


Aus dem
Centrum für muskuloskeletale Chirurgie
Charité- Universitätsmedizin Berlin

eingereicht über das Institut für Veterinärpathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Untersuchung der Regeneration osteochondraler Defekte im Kniegelenk unter
histologischen und histomorphometrischen Gesichtspunkten zu ausgewählten
Zeitpunkten**

**Ein Vergleich zwischen verschiedenen Steifigkeiten der Poly-D,L-Lactid-Scaffolds und
den unversorgten Defekten**

Eine Studie im Schafmodell



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Dorothea Jansen

Tierärztin aus Dortmund

Berlin 2009

Journal-Nr.: 3301

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. L. Brunnberg
Erster Gutachter: PD Dr. med. vet. A. Sterner-Kock
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Ing. G. N. Duda
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. K.D. Weyrauch

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

tissue engineering, osteogenesis, biocompatible materials (MeSH),
absorbable implants (MeSH), bone substitutes (MeSH), porosity, polymers,
sheep, cartilage, mechanical properties, stifle, histology, morphometrics

Tag der Promotion: 08.07.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-672-8

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,
vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der
Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von
jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written
authorization of the publisher.

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© mensch und buch verlag 2009

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung.....	1
2 Stand des Wissens	5
2.1 Funktioneller Aufbau des artikulären Knorpels	5
2.1.1 Chondrozyten	6
2.1.2 Extrazelluläre Matrix.....	7
2.1.3 Biomechanische Grundlagen des Gelenkknorpels	9
2.2 Struktureller Aufbau des artikulären Knorpels	11
2.3 Heilung chondraler und osteochondraler Defekte.....	15
2.4 Chirurgische Intervention zur Behandlung von Knorpelschäden	19
2.4.1 Lavage, Shaving und Débridement	20
2.4.2 Knorpel-Knochen-Anbohrung nach Pridie	21
2.4.3 Mikrofrakturierung.....	21
2.4.4 Autologe Osteochondrale Transplantation (AOT).....	22
2.4.5 Periostallappenplastik und Perichondrium.....	23
2.4.6 Autologer Chondrozytentransfer (ACT)	24
2.4.7 Tissue engineering.....	25
2.4.8 Polylactid-glycolid-Scaffolds.....	27
3 Material und Methoden.....	30
3.1 Tiermodell und Haltung	30
3.1.1 Tierhaltung	30
3.2 Versuchsanordnung.....	31
3.3 Operationsvorbereitung.....	33
3.4 Operation.....	35
3.5 Postoperative Versorgung	37
3.6 Messung der Bodenreaktionskraft.....	38

3.7	Gewinnung und Aufbereitung der Präparate.....	39
3.7.1	Euthanasie der Tiere.....	39
3.7.2	Sägen der Präparate.....	40
3.8	Histologische Aufbereitung der Präparate.....	42
3.8.1	Fixation der Präparate.....	42
3.8.2	Einbettung der Präparate.....	42
3.8.3	Anfertigen der histologischen Präparate.....	43
3.9	Histologische Färbungen.....	44
3.9.1	Eindecken der Schnitte.....	46
3.10	Histologische Auswertung.....	46
3.10.1	Definition der Region of Interest (ROI).....	49
3.10.2	Bildanalyse.....	49
3.10.3	Statistische Auswertung.....	53
4	Ergebnisse.....	54
4.1	Subjektive Beurteilung des Heilungserfolges.....	54
4.2	Messung der Bodenreaktionskräfte.....	54
4.2.1	Maximalkraft.....	55
4.2.2	Kontaktzeit.....	57
4.2.3	Kontaktfläche.....	58
4.3	Ergebnisse der makroskopischen Beurteilung bei der Explantation.....	59
4.3.1	versorgter osteochondraler Defekt.....	59
4.3.2	unversorgter osteochondraler Defekt.....	60
4.4	Ergebnisse der deskriptiven Histologie.....	61
4.4.1	Versorgung mit weichem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach drei Monaten.....	63
4.4.2	Versorgung mit hartem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach drei Monaten.....	64

4.4.3	Versorgung mit weichem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach sechs Monaten.....	67
4.4.4	Versorgung mit hartem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach sechs Monaten.....	68
4.4.5	Histologische Besonderheiten bei der Versorgung mittels Poly-D,L-Lactid-Implantat.....	70
4.4.6	unversorgter osteochondraler Defekt nach drei Monaten	72
4.4.7	unversorgter osteochondraler Defekt nach sechs Monaten.....	73
4.5	Ergebnisse der Histomorphometrie.....	73
4.6	Statistische Auswertung mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests	83
4.6.1	Vergleiche des Einflusses der Standzeiten innerhalb der Gruppen.....	83
4.6.2	Vergleiche des Einflusses der Therapie innerhalb der Gruppen	84
4.7	Statistische Auswertung mit Hilfe des Wilcoxon-Tests.....	84
4.8	Ergebnisse des Scores	85
4.8.1	Beschreibung der einzelnen Scoreparameter	86
4.8.2	Statistische Analyse.....	92
5	Diskussion	94
5.1	Einleitung	94
5.2	Diskussion der Methoden.....	95
5.2.1	Diskussion des Tiermodells	95
5.2.2	Operation und postoperativer Beobachtungszeitraum	97
5.2.3	Einfluss der Bewegung postoperationem.....	99
5.2.4	Gewinnung und Aufbereitung der Proben	100
5.2.5	Histomorphometrie.....	102
5.2.6	Histologischer Score	103
5.3	Diskussion der Ergebnisse	105
5.3.1	Diskussion der Bodenreaktionskräfte.....	105
5.3.2	Makroskopische Beurteilung der Defektsituation.....	108

