, dass bis auf die OCT-Gruppe die gefüllten Defekte mehr Osteoklasten aufwiesen als der korrespondierende Leerdefekt. Im ursprünglichen Defekt (ROI 4) wurden 451 Osteoklasten/50mm² bei der PW-Gruppe, 274 Osteoklasten/50mm² bei der OCT-Gruppe, 181 Osteoklasten/50mm² bei der PH-Gruppe und 178 Osteoklasten/50mm² bei der SC-Gruppe gezählt. Der Kruskal-Wallis-Test ergab bei der Defektfüllung in allen vier ROIs keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Im Vergleich der Randbereiche mit dem Wilcoxon-Test trat nur ein signifikanter Unterschied bei

der SC-Gruppe auf. Die Osteoklastenzahl war in der kaudalen ROI signifikant höher als in der basalen ROI ($p=0,028$).

Leerdefekt:

In allen vier ROIs des Leerdefektes wurden die höchsten Osteoklastenzahlen bei der OCT-Leerdefekt-Gruppe beobachtet. In der kranialen ROI (ROI 1) des Leerdefektes wurden bei der OCT-Gruppe die meisten Osteoklasten mit 84 Osteoklasten/50mm² gezählt. Mit einem großen Abstand folgten die PH-Präparate mit 21 Osteoklasten/50mm². Die PW-Präparate besaßen in der kranialen ROI lediglich 14 Osteoklasten/50mm² und die SC-Gruppe wies nur die Hälfte Osteoklastenzahl mit 7 Osteoklasten/50mm² auf. In der kaudalen ROI (ROI 3) des Leerdefektes wurde eine große Anzahl mit 122 Osteoklasten/50mm² bei der OCT-Gruppe an der Knochenoberfläche gezählt. Bei der SC- und der PW-Gruppe wurden 18 mehrkernige Osteoklasten/50mm² und bei der PH-Gruppe lediglich 12 Osteoklasten/50mm² erfasst. In der basalen ROI (ROI 2) unterhalb des gebohrten Leerdefektes wurden 134 Osteoklasten/50mm² bei der OCT-Gruppe und 9 Osteoklasten/50mm² bei der PW-Gruppe gezählt. Bei der SC- und der PH-Gruppe war in der ROI 2 die gleiche Anzahl mit je 4 Osteoklasten/50mm² zu finden.

Im gebohrten Leerdefektbereich (ROI 4) wies die OCT-Gruppe nahezu die doppelte Osteoklastenzahl mit 337 Osteoklasten/50mm² im Vergleich zu der PW-Gruppe mit 180 Osteoklasten/50mm² auf. Der Leerdefekt der PH-Gruppe besaß 175 Osteoklasten/50mm². Die niedrigste Osteoklastenzahl mit nur 58 Osteoklasten/50mm² zeigte sich bei der SC-Gruppe.

Zwischen den vier verschiedenen Operationsmethoden ergab sich in der kranialen, kaudalen und basalen ROI des Leerdefektes statistisch signifikante Unterschiede, wobei die OCT-Gruppe immer eine höhere Osteoklastenzahl aufzeigte sowohl gegenüber der SC-Gruppe als auch gegenüber den Scaffold-Gruppen. In der kranialen ROI zeigte sich eine signifikant höhere Osteoklastenzahl der OCT-Gruppe sowohl gegenüber der SC-Gruppe ($p=0,002$), als auch gegenüber der Scaffold-Gruppen (PW-Gruppe $p=0,002$, PH-Gruppe $p=0,009$). In der kaudalen ROI des Leerdefektes wies die OCT-Gruppe eine signifikant höhere Osteoklastenzahl auf im Vergleich zur SC-Gruppe ($p=0,047$) und gegenüber den Scaffold-Gruppen ($p=0,047$). Die Osteoklastenzahl war in der basalen ROI bei der OCT-Gruppe signifikant höher, als bei der SC-Gruppe ($p=0,037$) und auch den Scaffold-Gruppen ($p=0,037$). Zwischen der PW-Gruppe und der PH-Gruppe konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede in den Randbereichen des Leerdefektes gefunden werden.

Ausschließlich im Leerdefekt der SC-Gruppe wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen ROIs beobachtet. Der Wilcoxon-Test ergab zwischen den drei Randbereichen eine signifikant höhere Osteoklastenzahl der kaudalen ROI gegenüber der basalen ROI ($p=0,046$) und gegenüber der kranialen ROI ($p=0,046$). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den vier verschiedenen Operationsgruppen in Bezug auf die Osteoklastenzahl in der ROI 4 im Leerdefekt.

Native Kondyle:

In der kranialen ROI wurden lediglich bei der OCT-Gruppe 3 Osteoklasten/50mm² gezählt. Die anderen drei Gruppen waren in der kranialen ROI osteoklastenfrei. In der kaudalen ROI wurde je ein Osteoklast bei der OCT-Gruppe und der PH-Gruppe gezählt. Sowohl die SC-Gruppe und PW-Gruppe in der kaudalen ROI, als auch alle vier Gruppen in der basalen ROI wiesen keine Osteoklasten auf. In der ROI 4 der nativen Kondyle wurden nur bei den OCT-Tieren 11 Osteoklasten/50mm² gezählt, in den anderen drei Gruppen sind keine Osteoklasten nachgewiesen worden. Bei den nativen Kondylen gab es nur in der ROI 4 eine signifikant höhere Osteoklastenzahl in der OCT-Gruppe sowohl gegenüber der SC-Gruppe ($p=0,013$) als auch gegenüber der PW-Gruppe ($p=0,003$).

A) Vergleich der beiden Defekte und der nativen Kondyle in der kranialen ROI

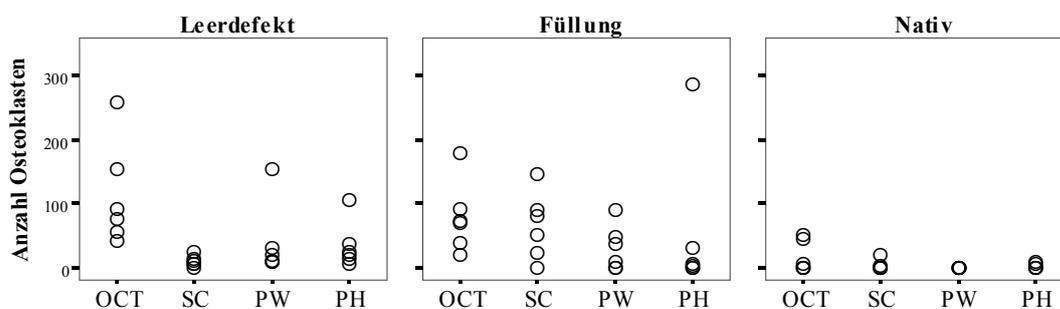


Diagramm 1: Anzahl der Osteoklasten in der kranialen ROI der vier verschiedenen Operationsmethoden

Die Osteoklastenzahl der OCT-Gruppe in der kranialen ROI (Diagr. 1) ist signifikant niedriger bei der nativen Kondyle gegenüber der OCT-Füllung ($p=0,028$) und gegenüber des Leerdefektes ($p=0,028$). Eine signifikant höhere Osteoklastenzahl war bei der SC-Füllung gegenüber des Leerdefektes ($p=0,046$) und gegenüber der nativen Kondyle ($p=0,043$) zu finden. Der Leerdefekt der PW-Gruppe hatte eine signifikant höhere Osteoklastenzahl

gegenüber der nativen Kondyle ($p=0,028$). In der kranialen ROI der PH-Gruppe konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

B) Vergleich der beiden Defekte und der nativen Kondyle in der basalen ROI

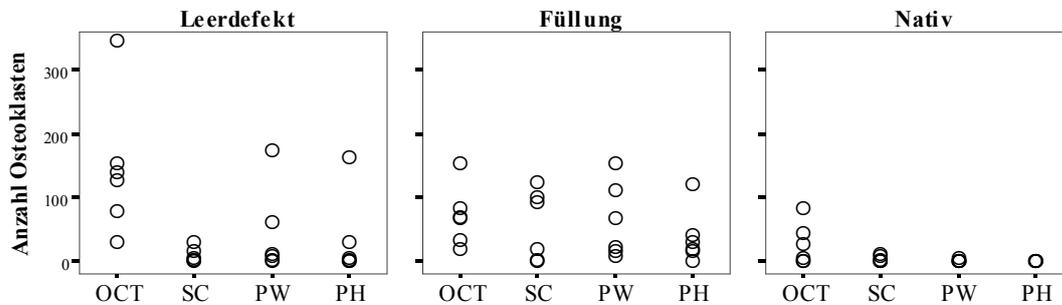


Diagramm 2: Anzahl der Osteoklasten in der basalen ROI der vier verschiedenen Operationsmethoden

Der PW-Leerdefekt ($p<0,001$) und die PW-Füllung ($p<0,001$) zeigten in der basalen ROI eine signifikant höhere Osteoklastenzahlen gegenüber der nativen Kondyle (Diagr. 2).

C) Vergleich der beiden Defekte und der nativen Kondyle in der kaudalen ROI

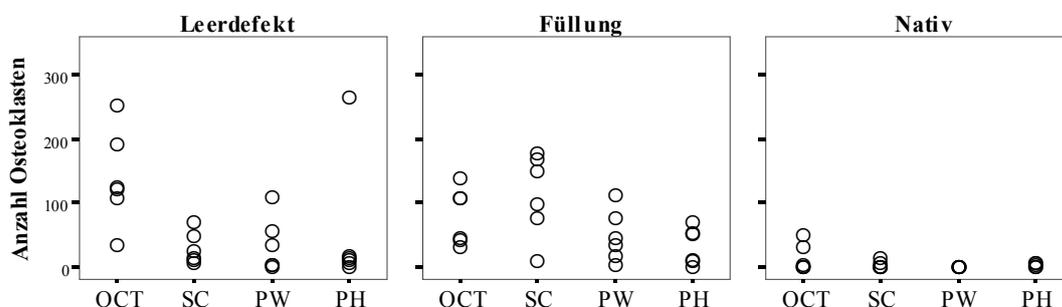


Diagramm 3: Anzahl der Osteoklasten in der kaudalen ROI der vier verschiedenen Operationsmethoden

Der OCT-Leerdefekt hatte in der kaudalen ROI (Diagr. 3) eine signifikant höhere Osteoklastenzahl gegenüber der OCT-Füllung ($p=0,046$) und gegenüber der nativen Kondyle ($p=0,028$). Die SC-Gruppe und die PW-Gruppe zeigten beide signifikante Unterschiede sowohl zwischen dem Leerdefekt und der nativen Kondyle, als auch zwischen der Füllung und der nativen Kondyle. Die nativen Kondylen zeigten jeweils die geringsten Osteoklastenzahlen. Bei der PH-Gruppe wurde kein signifikanter Unterschied in der kaudalen ROI in Bezug auf den Leerdefekt, der Füllung und der nativen Kondyle beobachtet.