5.3.3	Diskussion der deskriptiven Histologie.....	108
5.3.4	Diskussion der unversorgten Defekte	124
5.3.5	Schlussfolgerung	129
6	Zusammenfassung.....	133
7	Summary	135
8	Literaturverzeichnis.....	137
9	Anhang	149
10	Danksagung	165
11	Selbständigkeitserklärung.....	166

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ACT	autologer Chondrozytentransfer
AOT	autologe Osteochondrale Transplantation
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CO ₂	Kohlendioxid
d	Tag
Dif.	Differenz
d.h.	das heißt
EKG	Echokardiographie
et al.	et alii (und andere Verfassern)
° C	Grad Celsius
kg	Kilogramm
LD	Leerdefekt
max.	maximal
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
µm	Mikrometer
µg	Mikrogramm
n	Anzahl
PGA	Polyglycolid
Ph	harter Poly-D,L- Lactid Scaffold
PLA	Polylactid
Pw	weicher Poly-D,L- Lactid Scaffold
ROI	Region of interest
s.b.	scale bar
Tab.	Tabelle
Vol %	Volumenprozent
%	Prozent
z. Bsp.	zum Beispiel

1 Einleitung

Seit langem ist bekannt, dass sich hyaliner Knorpel vor allem bei erwachsenen Personen auf Grund seines begrenzten Regenerationspotentials nur sehr schlecht von Läsionen erholt. Als Ursache für die Entstehung von Knorpelschäden im Kniegelenk kommen traumatische Schädigungen mit Beteiligung des Knorpels und des subchondralen Knochens infrage (Redman et al., 2005). Weiterhin sind avaskuläre Nekrosen von Gelenkanteilen (Osteochondrosis dissecans), primäre und sekundäre degenerative Veränderungen bei genetischen oder posttraumatischen Achsenfehlstellungen sowie bakterielle oder autoimmun bedingte Entzündungen zu nennen (Rudert und Wirth, 1998). Die sozioökonomische Bedeutung dieses Problems verdeutlicht sich in der Tatsache, dass kleinere Läsionen unterschiedlicher Genese in den meisten Fällen progressiv verlaufen und letztlich Gelenksarthrosen induzieren können (Hunziker, 2002). Die vollständige Funktionsfähigkeit eines Gelenkes ist nur in Zusammenhang mit einem intakten hyalinen Gelenkknorpel gewährleistet. Die Aufgaben des hyalinen Gelenkknorpels sind vielfältig, so ermöglicht er einerseits ein reibungsarmes gegeneinander Gleiten der Gelenkflächen, andererseits trägt er zur mechanischen Dämpfung und Lastenverteilung bei (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek, 2003). Das artikuläre Knorpelgewebe besteht aus einer einzigartigen Zellpopulation, die in ein dreidimensionales Netzwerk einer hoch organisierten Matrixstruktur integriert ist. Hinsichtlich der histologischen Struktur weist der Knorpel einige Spezifitäten auf, zu denen die Avaskularität, die fehlende Innervation und die Immobilität von Chondrozyten gehören (Buckwalter und Mankin, 1998a; Buckwalter, 1983). Der spezifische gewebliche Aufbau ermöglicht auf der einen Seite die Erfüllung der biomechanischen Ansprüche, auf der anderen Seite limitiert er das physiologische Regenerationspotential von Knorpeldefekten (Buckwalter, 2002).

In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene chirurgische Therapieansätze für die Wiederherstellung degenerierter und traumatisch geschädigter Gelenkknorpel im Kniegelenk entwickelt. Mit den klinisch etablierten Methoden gelingt es in der Regel nicht zufrieden stellend, die Struktur und die Funktionalität hyalinen Gelenkknorpels zu reproduzieren (Redman et al., 2005; Steinwachs et al., 2008a). In den meisten Fällen wird der Defektbereich mit einem Reparatursgewebe von minderwertiger Qualität ausgefüllt, das den dauerhaften Belastungen im Kniegelenk langfristig nicht standhalten kann (Ulrich-Vinther et al., 2003; Buckwalter und Mankin, 1998a; Furukawa et al., 1980). Als letzte therapeutische Möglichkeit bei fortgeschrittener Arthrose kommt bei älteren Patienten nur eine Endoprothese infrage (Martinek und Im-