D) Vergleich der beiden Defekte und der nativen Kondyle im Defektbereich

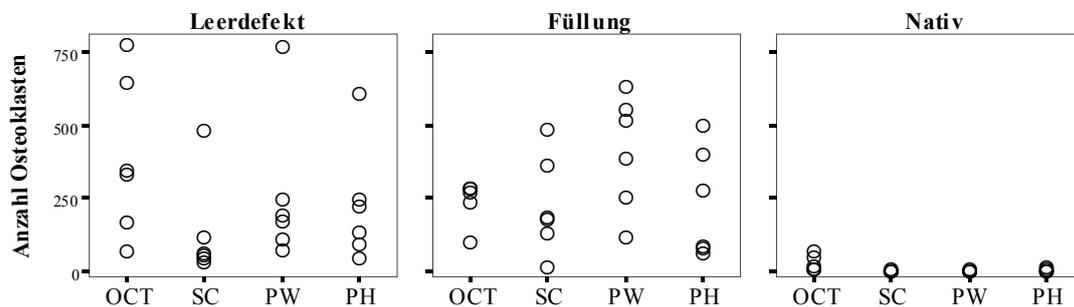


Diagramm 4: Anzahl der Osteoklasten in der ROI 4 der vier verschiedenen Operationsmethoden; höhere Skala der Osteoklasten: 0-800; in der unbehandelten, nativen Kondyle ist eine sehr geringe Osteoklastenzahl zu sehen, während in den gefüllten – und Leerdefekten die Osteoklastenzahl stark erhöht ist

Die Untersuchung des eigentlichen Defektes (ROI 4) zeigte bei allen vier Operationsmethoden sowohl zwischen dem Leerdefekt und der nativen Kondyle, als auch zwischen der Füllung und der nativen Kondyle signifikante Unterschiede. Die OCT-, die SC- und die PW-Gruppe wiesen zwischen Leerdefekt und nativer Kondyle und auch zwischen Füllung und nativer Kondyle einen signifikanten Unterschied von $p=0,028$ auf. Die Leerdefekte und die drei Füllungen zeigten signifikant mehr Osteoklasten auf, als die nativen Kondylen. Bei der PH-Gruppe bestand ein signifikanter Unterschied bei der nativen Kondyle verglichen sowohl mit dem Leerdefekt, als auch mit der Füllung ($p=0,043$). Der PH- Leerdefekt und die PH-Füllung zeigten signifikant mehr Osteoklasten als die nativen Kondylen (Diagr. 4).

4.2.2 Ergebnisse des Scores

Jedes Präparat wurde mittels einem modifizierten O'Driscoll-Score und einem eigens entwickeltem Score ausgewertet.

A) Ergebnisse der vier verschiedenen Defektfüllungen anhand jedes einzelnen Scorekriteriums

Das erste Scorekriterium beurteilte den prozentualen Anteil des hyalinen Knorpels im Defektbereich gemessen anhand der Kollagen II gefärbten Präparate. Die Höchstpunktzahl von acht Punkten, die einen prozentualen Anteil hyalinen Knorpels von 80-100% entspricht, wurde bei der OCT-, PW- und PH-Gruppe vergeben (Tab. 4). Im Median waren die Defekte

der OCT-Gruppe mit 70-90%, die SC-Gruppe mit 0-20%, die PW-Gruppe mit 60-80%, und die PH-Gruppe mit 40-60% hyalinen Knorpels aufgefüllt. In der Färbung der histologischen Präparate mit Safranin-Orange wiesen die SC-Präparate im Median durchweg eine geringe Anfärbbarkeit der Knorpelmatrix mit weniger als 40%iger homogener positiver Färbung auf. Dieses spricht für einen stark verminderten Gehalt an sauren Glykosaminoglykanen. Die PW-Gruppe hatte eine 40-80%ige homogene positive Knorpelmatrixanfärbung. Bei der OCT-Gruppe war die Hälfte der Präparate 40-80% homogen positiv angefärbt, und die andere Hälfte hatte eine mehr als 80%ige homogene positive Anfärbung. Bei der Verwendung der harten Scaffolds zeigte sich ein weitgehend homogen rot eingefärbter Knorpel. Das Regenerat verfügte über eine 80%ige homogene Safranin-Orange Färbung und somit über eine höhere Menge an physiologischen Matrixbestandteilen.

Merkmale		OCT	SC	PW	PH
Punktwert des prozentualen Anteils hyalinen Knorpels	Median	7	0	6	4
	Maximalwert	8	6	8	8
	Minimalwert	0	0	2	2
Safranin-Orange Färbung	Median	1,5	0	1	2
	Maximalwert	2	2	2	2
	Minimalwert	1	0	1	1

Tab. 4: Bewertung des vorherrschenden Gewebes

In der weiteren Beschreibung wird immer vom Medianwert gesprochen, wenn nicht ausdrücklich auf den Minimalwert oder Maximalwert hingedeutet wird. Die Oberflächenbeschaffenheit der gefüllten Defekte der OCT-Gruppe war glatt und intakt, und die Integrität physiologisch. Dementsprechend wurde bei den beiden Kriterien immer die höchste Punktzahl vergeben. Die gefüllten Defekte der SC-Gruppe zeigten Risse und Fibrillen in der Oberfläche auf, und das Regenerat war kaum integriert. Die eine Hälfte der gefüllten Defekte der PW-Präparate hatte eine glatte und intakte Gelenkoberfläche im ehemaligen Defektareal. Die andere Hälfte der gefüllten Defekte der PW-Präparate und alle PH-Präparate wiesen Fissuren auf. Bei der PH-Gruppe ließen sich keine Auffälligkeiten an der strukturellen

Integrität nachweisen. Die Untersuchung der Verbindung des entstandenen Regenerats zum umliegenden Knorpel ergab bei allen SC-Präparaten und bei der Mehrzahl der OCT-Präparate eine Spaltbildung zwischen dem Transplantat und dem angrenzenden Knorpel. Bei den PH-Präparaten war der im Defekt gebildete Knorpel auf beiden Seiten zum umliegenden Knorpel verbunden. Bei der PW-Gruppe gab es lediglich eine partielle Anbindung. Die eine Hälfte war auf beiden Seiten zum umliegenden Knorpel verbunden, die andere Hälfte war entweder nur auf einer Seite mit dem Knorpel verbunden, oder teilweise auf beiden Seiten verbunden (Tab. 5).

Merkmal		OCT	SC	PW	PH
Oberflächen- beschaffenheit	Median	2	0	1,5	1
	Maximalwert	2	2	2	1
	Minimalwert	1	0	0	1
Strukturelle Integrität	Median	2	0	1	2
	Maximalwert	2	0	2	2
	Minimalwert	1	0	0	1
Knorpeldicke	Median	1	0	1	1
	Maximalwert	2	1	1	1
	Minimalwert	1	0	0	1
Verbindung zum umliegenden Knorpel	Median	0	0	1,5	2
	Maximalwert	1	0	2	2
	Minimalwert	0	0	1	1

Tab. 6: Bewertung der strukturellen Charakteristik

Degenerative Erscheinungen in Form zellulärer Veränderungen wurden in den Regeneraten beobachtet. Die Regenerate der gefüllten Defekte der OCT-, PW- und PH-Gruppe wiesen eine leichte Hypozellularität im ganzen Knorpelbereich und weniger als 25% Chondrozytencluster in den Randbereichen auf. Die gefüllten Defekte der SC-Präparate hatten entweder eine moderate Hypozellularität im Vergleich zum hyalinen Knorpel, oder eine Hyperzellularität

und entlang der Grenze des Regenerats waren mehr als 25% Chondrozytencluster zu erkennen (Abb. 17). Diese Chondrozytencluster sind eine als einheitliches Ganzes zu betrachtende Menge von degenerierten Chondrozyten mit leeren Höfen, die so genannten Geisterhöfe. Die degenerierten Chondrozyten sind infolge einer Zellschädigung in Bezug auf die zelluläre Struktur oder Funktion entartet. Degenerationszeichen für den anliegenden Knorpel waren bei den gefüllten Defekten der OCT- und der PH-Gruppe nur vereinzelt zu beobachten mit einzelnen Clustern. Der gefüllte Defekt der PW-Gruppe wies deutlich mehr Cluster auf, jedoch war die Matrixanfärbung unauffällig und die Zellularität normal. Der umliegende Knorpel bei den SC-Präparaten hatte eine milde oder moderate Hypozellularität und nur eine leichte Anfärbung der Matrix (Tab. 6).

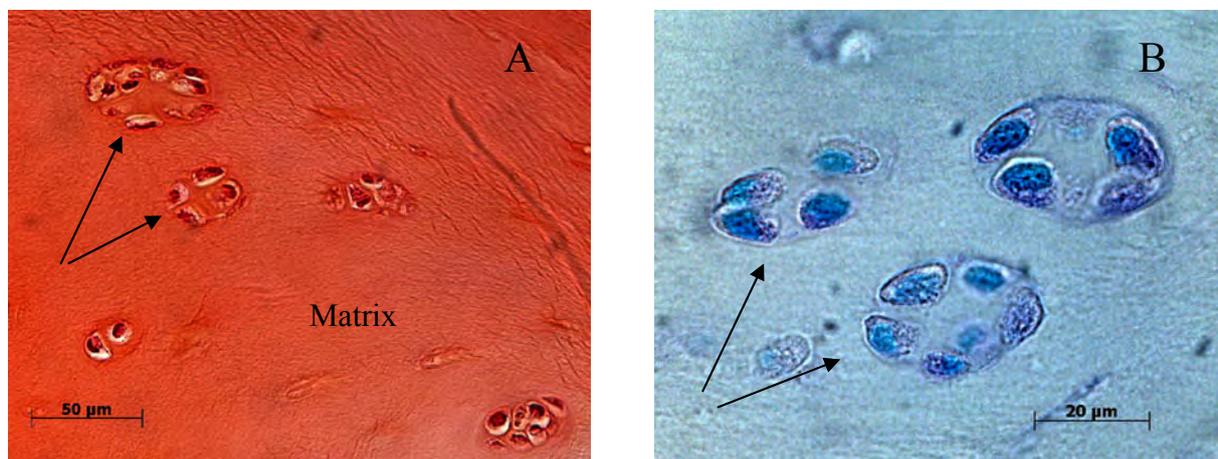


Abb. 17: Chondrozytencluster aus dem Randbereich des Knorpels im gefüllten Defekt; **A**= Safranin-Orange Färbung; **B**= TRAP-Färbung; Geisterzellen in Chondrozytenlakunen (Pfeil)

Merkmal		OCT	SC	PW	PH
Degenerative zelluläre Veränderungen	Median	1	0	1	1
	Maximalwert	2	1	1	1
	Minimalwert	1	0	1	1
Degenerative Veränderungen im umliegenden Knorpel	Median	2,5	1,5	2	3
	Maximalwert	3	2	3	3
	Minimalwert	2	0	1	2

Tab. 7: Bewertung der Degenerationszeichen

Die Defekte wurden drei Kategorien zugeteilt: vollständige Rekonstruktion, mehr als 50%ige und weniger als 50%ige Rekonstruktion der subchondralen Lamelle. Die subchondrale Regeneration bei den Methoden OCT, Spongiosacluster und den weichen Scaffolds war in der Mehrzahl der Fälle geringer als 50%, lediglich bei der Gruppe der harten Scaffolds war die subchondrale Regeneration bis auf einen Defekt mehr als 50%. Bei der Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und subchondralen Knochen dominierte bei der OCT- und PH-Gruppe die Kategorie vollständige und ununterbrochene Verbindung. Bei der PW-Gruppe war bei der Hälfte der Präparate der regenerierte Knorpel vollständig und ununterbrochen mit dem subchondralen Knochen verbunden, bei der anderen Hälfte lag die Verbindung zwischen 50 und 100%. Die SC-Präparate wiesen, mit Ausnahme eines Präparates, eine geringere als 50%ige Verbindung auf (Tab. 8).

Merkmal		OCT	SC	PW	PH
Rekonstruktion der subchondralen Lamelle	Median	0,5	0	0	1
	Maximalwert	2	1	1	1
	Minimalwert	0	0	0	0
Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und subchondralem Knochen	Median	2	0	1,5	2
	Maximalwert	2	1	2	2
	Minimalwert	1	0	1	1

Tab. 8: Rekonstruktion des subchondralen Knochens

Zum zwölf Wochen Zeitpunkt war die Auffüllung im gefüllten Defektbereich (Tab. 9) mit 91-110% bei den beiden Scaffold-Gruppen am höchsten. Bei der OCT-Gruppe lag die prozentuale Auffüllung bei 77-96%. Die SC-Gruppe war mit 40-80% am geringsten aufgefüllt. Das Vorhandensein von Entzündungszellen war im Median bei der OCT-Gruppe geringfügig niedriger als bei den anderen drei Gruppen. Fremdkörperriesenzellen konnten bei der OCT- und SC-Gruppe nicht beobachtet werden. In vier Präparaten der PW-Gruppe und in allen sechs Präparaten der PH-Gruppe wurden im Kontaktbereich des Scaffolds zum Knochen Fremdkörperriesenzellen (Abb. 18) beobachtet. Das Auftreten dieser Zellen war jedoch lokal auf diesen Bereich begrenzt.

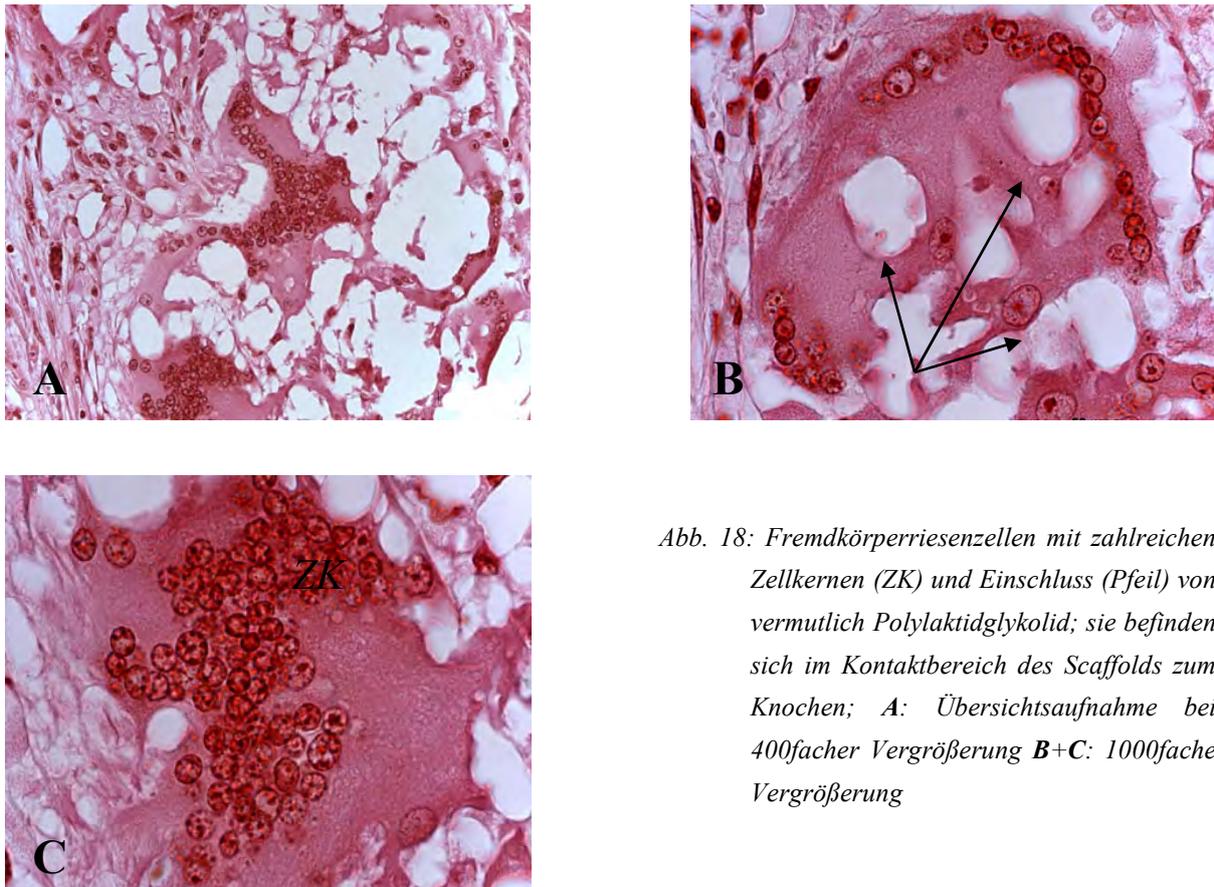


Abb. 18: Fremdkörperriesenzellen mit zahlreichen Zellkernen (ZK) und Einschluss (Pfeil) von vermutlich Polylaktidglykolid; sie befinden sich im Kontaktbereich des Scaffolds zum Knochen; A: Übersichtsaufnahme bei 400facher Vergrößerung B+C: 1000fache Vergrößerung

Merkmal		OCT	SC	PW	PH
Auffüllung im Defektbereich	Median	3,5	2,5	4	4
	Maximalwert	4	3	4	4
	Minimalwert	3	1	3	3
Laterale knöcherne Integrität	Median	1,5	1	1	2
	Maximalwert	2	2	1	2
	Minimalwert	1	0	1	1
Basale Integrität	Median	3	1	0	2
	Maximalwert	3	2	2	3
	Minimalwert	1	0	0	1
Entzündungs- reaktion	Median	1,5	2	2	2
	Maximalwert	2	2	2	2
	Minimalwert	1	0	2	0

Fremdkörper- reaktion	Median	1	1	0	0
	Maximalwert	1	1	1	0
	Minimalwert	1	1	0	0

Tab. 9: Erweiterung des Scores

B) Ergebnisse der Leerdefekte anhand jedes einzelnen Scorekriteriums

SCORE A		OCT	SC	PW	PH
Punktwert des prozentualen Anteils hyalinen Knorpels	Median	0	0	3	2
	Maximalwert	4	2	8	6
	Minimalwert	0	0	0	2
Oberflächen- beschaffenheit	Median	1	1	0,5	1
	Maximalwert	2	2	1	1
	Minimalwert	1	1	0,5	1
Strukturelle Integrität	Median	0,5	0	1	1
	Maximalwert	2	0	2	2
	Minimalwert	0	0	0	0
Knorpeldicke	Median	0	0	0	1
	Maximalwert	1	0	1	1
	Minimalwert	0	0	0	0
Verbindung zum umliegenden Knorpel	Median	0	0	1	1
	Maximalwert	2	1	2	2
	Minimalwert	0	0	1	0
Degenerative zelluläre Veränderungen	Median	0,5	1,5	1	1
	Maximalwert	1	0	1	1
	Minimalwert	0	0	0	0

Degenerative Veränderungen im umliegenden Knorpel	Median	2	1,5	2	1
	Maximalwert	3	2	3	3
	Minimalwert	2	0	2	0
Rekonstruktion des subchondralen Knochens	Median	0	0	0	0
	Maximalwert	1	0	1	1
	Minimalwert	0	0	0	0
Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und subchondralem Knochen	Median	0	0	1	1
	Maximalwert	2	0	2	2
	Minimalwert	0	0	0	1
Safranin-Orange	Median	0,5	0	1	1
	Maximalwert	2	1	2	2
	Minimalwert	0	0	0	0

Score B		OCT	SC	PW	PH
Auffüllung im Defektbereich	Median	2,5	3	3,5	3
	Maximalwert	3	3	4	4
	Minimalwert	2	2	2	2
Laterale knöcherne Integration	Median	1	0	1	1
	Maximalwert	2	1	2	2
	Minimalwert	0	0	0	1
Basale knöcherne Integration	Median	0	0,5	0	1
	Maximalwert	3	2	2	2
	Minimalwert	0	0	0	0

	Median	1	2	2	0,5
Entzündungsreaktion	Maximalwert	2	2	2	1
	Minimalwert	1	0	2	0
	Median	1	1	1	1
Fremdkörperreaktion	Maximalwert	1	1	1	1
	Minimalwert	1	1	1	1

Für jedes Präparat wurde gemäß des Scorings nach O’Driscoll Punkte vergeben. Im Score A konnten 27 Punkte und im Score B 12 Punkte erreicht werden.