hof, 2003; Buckwalter et al., 1994a; Swieszkowski et al., 2007). Problematischer verhält sich die Situation bei jüngeren Patienten, da die Implantate langfristig gesehen, bedingt durch ihre beschränkte Lebensdauer, keine Alternative darstellen (Buckwalter et al., 1994a; Buckwalter und Brown, 2004). Die steigende Inzidenz von Knorpelschäden vor allem bei jungen, sportlich aktiven Patienten verlangt eine immer schnellere Rehabilitation ohne Funktionsverlust nach traumatischer Schädigung des Gelenkknorpels. Aus diesem Grund müssen langfristige Alternativen geschaffen werden, um osteochondrale Defekte im Kniegelenk hinsichtlich ihrer vollständigen strukturellen und funktionellen Wiederherstellung therapieren zu können, und um uneingeschränkte schmerzlose Bewegung zu ermöglichen und fortschreitende Gewebedegeneration zu verhindern. Dieser Auftrag ist Gegenstand intensiver Forschung. Zur Behandlung isolierter osteochondraler Defekte stehen dem Kliniker zur Zeit wenige etablierte chirurgische Methoden zur Verfügung. Entweder kann im Rahmen einer chirurgischen Intervention das Selbstheilungspotential des Knorpels angeregt werden oder das betroffene Areal muss mit einem belastbaren Konstrukt im Sinne einer RepARATION aufgefüllt werden. Einige Behandlungsmethoden wie die in der Vergangenheit durchgeführte multiple Pridie-Bohrung oder Mikrofrakturierung (Steadman et al., 1999) zielen auf eine Eröffnung des vaskularisierten subchondralen Knochens ab. Ein anderer Ansatz beschäftigt sich mit der Rekonstruktion der Gelenkoberfläche mit Hilfe von Transplantaten. Derzeit finden autologe oder allogene Knorpel-Knochen-Zylinder, autologe Chondrozytenimplantation oder synthetische biodegradierbare Scaffolds Anwendung (Marlovits und Véscei, 2000b; Steinwachs et al., 2008b). Ein Großteil der Orthopäden sieht den autologen Osteochondraltransfer als „Goldstandard“ (Hangody et al., 2004). Hierbei werden Knorpel-Knochenzylinder aus einem weniger belasteten Gebiet entnommen und in den Defektbereich mittels press-fit-Technik implantiert (Martinek, 2003; Burkart et al., 2001). Der Vorteil dieser Methode liegt in der Verfügbarkeit einer funktionell intakten Knorpelmatrix. Eine Alternative bietet die Transplantation autologer Chondrozyten, die mittels Biopsie aus einer minder belasteten Region entnommen und im Anschluss an die Kultivierung in einer zweiten Operation eine Reimplantation erfahren (Brittberg et al., 1994; Martinek, 2003; Marlovits und Véscei, 2000b). Die zu Grunde liegende Idee bei der Transplantation von Periost und Perichondrium ist in der Nutzung der biologischen Proliferationsfähigkeit chondrogen aktiver Gewebe zu suchen (Marlovits und Véscei, 2000a; Bouwmeester et al., 1997). In der anschließenden perioperativen Phase wird der Defektbereich sukzessiv mit Reparaturgewebe, bestehend aus faserigem und hyalinem Knorpelgewebe, ausgefüllt. Lavage oder Debridement (Burkart et al., 2001) helfen, mechanische und inflammatorische

Prozesse erfolgreich zu reduzieren, allerdings bleibt eine Stimulierung der Knorpelbildung aus. Mit dieser insuffizienten therapeutischen Maßnahme wird ausschließlich ein temporärer symptomatischer Effekt erzielt (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek, 2003). Die Mehrheit der chirurgischen Maßnahmen zielt primär auf die Wiederherstellung der Knorpelstruktur ab. Die Rekonstruktion der subchondralen Lamelle bleibt, abgesehen vom osteochondralen Transfer, unberücksichtigt und soll hier als Einflussgröße auf die Knorpelregeneration diskutiert werden. Aus diesem Grund soll in dieser Studie der Einfluss der initialen Steifigkeit synthetisch hergestellter, biodegradierbarer Materialien auf die Heilung osteochondraler Defekte untersucht werden. Das Degradationsverhalten von Poly-D,L-Lactiden sowie der Einfluss der Porosität wurde schon in früheren Projekten dokumentiert und ermöglicht das Einwandern und das Einwachsen von Knochen- und Knorpelzellen. Die initiale Steifigkeit dieser Konstrukte kann in Abhängigkeit von der unterschiedlichen Zusammensetzung der Copolymeren differieren.

Ziel der vorliegenden Studie ist der deskriptive Vergleich hinsichtlich der Regeneration standardisierter osteochondraler Defekte im linken Kniegelenk des Schafes in Abhängigkeit von der Steifigkeit der Poly-D,L-Lactid-Implantate zu unterschiedlichen Standzeiten. Dabei wird der Nachahmung nativer Steifigkeit des Knochens eine bessere Regeneration der osteochondralen Defekte zugesprochen. Die Heilungsergebnisse in Bezug auf die Integration der Implantate, der Degradation und der Knorpelregeneration sollen histologisch und histomorphometrisch analysiert werden. Zusätzlich erfolgt die Bewertung der Defektheilung mit Hilfe eines semiquantitativen Scores. Des Weiteren soll untersucht werden, welchen Einfluss die Rekonstruktion des subchondralen Knochens auf die biologische Qualität des Knorpelregenerates ausübt. Daraus soll auf die Eignung der Implantate zur Unterstützung der osteochondralen Defektheilung geschlossen werden. Abschließend soll die Belastungsfähigkeit der operierten Gliedmaße über die Zeit durch Messung der Bodenreaktionskräfte in Bezug auf die jeweilige Steifigkeit der Füllung verglichen werden.