C) Ergebnisse der aufgefüllten Defekte anhand der Gesamtpunktzahl von Score A, B, A+B

Im Score A, Score B und im Gesamtscore (Score A+B) zeigte sich bei den aufgefüllten Defekten der vier verschiedenen Defektfüllungen stets die gleiche Reihenfolge (OCT > PH > PW > SC). Bei den aufgefüllten Defekten erhielten die Präparate der OCT-Gruppe im modifizierten Score nach O’Driscoll (Score A) mit 19,5 Punkten die höchste Punktzahl und zeigten somit das beste Regeneratergebnis. Die beiden Scaffold-Gruppen lagen sehr dicht beieinander, die PH-Gruppe erhielt 17 Punkte, die PW-Gruppe 16,5 Punkte. Die SC-Gruppe zeigte mit 2 Punkten eine fehlgeschlagene Regeneration im Defektbereich mit schwerster Schädigung des angrenzenden Knorpelgewebes. Bei der alleinigen Betrachtung des ergänzenden Scores (Score B) erhielt die OCT-Gruppe mit 10,5 Punkten und die PH-Gruppe mit 10 Punkten nahezu die Höchstpunktzahl und das Regenerat war daher fast perfekt zum Untersuchungszeitpunkt. Die PW-Gruppe erzielte 7,5 Punkte und die SC-Gruppe 7 Punkte. Die mögliche Höchstzahl von 39 Punkten für ein perfektes Regenerat wurde von keiner Gruppe erreicht. Bei der Gesamtzahl der beiden Scores erhielt die OCT-Gruppe 29,5 Punkte, die PH-Gruppe insgesamt 27 Punkte, die PW-Gruppe 25 Punkte und mit Abstand die niedrigste Punktzahl erzielte die SC-Gruppe mit 9 Punkten.

D) Ergebnisse der Leerdefekte anhand der Gesamtpunktzahl von Score A, B, A+B

Im modifizierten Score nach O’Driscoll (Score A) ergab sich bei den beiden synthetischen Scaffold-Gruppen in den Leerdefekten ein Medianwert von jeweils 10,5 Punkten. Die OCT-

Gruppe erhielt im Median 7 Punkte und die SC-Gruppe 2,5 Punkte. In Bezug auf den Score A wurden Unterschiede im Leerdefekt der unterschiedlichen Gruppen deutlich. Die Leerdefekte der PW-Gruppe schnitten im Score B mit 7,5 Punkten am besten ab. Die OCT-Gruppe erhielt 7 Punkte und die PH-Gruppe 6,5 Punkte. Die SC-Gruppe erreichte im Leerdefekt mit 5,5 Punkten, knapp die Hälfte der maximalen Punktzahl des Scores. Im gesamten Score (A+B) wiesen die Leerdefekte der PW-Gruppe mit 17,5 Punkten die höchste Punktzahl auf. Dicht gefolgt wurde mit 16 Punkten die PH-Gruppe, mit 12,5 Punkten die OCT-Gruppe und mit der geringsten Punktzahl die SC-Gruppe mit 8,5 Punkten bewertet. Es wurde im Score B und im Gesamtscore (Score A+B) jedoch deutlich, dass sehr große Unterschiede in der Punkteanzahl in den Leerdefekten zu verzeichnen waren.

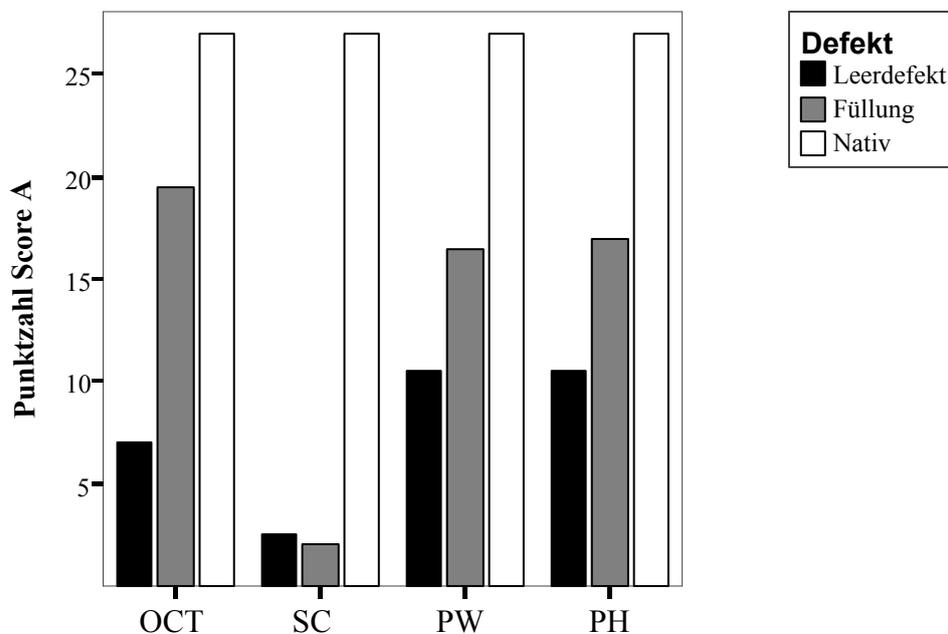


Diagramm 5: Punktzahl Score A, modifizierter Score nach O'Driscoll

Score A:

Im modifizierten Score nach O'Driscoll (Diagr. 5) wies die OCT-Füllung einen signifikant höheren Scorewert gegenüber der SC-Füllung ($p=0,004$) auf. Der Mann-Whitney U-Test ergab einen signifikant niedrigeren Scorewert der SC-Leerdefekte gegenüber der PW-Leerdefekte ($p=0,009$) und gegenüber der PH-Leerdefekte ($p=0,002$).

Die Untersuchung auf einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Füllung und dem Leerdefekt wurde mit dem Wilcoxon-Test durchgeführt. Die OCT-Gruppe hatte einen signifikant höheren ($p=0,046$) Scorewert im Score A für den gefüllten im Vergleich zum ungefüllten Defekt. Bei der SC-, der PW, und der PH-Gruppe war kein statistisch signifikanter Unterschied in der Beurteilung der Füllung gegenüber dem Leerdefekt durch den modifizierten Score nach O’Driscoll festzustellen.

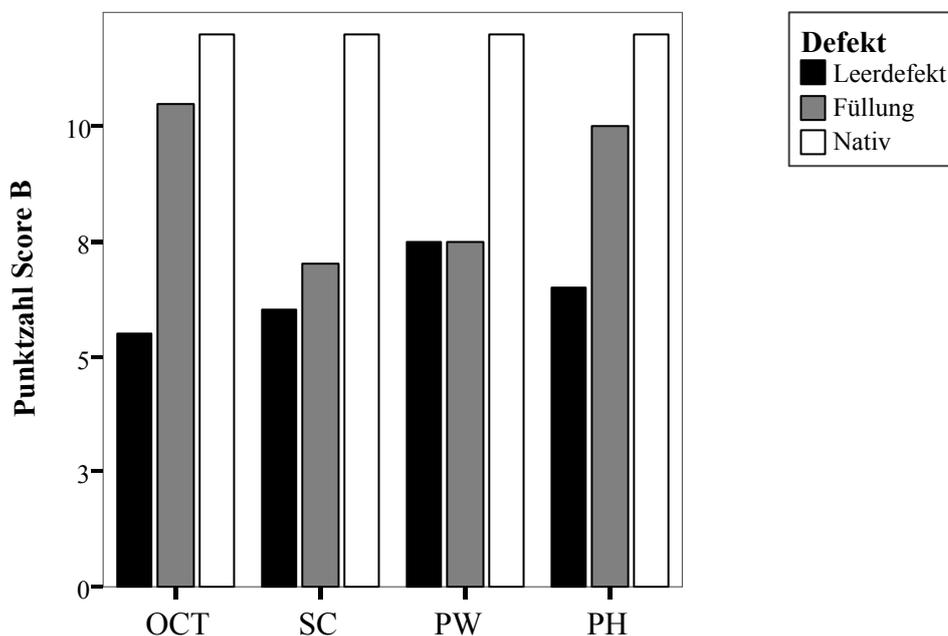


Diagramm 6: Punktzahl Score B, eigens entwickelter, erweiterter Score

Score B:

Auch im Score B (Diagr. 6) hatte die OCT-Füllung einen signifikant höheren Scorewert gegenüber der SC-Füllung ($p=0,01$) und gegenüber der PW-Füllung ($p=0,026$). Weder im Score B noch im Gesamtscore (Score A+B) der Leerdefekt-Präparate war ein signifikanter Unterschied zu erkennen.

Der Wilcoxon-Test ergab für den erweiterten Score (Score B) in der OCT-Gruppe einen signifikant höheren ($p=0,042$) Scorewert für den gefüllten im Vergleich zum ungefüllten Defekt. Bei der SC-Gruppe und der PW-Gruppe wurde kein signifikanter Unterschied zwischen gefüllten und ungefüllten Defekt nachgewiesen. Die PH-Gruppe zeigte einen

statistisch signifikant höheren ($p=0,041$) Scorewert für den gefüllten Defekt im Vergleich zum ungefüllten.

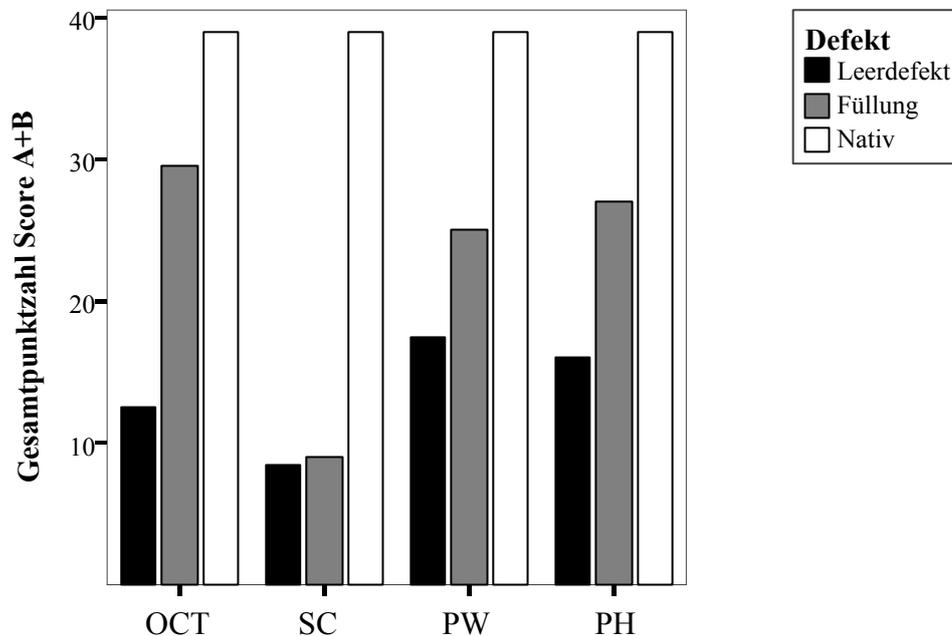


Diagramm 7: Gesamtpunktzahl Score A+B

Gesamtscore A+B:

Im gesamten Score (Score A+B) zeigte die OCT- und die PH-Füllung einen signifikant höheren Scorewert ($p=0,004$) als die SC-Füllung. Die PW-Füllung hatte auch einen signifikant höheren und somit besseren Scorewert ($p=0,009$) im Vergleich zu der SC-Füllung. Im Gesamtscore (Score A+B) der Leerdefekt-Präparate war kein signifikanter Unterschied zu erkennen (Diagr. 7).

Der Wilcoxon-Test ergab für den Gesamtscore (Score A+B) in der OCT-Gruppe einen signifikant höheren Scorewert für den gefüllten im Vergleich zum ungefüllten Defekt ($p=0,043$). Bei der SC-, der PW und der PH-Gruppe wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt.

4.2.3 Ergebnisse der histomorphometrischen Auswertung

Die Darstellung der Ergebnisse erfolgte anhand der Mittelwerte. Als Gewebeanteile wurde die Kollagen I und II Färbung, die Leerfläche, der undefinierte Rest und die Implantatreste

beurteilt. Der Anteil von transplantiertem Knochen, als auch von neu gebildetem Knochen wurde anhand der Kollagen I Färbung beurteilt. In einer weiteren Auswertung wurde die prozentuale Deckung des Defektes mit knorpelähnlichem Gewebe untersucht. Der Anteil von transplantiertem Knorpel und neu gebildetem Knorpel wurde anhand der Kollagen II Färbung ausgewertet. Die Leerfläche spiegelt die Höhe des Auffüllungsgrades des Defektes wieder. Zu dem undefinierten Rest gehört jenes unbekannte Gewebe, welches sich nicht als Kollagen I, Kollagen II oder Leerfläche dargestellt hat, dazu zählt vor allem das Bindegewebe und die Lakunen. Zusätzlich waren bei den Scaffolds Reste des Implantats im Knochenbereich zu erkennen.

Aufgefüllter Defekt:

Der ossäre Auffüllungsgrad, war bei den gefüllten Defekten (Diagr. 8) bei der OCT-Gruppe mit 55,8% am größten. Die SC-Gruppe hatte einen Kollagen I Anteil von 42,5%, die PW-Gruppe von 33,1% und die PH-Gruppe von nur 28,0%. Im Vergleich war der Kollagen I Anteil im aufgefüllten Defektbereich bei der OCT-Gruppe signifikant höher gegenüber der PW-Gruppe ($p=0,006$) und der PH-Gruppe ($p=0,004$). Der Kollagen II Anteil war mit 14% bei den beiden Scaffold-Gruppen am höchsten, die OCT-Gruppe hatte 11,7% und die SC-Gruppe nur 5,3%. Der Anteil des noch vorhandenen Scaffold war bei den weichen mit 14,1% geringer als bei den harten mit 15,8%. Der unaufgefüllte Bereich im gefüllten Defekt lag im Mittel bei der SC-Gruppe bei 16,8%. Die PW-Gruppe hatte eine Leerfläche von 11,4%, die PH-Gruppe 8,0% und die OCT-Gruppe wies lediglich eine Leerfläche von 5,0% auf. Die SC-Gruppe hatte einen signifikant höheren Leerflächenanteil gegenüber der OCT-Gruppe ($p=0,009$). Das unbekannte Gewebe erzielte gleiche Ergebnisse bei der OCT- und der PW-Gruppe mit 27,4%. Die SC- und die PH-Gruppe waren auch nahezu identisch mit 35,5% (SC) und 34,2% (PH).

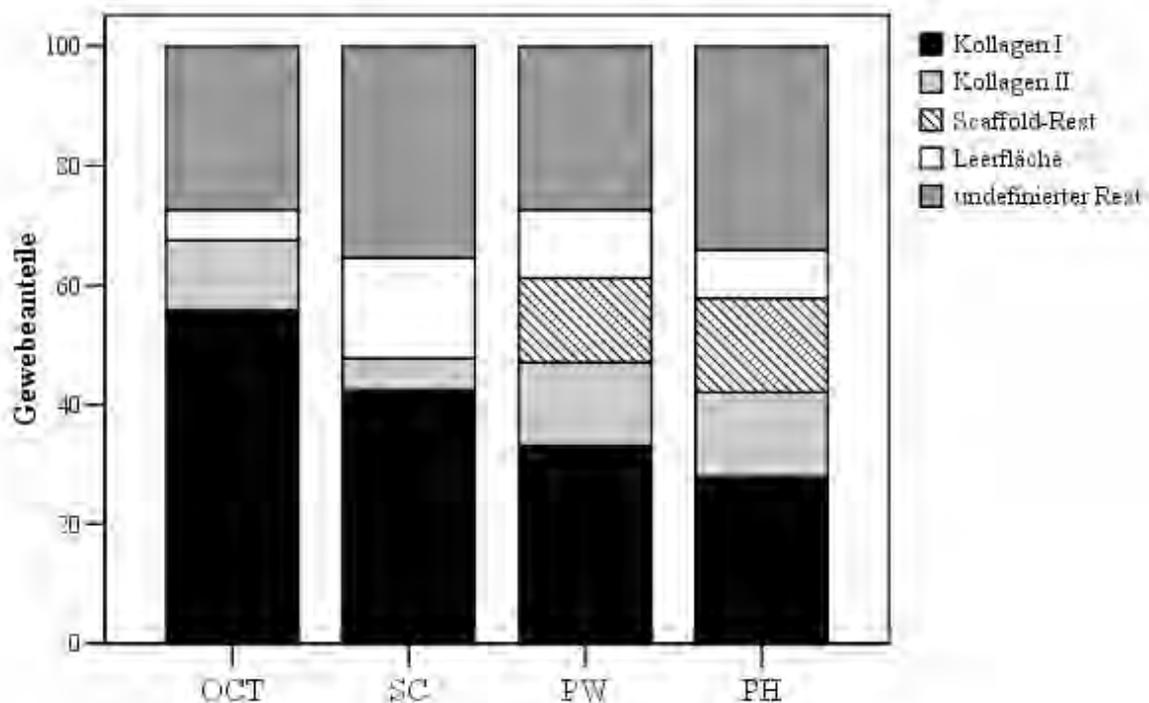


Diagramm 8: Histomorphometrische Daten; Mittelwerte der Gewebeanteile der gefüllten Defekte

Leerdefekt:

Der Anteil an neu gebildetem Knochen im Leerdefekt wurde mittels Kollagen I (Diagr. 9) dargestellt und war bei der OCT-Gruppe mit 46,0% (Mittelwert) und der SC-Gruppe mit 46,9% nahezu gleich. Der Anteil an Kollagen I im Leerdefekt war bei den beiden Scaffold-Gruppen geringer und lag bei der PW-Gruppe bei 37,3% und der PH-Gruppe bei 33,3%. Der Anteil an Kollagen II war bei den ersten beiden Gruppen annähernd identisch (OCT: 11,4% und SC: 11,0%), der Anteil an Kollagen II bei den Scaffold-Gruppen mit 13,3% bei der PW-Gruppe und 16,1% bei der PH-Gruppe minimal größer. Der Auffüllungsgrad des Leerdefektes war bei den vier verschiedenen Gruppen annähernd identisch. Bei der OCT-Gruppe lag die Leerfläche bei 19,7%, bei der SC-Gruppe bei 17% und bei den beiden Scaffold-Gruppen bei 15,1%. Das unbekannte Gewebe, das sich zum größten Teil aus Bindegewebe und Lakunen zusammensetzte, war bei der OCT-Gruppe und der SC-Gruppe mit 23% und 25,3% geringer als bei den Scaffold-Gruppen mit 34,2% (PW) und 35,5% (PH). Die statistische Auswertung des Leerdefektes bezüglich der vier Kriterien ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den vier verschiedenen Gruppen.