Die Hypothesen dieses Projektes lauten:

1. Die Nachahmung der nativen Steifigkeit des Knochens führt durch die Füllung zu einer optimalen Regeneration osteochondraler Defekte hinsichtlich der Implantatintegration und Rekonstruktion der Gelenkoberfläche.
2. Wesentliche Voraussetzung für eine schnelle und komplikationsarme Heilung osteochondraler Defekte ist die hinreichende Rekonstruktion des subchondralen Knochens.
3. Die Regenerationsergebnisse sowohl der versorgten als auch der unversorgten Defekte sind nach einer Standzeit von sechs Monaten wesentlich besser als nach drei Monaten.

2 Stand des Wissens

2.1 Funktioneller Aufbau des artikulären Knorpels

Hyaliner Knorpel bedeckt die artikulierenden Gelenkflächen echter Gelenke, der Diarthrosen. Der komplexe Aufbau ermöglicht in Zusammenarbeit mit der Synovia eine weitgehend reibungsarme Beweglichkeit des Gelenkes (Rudert und Wirth, 1998). Funktionen bzw. Materialeigenschaften wie die Gewährleistung der Kongruenz, Übertragung von Druck und Scherkräften auf die subchondrale Knochenlamelle, die Minimierung des Reibungskoeffizientens sowie die Erhaltung von Elastizität und Steifigkeit wird vom hyalinen Knorpel in einzigartiger Weise vereinigt (Marlovits und Véscei, 2000a; Mankin, 1974; Burkhart und Imhof, 1999). Dadurch wird der Grundstein für die erstaunliche Widerstandsfähigkeit gegenüber mechanischer Belastung gelegt. Allerdings ist die intrinsische Reparationsfähigkeit nach traumatischen Läsionen limitiert (Buckwalter, 2002; Rudert und Wirth, 1998; Bobic und Noble, 2000; Campbell, 1969; Caplan et al., 1997). Verantwortlich hierfür ist unter anderem der spezifische Aufbau des hyalinen Knorpels, der sich als ein avaskulares, alymphatisches, aneurales und bradytrophes Gewebe darstellt, dessen Ernährung allein durch Diffusion geschieht (Buckwalter, 1983; Burkhart und Imhof, 1999). Die Zusammensetzung des hyalinen Knorpels variiert hinsichtlich Dicke, Zelldichte und Matrixzusammensetzung oft innerhalb eines Gelenkes (Marlovits und Véscei, 2000a).

Knorpel als wesentliches Element des Stützgewebes entwickelt sich aus dem mesenchymalen Bindegewebe (Rudert und Wirth, 1998). Chondroblasten synthetisieren knorpelspezifische Kollagene und glykosaminoglykanreiche Interzellularsubstanz. Diese syntheseaktiven Vorstufen wandeln sich in differenzierte Reifestadien, die Chondrozyten um. Diese, als einzige Zelllinie innerhalb des hyalinen Knorpels, sind für die Synthese der extrazellulären Matrix verantwortlich und in diese eingebettet, welche aus Kollagenen, Proteoglykanen und nicht kollagenen Proteinen besteht (Buckwalter und Mankin, 1998b; Martin und Buckwalter, 1996). Die charakteristischen, funktionellen Eigenschaften des Knorpels sind an die spezifische Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix gekoppelt (Buckwalter, 1988; Martin und Buckwalter, 1996). Vor allem das enorme Wasserbindungspotential dieser Substanzen verleiht dem Knorpel seine einzigartige Druckelastizität. Die Kompression der Gelenkoberfläche verursacht Flüssigkeitsverschiebungen sowie eine Veränderung des osmotischen Druckgradienten (Sah et al., 1989; Bader und Kempson, 1994). Ein Teil diffundiert frei durch die Matrix und ge-

währleistet somit die Versorgung der Chondrozyten und den Abtransport von Stoffwechselendprodukten (Roughley und Lee, 1994). Der intakte Knorpel besteht zu 60-80% aus Wasser (Buckwalter, 1988). Gelenkbewegung induziert neben mechanischer Belastung des Gewebes auch elektrische und physiochemische Signale, die direkten Einfluss auf die Aktivitäten der Chondrozyten nehmen. Dieser Prozess wird wahrscheinlich durch die Expression chemischer Substanzen wie z.B. Wachstumsfaktoren oder Interleukine induziert (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek, 2003).

Neuere Untersuchungen weisen auf einen komplexen Zusammenhang zwischen dem Alterungsprozess und Gelenksdegenerationen hin (Ulrich-Vinther et al., 2003; Buckwalter und Mankin, 1998a). Degenerative Gelenkserkrankungen stellen nicht das Resultat repetitiver Bewegung dar, sondern sind als Niedergang der Knorpelhomöostase anzusehen (Martin und Buckwalter, 1996; Redman et al., 2005). Die mit dem Alter in Relation stehenden Veränderungen des Chondrozytenmetabolismus (Marlovits und Véscei, 2000a; Caplan et al., 1997) induzieren Änderungen in der Matrix, die gleichzeitig auch die mechanischen Eigenschaften beeinflussen (Martin und Buckwalter, 1996; Buckwalter et al., 1994b; Buckwalter et al., 1985).