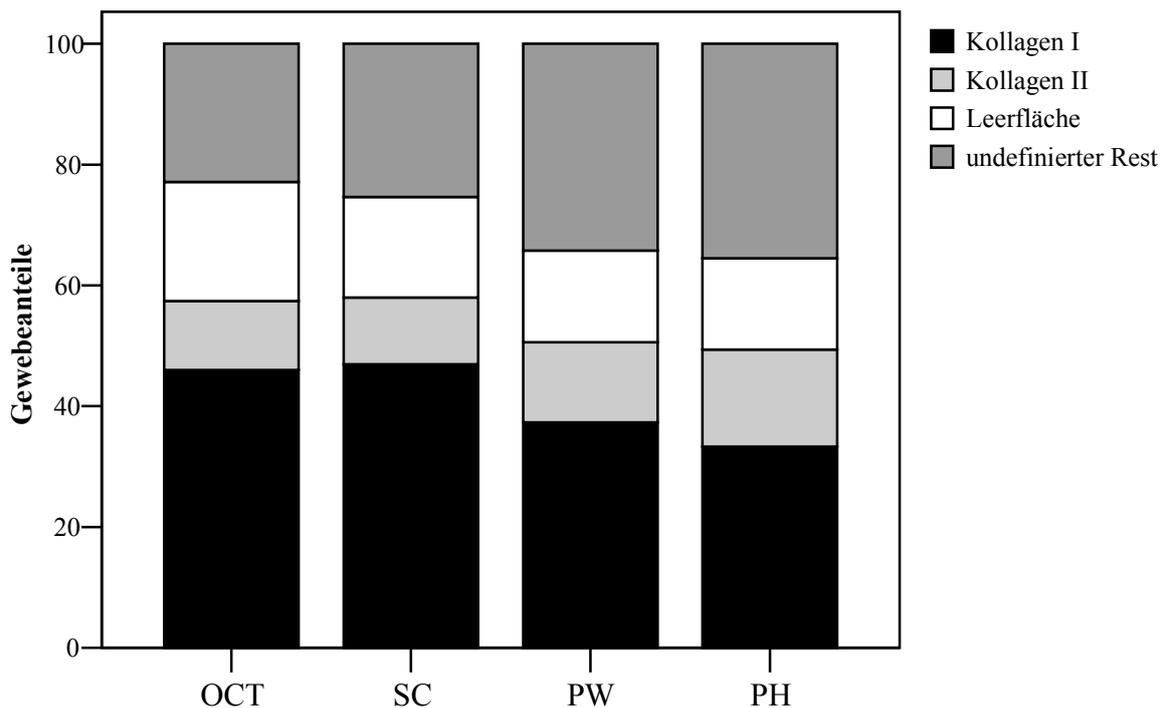


Diagramm 9: Histomorphometrische Daten; Mittelwerte der Gewebeanteile des Leerdefektes

Native Kondyle:

Bei den nativen Kondylen (Diagr. 10) wurden nur geringe Unterschiede zwischen den vier verschiedenen Gruppen beobachtet. Den geringsten Knochenanteil wies die OCT-Gruppe mit 38,8% auf. Der Kollagen I Anteil der anderen drei Gruppen lag zwischen 43% (PW), 44,3% (SC) und 46% (PH). Der Kollagen II Anteil war mit 7,6% bei der PW-Gruppe am geringsten. Die SC-Gruppe hatte einen Kollagen II Anteil von 10,8%, die PH-Gruppe von 12,2% und die OCT-Gruppe wies mit 13,5% den höchsten Anteil auf. Die PW-Gruppe zeigte einen signifikant niedrigeren Kollagen II Anteil gegenüber der OCT-Gruppe ($p=0,009$) und gegenüber der PH-Gruppe ($p=0,028$). Die Leerfläche im nativen Präparat lag bei allen vier Gruppen sehr dicht beieinander und zwischen 1,6% (SC) und 2,2% (OCT). Das unbekannte Gewebe, das vor allem aus dem Bindegewebe und den Lakunen bestand, lag bei der PH-Gruppe bei 40% bei der SC-Gruppe bei 43,3%, bei der OCT-Gruppe bei 45,6% und bei der PW-Gruppe bei 48%.

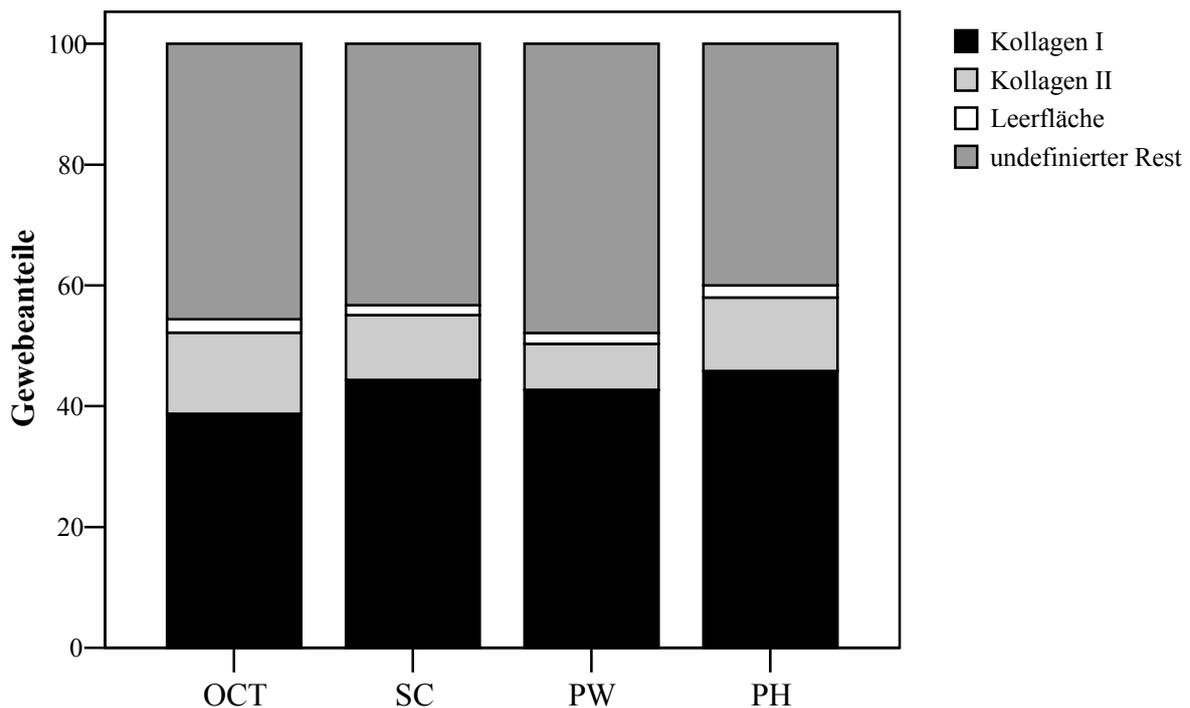


Diagramm 10: Histomorphometrische Daten; Mittelwerte der Gewebeanteile der nativen Kondylen

Vergleich der beiden Defekte und der nativen Kondyle

Die Untersuchung auf einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den zwei Defekten und der nativen Kondyle eines Schafes wurde mit dem Friedman-Test durchgeführt. Der knöcherne Anteil (Kollagen I) unterschied sich signifikant in der OCT-Gruppe zwischen gefülltem Defekt, Leerdefekt und nativer Kondyle ($p=0,042$). Wird die PH-Auffüllung mit dem Leerdefekt und der nativen Kondyle verglichen, besteht auch im Kollagen I Anteil ein signifikanter Unterschied ($p=0,022$). Bei beiden Gruppen lag der signifikante Unterschied zwischen der Füllung und der nativen Kondyle ($p=0,04$). Bei der OCT-Gruppe war der knöcherne Anteil bei der Füllung höher als bei der nativen Kondyle. Bei der PH-Gruppe war es genau umgekehrt.

In Bezug auf den Anteil der Leerfläche bestand ein signifikanter Unterschied sowohl bei dem Vergleich zwischen OCT-Füllung, Leerdefekt und nativer Kondyle als auch bei der SC-Füllung, des Leerdefektes und der nativen Kondyle ($p=0,011$). Einen signifikanten Unterschied gab es auch bei der Leerfläche verglichen zwischen der PW-Füllung, dem Leerdefekt und der nativen Kondyle ($p=0,009$). Bei allen drei Operationsmethoden lag der signifikante Unterschied zwischen der nativen Kondyle und dem Leerdefekt, wobei letzterer eine signifikant höhere Leerfläche aufwies ($p=0,028$).

4.2.4 Ergebnisse der Auswertung der Gefäßdarstellung

Der für die Gefäßdarstellung verwendete Antikörper gegen α -smooth muscle actin kann größere Gefäße, die Muskelzellen besitzen, zuverlässig bei geringer Hintergrundfärbung darstellen. Im Gegensatz dazu ist der Antikörper nicht in der Lage, neu gebildete Gefäße, die nur aus Endothelzellen bestehen und ein Lumen formen, zu erfassen.

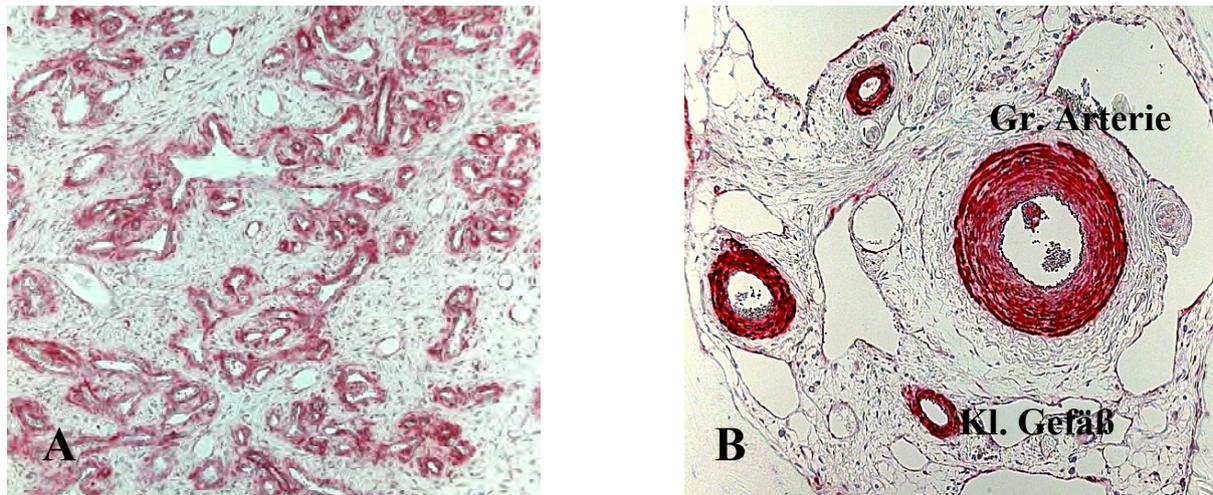


Abb. 19: Anti- α -smooth muscle actin positiv gefärbte Präparate (rot). Die Gefäße liegen im bindegewebigen Teil des Regenerats; **A**= Übersichtsaufnahme im Defektbereich bei 200facher Vergrößerung; **B**= Darstellung von zwei großen und zwei kleinen Gefäßen, bei 400facher Vergrößerung

Da die Gefäße lediglich im bindegewebigen Anteil des Regenerats zu finden waren, wurde die Anzahl der Gefäße pro Defekt auf 10 mm² Bindegewebsfläche bezogen, wobei die kraniale und kaudale ROI als laterale ROI zusammengefasst wurden. Die Beurteilung des Regenerats und der Randbereiche hinsichtlich der vorherrschenden Gefäßgröße zeigte in allen Präparaten deutlich weniger große als kleine Gefäße.