2.1.1 Chondrozyten

Im Gelenkknorpel findet sich nur ein Zelltyp, der Chondrozyt (Buckwalter und Mankin, 1998a). In der Regel werden mehrere isogene Knorpelzellen von einem Knorpelhof umgeben. Unmittelbar daran schließt sich die Knorpelkapsel, die aus einem Netzwerk von Kollagenfibrillen gebildet wird, an. Dieses hat eine Abschirmung zur umliegenden Matrix zur Folge. Diese Konstruktion zielt auf den Schutz der Chondrozyten vor mechanischen Einflüssen ab. Knorpelhof, Knorpelkapsel und die darin liegenden Chondrozyten werden in ihrer Gesamtheit als Chondrome bezeichnet und stellen die funktionelle Einheit dar (Poole et al., 1987). Die hochdifferenzierten Chondrozyten weisen mit nur 2 bis 5% des Gesamtknorpelvolumens eine geringe Zelldichte auf (Roughley und Lee, 1994). Die Chondrozyten sind verantwortlich für die Synthese neuer Matrixkomponenten, die die Aufrechterhaltung der Gelenkoberfläche gewährleisten (Marlovits und Véscei, 2000a; Roughley und Lee, 1994). Weiterhin sind sie an Abbauprozessen degradiertter Komponenten durch die Synthese spezifischer Proteasen beteiligt (Buckwalter und Mankin, 1998a; Martin und Buckwalter, 1996). Die Chondrozyten synthetisieren spezifische Matrixkomponenten, welche hyalincharakteristisch angeordnet werden. Auf Grund ihrer geringen Zelldichte und Syntheserate sind sie nur bedingt in der Lage, auf

variierende Änderungen des Belastungsmusters mit entsprechender angepasster synthetischer Aktivität zu reagieren (Buckwalter, 1988). Das limitierte Regenerationsvermögen der Chondrozyten vermag nur geringfügige Knorpelläsionen zu kompensieren (Hunziker, 2002; Martin und Buckwalter, 1996). Bei größeren Defekten werden diese Reparationsmechanismen überfordert (Buckwalter and Mankin, 1998a).

In einem juvenilen Organismus proliferieren die Chondrozyten schneller und teilen sich häufiger (Buckwalter und Mankin, 1998a; Marlovits und Véscei, 2000a; Caplan et al., 1997). Trotz geringer Mitoserate weisen sie eine hohe Matrixsynthesekapazität auf. Nach Erreichen der Skelettreife werden der Stoffwechsel, die Zahl der Zellteilungen und ihre Anzahl sukzessiv reduziert (Buckwalter, 1988). Damit einhergehend lassen sich Veränderungen in der metabolischen Aktivität der Chondrozyten und in ihrer Anpassungsfähigkeit feststellen (Buckwalter und Mankin, 1998a; Martin und Buckwalter, 1996; Buckwalter et al., 1994b; Buckwalter et al., 1985). Dieses legt vermutlich den Grundstein für die limitierte Fähigkeit der Chondrozyten, im adulten Gelenkknorpel auf Veränderungen in der Matrix zu reagieren, die mit der steigenden Inzidenz zur Osteoarthritis korreliert (Martin und Buckwalter, 1996; Buckwalter et al., 1994b; Buckwalter et al., 1985).

2.1.2 Extrazelluläre Matrix

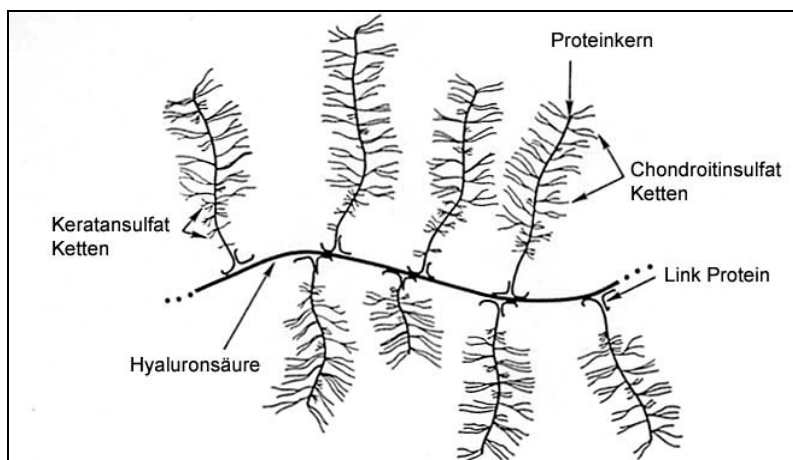
Die extrazelluläre Matrix, welche einen signifikanten Einfluss auf die gewebetypischen mechanischen Eigenschaften nimmt, besteht zu 60-70% aus Wasser und zu 30-40% aus strukturellen Makromolekülen (Abb. 1) (Buckwalter, 1988; Buckwalter, 1983; Martin und Buckwalter, 1996; Martinek, 2003).

Die extrazelluläre Matrix gewährt den Chondrozyten Schutz vor mechanischer Schädigung und die Aufrechterhaltung des Phänotyps (Martinek, 2003). Weiterhin fungiert die Matrix als Signalüberträger, indem sie Signale während der mechanischen Belastung der artikulären Gelenksoberfläche an die Chondrozyten weiterleitet (Buckwalter und Mankin, 1998a; Sah et al., 1989). Veränderungen in der Makromolekülzusammensetzung oder in der Organisation der Matrix werden ebenfalls realisiert und entsprechend von den Chondrozyten beantwortet (Marlovits und Véscei, 2000a; Buckwalter und Mankin, 1998a). Die Makromoleküle setzen sich aus Kollagenen (60%), Proteoglykanen (20-25%) und nicht kollagenen Proteinen sowie Glykoproteinen (15-25%) zusammen (Marlovits und Véscei, 2000a). Eine weitere Differenzierung in fibrilläre und nicht fibrilläre Moleküle erscheint sinnvoll. Das von den Kollagenen gebildete arkadenförmig angeordnete fibrilläre Konstrukt verleiht dem Knorpel seine Form

und Festigkeit gegenüber einwirkenden Scherkräften (Buckwalter, 1988). Einen additiven Effekt zur Komplettierung des Netzwerkes üben Proteoglykane und nicht kollagene Proteine aus, indem sie an das Kollagenetzwerk binden. Allgemein weisen Proteoglykane ein enormes Wasserbindungspotenzial auf (Buckwalter und Mankin, 1998a). Nur ein kleiner Teil des Wassers befindet sich intrazellulär, 30% sind im intrafibrillären Raum verteilt. Der größte Teil ist in der extrazellulären Matrix gebunden und transportiert gelöste Nährstoffe und Stoffwechselprodukte (Buckwalter, 1988). Die Interaktion der Wassermoleküle mit dem makromolekularen Netzwerk beeinflusst maßgeblich die mechanischen Eigenschaften wie Festigkeit und Elastizität des hyalinen Knorpels (Buckwalter, 1988).

Die weiter unten beschriebenen vier Zonen des Gelenkknorpels weisen in der Extrazellulärmatrix hinsichtlich ihrer Zusammensetzung Unterschiede auf. Variationen lassen sich in der Ausrichtung und in der Zusammensetzung der Fibrillen, dem Gehalt an Kollagen, den Proteoglykanen und dem Wasseranteil verzeichnen.

Abb. 1: Proteoglykanaggregat mit mehreren Untereinheiten. Die Seitenketten stoßen sich auf Grund der negativen Ladung gegenseitig ab.



(Quelle: Buckwalter, 1983)

2.1.3 Biomechanische Grundlagen des Gelenkknorpels

Die speziellen biomechanischen Eigenschaften des hyalinen Gelenkknorpels basieren auf dem einzigartigen Zusammenspiel seiner einzelnen Komponenten aus Kollagenen und Proteoglykanen. Mit einem Anteil von 90-95% bildet Kollagentyp II, welches eine enorme Zugfestigkeit aufweist, den Hauptbestandteil der Kollagene und ist primär an dem Aufbau der Kollagenfibrillen beteiligt (Aydelotte et al., 1988; Burkhart und Imhof, 1999; Burkart et al., 2001; Buckwalter, 1988; Martinek, 2003; Eyre et al., 1992). Kollagen Typ II bildet ein stark verzweigtes Netzwerk aus Fibrillen, in das auch Proteoglykane eingelagert werden können. Diese Konstruktion ist enorm belastbar (Ulrich-Vinther et al., 2003; Martin und Buckwalter, 1996).

Die Proteoglykane, aus zahlreichen Proteoglykanuntereinheiten aufgebaut, setzen sich zu 95% aus Glukosaminoglykanen und zu 5% aus Proteinen zusammen (Buckwalter, 1988; Buckwalter, 1983). Die primäre Funktion der Proteoglykane ist in der chemischen Bindung von Wasser zu sehen, die die Druckelastizität des Knorpels gewährleistet (Buckwalter, 2002; Buckwalter et al., 1994a; Buckwalter et al., 1985). Auf Grund ihrer molekularen hydrophilen und polyanionischen Struktur sind sie in der Lage, große Mengen an Kationen und Wassermolekülen zu binden (Roughley und Lee, 1994; Buckwalter, 1988).

Das makromolekulare Netzwerk, bestehend aus Kollagenfibrillen und aggregierten Proteoglykanen, ermöglicht somit die Interaktion mit einer Vielzahl von Wassermolekülen. Der Wassergehalt verleiht dem Knorpel die nötige Steifheit und fungiert als Schockabsorber. Die auf den Knorpel einwirkende punktuelle Druckbelastung infolge von Gelenkkompression stellt die primäre Form der Belastung dar. Die Viskoelastizität als funktionelles Merkmal bietet dem hyalinen Knorpel die Möglichkeit, adäquat auf einwirkende Kräfte und Deformationen reagieren zu können (Buckwalter, 2002; Bader und Kempson, 1994; Ding et al., 1998). Die Deformation des Knorpelgewebes ist durch seine viskoelastischen Eigenschaften reversibel (Rudert und Wirth, 1998). Lokale Druckapplikation drängt die Hydrathüllen von den geladenen Bereichen des Proteoglykans auseinander und bedingt dadurch einen beträchtlichen Quellungs- und Gewebeinnendruck (Kempson et al., 1973). Dieser Prozess wird solange unterhalten bis die Abstoßungskräfte den Kompressionswiderstand überwiegen. Dosierte Druckapplikation auf die Knorpeloberfläche induziert eine Verlagerung des interstitiellen Wassers aus der permeablen Proteoglykanmatrix. Verantwortlich hierfür ist der temporäre Anstieg des osmotischen Druckes, der die Tendenz zur Wasserbewegung in den komprimierten Bereichen bewirkt und den einwirkenden Druck reduziert (Martin und Buckwalter, 1996; Kempson et al., 1973). Nach Abklingen der Belastung kehrt das Gewebe durch Rückfluss der Wassermole-