Laterale ROI:

Im Leerdefekt der lateralen ROI (Diagr. 11) wurde bei der OCT-Gruppe 15 kleine Gefäße/10mm² und bei der PH-Gruppe 8 Gefäße/10mm² gezählt. Die Anzahl der kleinen Gefäße war bei der SC- und der PW-Gruppe mit 5 Gefäßen/10mm² identisch. Bei der Untersuchung der Leerdefekte zeigten sich kaum Gefäße mit einem großen Durchmesser. Die PH- und die SC-Gruppe wiesen jeweils 3 große Blutgefäße/10mm² auf. Bei der OCT- und der PW-Gruppe wurden jeweils 2 große Gefäße/10mm² gezählt.

Die Gefäßanzahl im Randbereich des aufgefüllten Defektes lag sehr dicht beieinander. So wurden bei den kleinen Blutgefäßen der SC-Gruppe die höchste Anzahl von 11

Gefäßen/10mm² gezählt. Bei der PH-Gruppe wurden 10 Gefäße/10mm² und 9 Gefäße/10mm² bei der PW-Gruppe errechnet. Die Anzahl der kleinen Gefäße im Randbereich der gefüllten Defekte lag bei der OCT-Gruppe bei 7 Gefäßen/10mm². Bei den großen Gefäßen in der lateralen ROI wurden 5 Gefäße/10mm² bei der PW-Gruppe, jedoch nur 3 Gefäße/10mm² bei der SC- und der PH-Gruppe nachgewiesen. Bei der OCT-Gruppe wurde ein Blutgefäß/10mm² angefärbt.

Bei den nativen Kondylen wurden in der lateralen ROI bei den kleinen Gefäßen in allen vier Gruppen nur 2 Gefäße gezählt. Nicht nur bei den kleinen Gefäßen der nativen Kondyle, sondern auch bei den großen Gefäßen wurde eine sehr geringe Gefäßanzahl mit nur einem Gefäß/10mm² nachgewiesen.

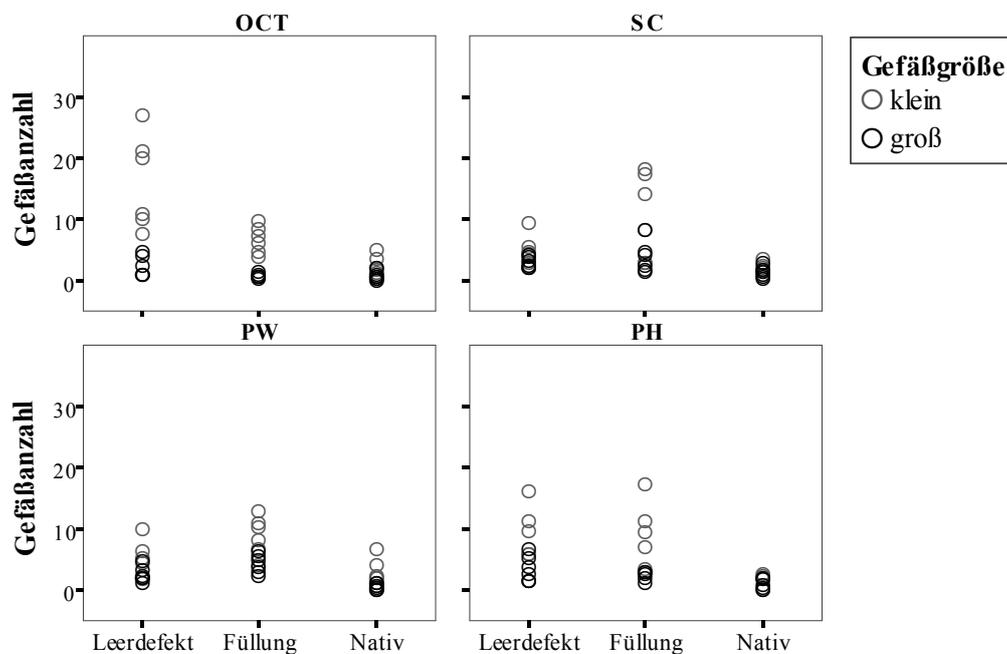


Diagramm 11: α -sma Streudiagramm der lateralen ROI mit kleinen und großen Gefäßen

Basale ROI:

In der basalen ROI (Diagr. 12) wurden im Leerdefekt der OCT-Gruppe 11 kleine Gefäße/10mm² Bindegewebsfläche gezählt. Bei der SC-Gruppe wurden 7 kleine, bei der PW-Gruppe 5 und bei der PH-Gruppe 4 Gefäße/10mm² angefärbt. Die Anzahl der Blutgefäße mit einem großen Durchmesser war geringer als die Anzahl der kleinen Gefäße. Bei der SC-

Gruppe wurden 3 große Blutgefäße, bei der PW-Gruppe 2 Gefäße und 1 Gefäß wurde sowohl bei der PH- als auch bei der OCT-Gruppe nachgewiesen.

Bei den aufgefüllten Defekten wurden in der ROI, basal des Defektes 10 kleine Gefäße bei der OCT-Gruppe, 9 Blutgefäße bei der PW-Gruppe und 6 kleine bei der SC- und der PH-Gruppe nachgewiesen. Die Anzahl der großen Gefäße im Randbereich des aufgefüllten Defektes waren mit den SC- und der PW-Gruppe mit 3 Gefäßen/10mm am höchsten. Bei der PH-Gruppe ergab sich eine Gefäßanzahl von 2 großen Blutgefäßen/10mm² und nur 1 Gefäß wurde bei der OCT-Gruppe nachgewiesen.

Die nativen Kondylen zeigten bei den kleinen Blutgefäßen 3 Gefäße/10mm² bei der SC- und der PW-Gruppe. Eine identische Gefäßanzahl mit 4 Gefäßen/10mm² wurden bei der OCT- und der PH-Gruppe angefärbt. Bei den großen Gefäßen in der nativen Kondyle wurden 2 Gefäße/10mm² bei der SC- und der PH-Gruppe gezählt. Jeweils 1 Gefäß/10mm² zeigte sich bei der OCT- und der PW-Gruppe.

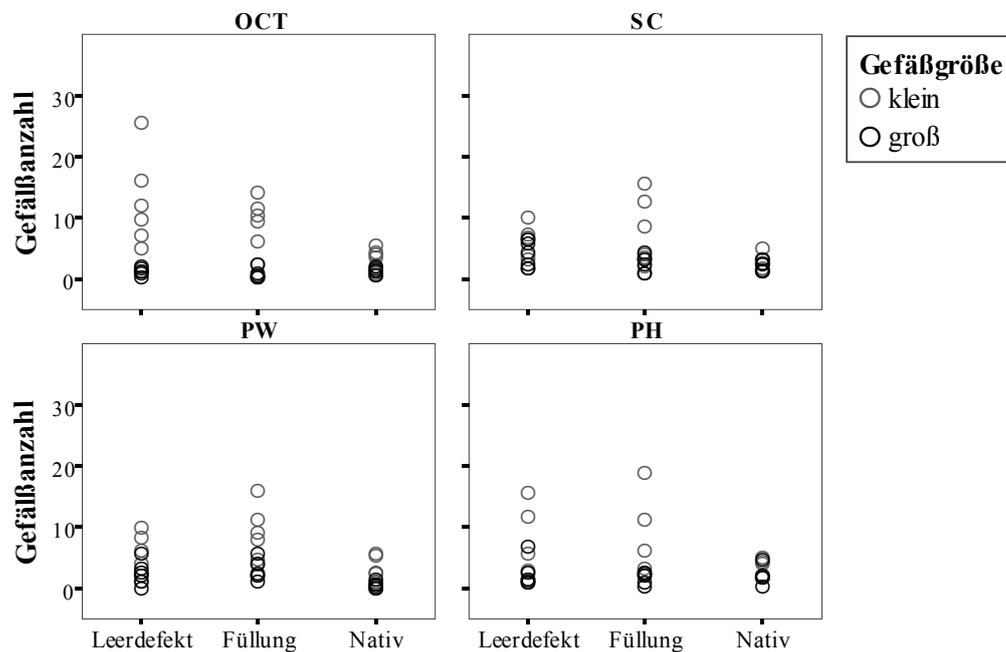


Diagramm 12: α -sma Streudiagramm der basalen ROI mit kleinen und großen Gefäßen

ROI 4:

In der ROI 4 (Diagr. 13) wurde generell im Leerdefekt eine stärkere Vaskularisation beobachtet als in den gefüllten Defekten und den nativen Kondylen. Bei der OCT-Gruppe wurden mit 80 kleinen Gefäßen/10mm² mehr als das Doppelte an Gefäßen gezählt, als bei der SC-Gruppe mit nur 37 Gefäßen/10mm². Die Anzahl der kleinen Gefäße lag bei den beiden Scaffold-Gruppen sehr dicht beieinander (PH: 20 Gefäße/10mm²; PW: 18 Gefäße/10mm²). Die großen Blutgefäße hatten im Leerdefekt der SC-Gruppe eine Anzahl von 9 Gefäßen/10mm². Die PW-Gruppe ließ mit 6 großen Gefäßen/10mm² weniger Gefäße erkennen. Die Gefäßanzahl war bei der OCT-Gruppe mit 5 Gefäßen/10mm² und bei der PH-Gruppe mit 4 Gefäßen/10mm² gering.