leküle in seine Ausgangskonfiguration zurück (Buckwalter, 1988). Auf Grund der oben beschriebenen elektrostatischen Abstoßungskräfte wird einer zu starken Kompression und damit verbundenen Schädigung entgegen gewirkt (Roughley und Lee, 1994; Marlovits und Véscei, 2000a; Ulrich-Vinther et al., 2003). Der Anteil an visköser bzw. elastischer Verformung ist nach Art und Dauer der jeweiligen Belastung unterschiedlich. Plötzliche Spitzenbelastungen oder Torsionskräfte können unter Umständen diesen Schutzmechanismus außer Kraft setzen und eine maximale Belastung der makromolekularen Matrix verursachen, dem sie nicht Stand zu halten vermag (Buckwalter und Brown, 2004). Dieser erhebliche mechanische Stress führt zur Schädigung, insbesondere der Chondrozyten (Sah et al., 1989). Weitere Folgen sind Zerreißungen der Matrix und erhöhte Druckbelastung des subchondralen Knochens (Buckwalter, 2002).

Während des Alterungsprozesses können abweichende Syntheseraten und Metabolismus verschiedener Zellen beobachtet werden. So ist die Syntheserate von dem Kollagentyp II altersabhängig und sinkt mit Erreichen der Skelettreife (Eyre, 2002). Weiterhin kann im Alter sowohl eine Konzentrationsabnahme an Matrixmolekülen als auch eine Wandlung der Matrixzusammensetzung beobachtet werden (Buckwalter et al., 1985), vergesellschaftet mit einer Abnahme der negativen Ladung respektive Wasserkonzentration. Diese äußert sich in einer Reduktion der osmotischen und elektrostatischen Kräfte (Martin und Buckwalter, 1996). Neuere Erkenntnisse lassen vermuten, dass die altersabhängigen funktionellen Veränderungen der Proteoglykanzusammensetzung, besonders der Aggrekane (Roughley und Lee, 1994), und die Änderungen im Chondrozytenmetabolismus für die Entwicklung und die Progression der Osteoarthritis bedeutsam sind (Marlovits und Véscei, 2000a; Buckwalter und Brown, 2004; Martin und Buckwalter, 1996; Dustmann und Puhl, 1976). Damit verbunden sind sowohl Veränderungen in der Viskoelastizität als auch eine veränderte Potenz der Chondrozyten, auf Stimuli (z.B. Wachstumsfaktoren) reagieren zu können (Martin und Buckwalter, 1996; Martinek, 2003). Auf diese Weise werden im Alter durch die Reduktion der Steifigkeit und der Viskoelastizität des Knorpels dessen biomechanisches Verhalten und die Funktionalität negativ beeinflusst (Buckwalter, 1995a; Buckwalter, 1995b; Dustmann und Puhl, 1976). Experimentelle Studien zeigen, dass jeder Schädigungs- oder Reparatursprozess mit einem Umbau in der Ausrichtung der Kollagenfasern, dem Gehalt an Proteoglykanen und dem Ausmaß ihrer Aggregation einhergeht (Sah et al., 1989). Ähnliches ist bei Immobilisation von Gelenken nach traumatischer Schädigung oder degenerativen Prozessen zu beobachten, die mit einer Reduktion der Proteoglykane einhergehen (Buckwalter, 1988; Martinek, 2003; Sah et al.,

1989). In diesem Zusammenhang sei der Verlust von Proteoglykanen und der Verlust der Integrität der Kollagenmatrix als erstes Osteoarthrose-Anzeichen zu erwähnen (Burkart et al., 2001; Ulrich-Vinther et al., 2003; Martin und Buckwalter, 1996; Dustmann und Puhl, 1976).

2.2 Struktureller Aufbau des artikulären Knorpels

Trotz des im Allgemeinen einfach erscheinenden Aufbaus synovialer Gelenke handelt es sich um äußerst komplexe Strukturen, die stabile Bewegung zulassen. Zu den primären Aufgaben zählen die Lastenverteilung, die Reduzierung der Kraftübertragung auf den subchondralen Knochen, die enorme Beständigkeit und die Verformbarkeit des Knorpels auf Belastung (Buckwalter, 1983; Marlovits und Véscei, 2000a). Hauptverantwortlich für diese Eigenschaften ist der hyaline Knorpel. Im gesunden hyalinen Knorpel lassen sich vier Zonen abgrenzen, deren Übergänge fließend sind (Abb. 2). Diese einzigartige Architektur jeder einzelnen Zone verleiht dem Knorpel seine spezifischen Eigenschaften (Buckwalter, 1988; Eyre, 2002; Ruderth und Wirth, 1998). In Abhängigkeit ihrer räumlichen Lage im Knorpelgeflecht differieren die Chondrozyten einerseits in ihrer metabolischen Aktivität, Größe und Form, andererseits in der Zusammensetzung und Orientierung der Matrix (Aydelotte et al., 1988; Buckwalter, 1988; Marlovits und Véscei, 2000a).