Die kleinen und die großen Blutgefäße zeigten bei den aufgefüllten Defekten der vier verschiedenen Defektfüllungen stets die gleiche Reihenfolge (SC > PW > PH > OCT). Bei der Untersuchung des Regenerats auf vorhandene Blutgefäße zeigte sich bei der SC-Gruppe mit 43 kleinen Gefäßen/10mm² die höchste Gefäßanzahl. Die anderen drei Gruppen lagen mit ihrer Gefäßanzahl dicht beieinander, hatten aber einen großen Abstand zu der SC-Gruppe, mit 18 Gefäßen/10mm² (PW- und PH-Gruppe) und 16 Gefäßen/10mm² (OCT-Gruppe). Bei den großen Gefäßen war die Gefäßanzahl der SC-Gruppe mit 11 Gefäßen/10mm² am höchsten. Die Regenerate der PW- und der PH-Gruppe hatten mit 4 großen Blutgefäßen/10mm² eine identische Anzahl. Die OCT-Präparate ließen lediglich 1 Gefäß/10mm² im Defektbereich erkennen.

Bei den nativen Kondylen war nur eine geringe Anzahl von Blutgefäßen vorzufinden. Die PW-Gruppe zeigte eine höhere Gefäßanzahl mit 4 kleinen Gefäße/10mm² gegenüber der OCT- und der PH-Gruppe mit jeweils 3 Gefäßen/10mm² und gegenüber der SC-Gruppe mit lediglich 2 kleinen Gefäßen/10mm². Bei der Untersuchung der nativen Kondyle auf vorhandene Blutgefäße befanden sich bei der SC- und der PH-Gruppe jeweils 2 große Gefäße/10mm². Bei der OCT- und PW-Gruppe konnte jeweils nur 1 großes Gefäß/10mm² nachgewiesen werden.

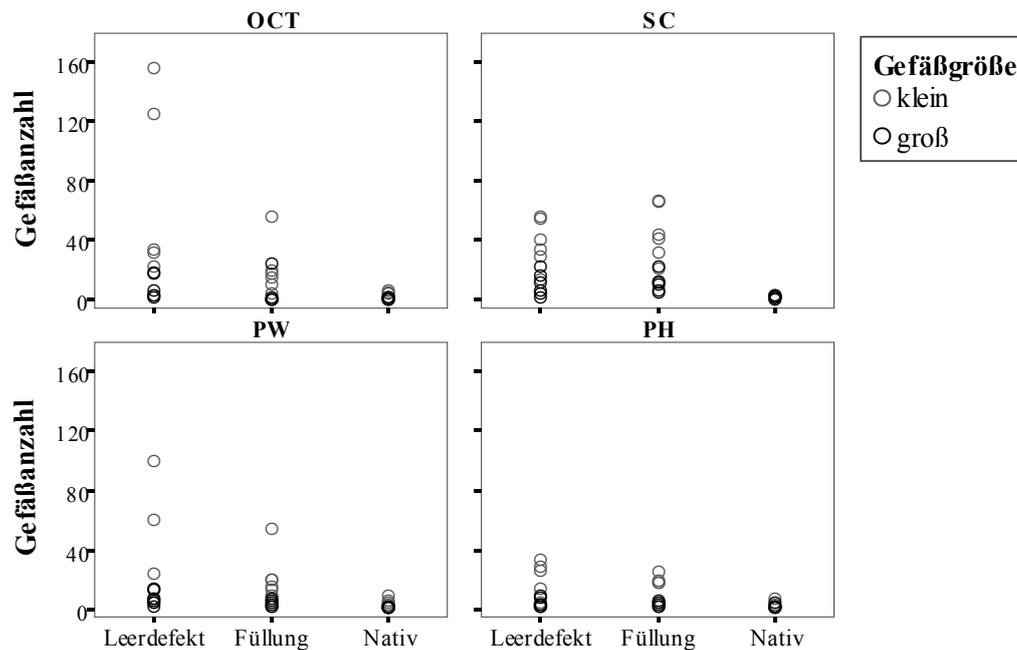


Diagramm 13: α -sma Streudiagramm der ROI 4 mit kleinen und großen Gefäßen; im Leerdefekt der OCT-Gruppe fehlt bei den kleinen Gefäßen der Ausreißer mit 489 Gefäßen

A) Vergleich der Operationsmethoden im aufgefüllten Defekt:

Zwischen den vier verschiedenen gefüllten Defekten wurden bei den kleinen Gefäßen/10mm² Bindegewebe in der lateralen ROI und in der basalen ROI keine signifikanten Unterschiede beobachtet. Bei den kleinen Gefäßen des aufgefüllten Defektbereiches (ROI 4) zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der OCT-Gruppe und der SC-Gruppe, wobei die SC-Gruppe eine höhere Gefäßanzahl zu verzeichnen hatte. In Bezug auf die großen Gefäße waren in allen drei ROIs signifikante Unterschiede zu verzeichnen. Die Anzahl der großen Gefäße in der lateralen ROI war bei der SC-Gruppe signifikant höher im Vergleich zu der OCT-Gruppe ($p=0,006$). Es ergab sich auch eine signifikant höhere Gefäßanzahl bei der PW-Gruppe gegenüber der PH-Gruppe ($p=0,045$). In der basalen ROI wurde eine signifikant höhere Gefäßzahl bei der SC-Gruppe verzeichnet im Vergleich zu der OCT-Gruppe ($p=0,016$). Die SC-Gruppe besaß eine signifikant höhere Gefäßanzahl gegenüber der PW-Gruppe ($p=0,016$) und gegenüber der PH-Gruppe ($p=0,011$).

B) Vergleich der Operationsmethoden im Leerdefekt:

Bei der Untersuchung der vier verschiedenen Gruppen mit dem Kruskal-Wallis-Test wurde in Bezug auf den Leerdefekt bei den großen Gefäßen/10mm² Bindegewebe kein signifikanter

Unterschied beobachtet. Bei den kleinen Gefäßen hatte die OCT-Gruppe in der lateralen ROI des Leerdefektes eine signifikant höhere Gefäßanzahl gegenüber der SC-Gruppe ($p=0,006$).

C) Vergleich der Randbereiche:

Die Untersuchung auf einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Randbereichen des Defektes wurde mit dem Wilcoxon-Test durchgeführt. Sowohl bei den kleinen Blutgefäßen als auch bei den großen Blutgefäßen wurden im Leerdefekt, in der Füllung und in der nativen Kondyle zwischen der lateralen ROI und der basalen ROI keine statistisch signifikanten Unterschiede verzeichnet.

D) Vergleich des Leerdefektes mit dem aufgefüllten Defekt:

Um die Füllung mit dem Leerdefekt zu vergleichen, wurde hier der Wilcoxon-Test durchgeführt. Dieser Test ergab sowohl bei den kleinen Blutgefäßen als auch bei den großen Gefäßen, in der PW-Gruppe der lateralen ROI einen statistisch signifikanten Unterschied. Die PW-Füllung hatte sowohl bei den kleinen Gefäßen ($p=0,028$), als auch bei den großen Gefäßen ($p=0,046$) eine signifikant höhere Gefäßanzahl gegenüber dem Leerdefekt.

E) Vergleich des Leerdefektes mit der nativen Kondyle:

Wird der Leerdefekt mit der nativen Kondyle verglichen, entsteht ein signifikanter Unterschied bei den kleinen Blutgefäßen der OCT- und der SC-Gruppe in allen drei ROIs ($p=0,028$). Der signifikante Unterschied lag in der PH-Gruppe bei den kleinen Gefäßen in der lateralen ROI und in der ROI 4 ($p=0,043$). Bei den großen Blutgefäßen wurden deutlich mehr signifikante Unterschiede festgestellt. Der Test ergab bei der OCT-, der SC- und der PW-Gruppe jeweils in der lateralen ROI und in der ROI 4 einen signifikanten Unterschied ($p=0,028$). In der basalen ROI der PW-Gruppe lag zusätzlich ein signifikanter Unterschied ($p=0,046$) vor. Zwischen den Leerdefekten und nativen Kondylen der PH-Gruppe wurden in der lateralen ROI und in der ROI 4 signifikante Unterschiede ($p=0,043$) errechnet. Bei allen statistisch signifikanten Unterschieden lag die Anzahl der Gefäße bei den Leerdefekten höher im Vergleich zu den nativen Kondylen.

F) Vergleich der nativen Kondyle mit dem aufgefüllten Defekt:

Mit dem Wilcoxon-Test wurde auch die native Kondyle mit der Füllung verglichen. In diesem Test zeigte sich bei den kleinen Blutgefäßen der OCT- und der PW-Gruppe in der lateralen und in der basalen ROI ein signifikanter Unterschied ($p=0,046$). Sowohl in ROI 4 der OCT- und der PW-Gruppe, als auch bei der SC-Gruppe in der lateralen ROI und in ROI 4 kam ein

signifikanter Unterschied ($p=0,028$) vor. Bei der PH-Gruppe wurde in der lateralen ROI und in ROI 4 ein signifikanter Unterschied bei den kleinen Gefäßen beobachtet ($p=0,043$).

Bei den großen Blutgefäßen konnten nur signifikante Unterschiede bei der SC- und der PW-Gruppe dargestellt werden. Der p-Wert lag bei der SC-Gruppe in der lateralen ROI und ROI 4 und in der PW-Gruppe in der lateralen und basalen ROI bei $p=0,028$. Zwischen nativer Kondyle und der PW-Gruppe ergab sich bei den großen Gefäßen in ROI 4 ein statistisch signifikanter Unterschied ($p=0,046$).

Bei allen hier aufgeführten statistisch signifikanten Unterschieden wurde eine signifikant höhere Gefäßanzahl bei der Füllung gegenüber der nativen Kondyle deutlich.