Die Gelenkoberfläche wird durch die dünne, nur etwa 40 µm breite Superfizialschicht (10-20%) repräsentiert (Poole et al., 1982). Diese Gleitschicht ist durch einen hohen Zellgehalt an parallel zur Oberfläche ausgerichteten dünnen Kollagenfibrillen charakterisiert und darin eingebetteten, spindelförmigen Chondrozyten (Poole et al., 1987). In dieser Superfizialzone ist die Kollagendichte am höchsten, der Anteil an Proteoglykanen hingegen relativ gering (Marlovits und Véscei, 2000a; Muir et al., 1970). Die Kollagenkonzentration nimmt in den tieferen Schichten stetig ab. Ein gegenteiliger Verlauf kann bei der Proteoglykankonzentration beobachtet werden, der in den tieferen Schichten eine deutliche Zunahme erfährt (Muir et al., 1970). Der Wasseranteil in dieser Zone ist mit 80% am höchsten; in den tieferen Schichten sind lediglich 65% Wassergehalt vorhanden (Martinek, 2003). Diese spezifische Anordnung verhilft, den jeweils einwirkenden Scherkräften Stand zu halten. Die Lamina splendens, eine der Oberfläche direkt anliegende Schicht aus feinen Kollagenfibrillen, bildet eine effektive Schutzbarriere, indem sie die Passage von Antikörpern und Makromolekülen in das Knorpelgewebe verhindert. Eine Zerstörung der Lamina zieht synoviale Immunreaktionen und Entzündungsreaktionen nach sich (Alford und Cole, 2005).

Für die sich an die Superficialzone anschließende Intermediärzone sind sphäroid geformte Chondrozyten und arkadenartig angeordnete dickere Kollagenfibrillen charakteristisch (Buckwalter, 1988; Martinek, 2003). Diese spezifische Konstruktion gewährleistet einerseits eine enorme Kompressionsstabilität, andererseits fungiert sie als physiologischer Stoßdämpfer zwischen den auf die Oberfläche einwirkenden Scherkräften und den Kompressionskräften tieferer Zonen (Alford und Cole, 2005). Die Intermediärzone stellt mit 40-60% den Hauptanteil des Knorpels mit einer Breite von 500 µm dar (Poole et al., 1982) und mit steigendem Proteoglykangehalt (Marlovits und Véscei, 2000a).

Die darauf folgende Schicht mit einem Anteil von 30-40% wird Radiärzone genannt und besitzt eine Breite von 500 µm (Poole et al., 1982). Diese Zone enthält die im Durchschnitt größten Kollagenfasern (Buckwalter, 1988; Muir et al., 1970; Poole et al., 1982). Hier sind die Chondrozyten kubisch und hauptsächlich in Säulen, senkrecht zum darunter liegenden Knochen ausgerichtet. Die Kollagenfibrillen verlaufen zwischen und parallel zu diesen Säulen senkrecht zur Gelenkoberfläche (Marlovits und Véscei, 2000a). Diese spezifische Anordnung verleiht zusätzliche Kompressionsstabilität (Alford und Cole, 2005). Die Chondrozyten in dieser Zone zeichnen sich durch höchste metabolische Aktivität aus analog zum Proteoglykangehalt. Der Wassergehalt in dieser Zone ist hingegen gering (Buckwalter und Mankin, 1998a).

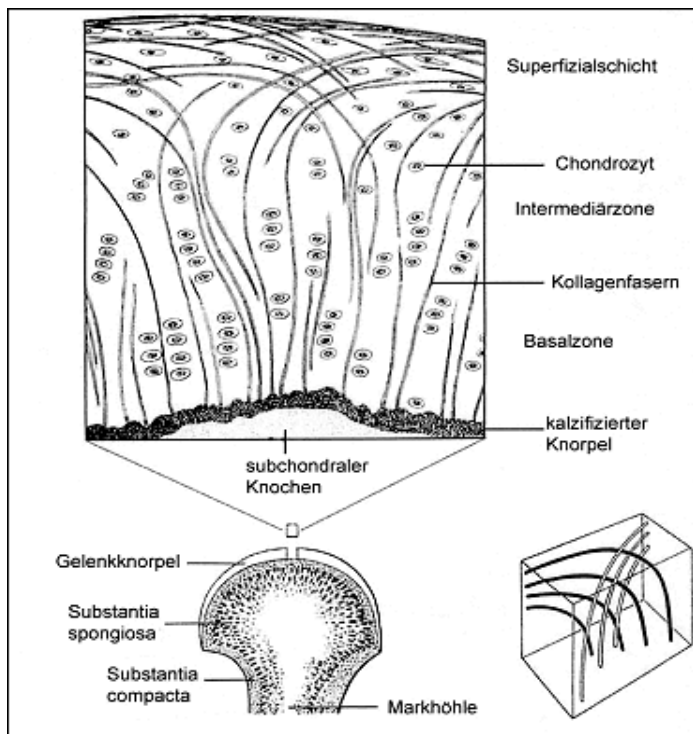
Die Mineralisationszone wird von der Radiärzone durch eine basophile Grenzlinie mit einer Stärke von 2,5 µm, der so genannten Tidemark, abgegrenzt (Buckwalter und Mankin, 1998a; Marlovits und Véscei, 2000a). Die Tidemark ist der Übergang vom nicht-kalzifizierten zum kalzifizierten Knorpel. Charakteristisch für die Tidemark sind ihr hoher Calciumgehalt sowie ihr überaus variables morphologisches Erscheinungsbild in Abhängigkeit ihrer mechanischen Funktion. In Regionen mit kritischer mechanischer Belastung weist sie ein irreguläres Aussehen auf (Broom und Poole, 1982). Die Kollagenfasern aus den übergeordneten Schichten des unkalzifizierten Knorpels strahlen senkrecht durch die Tidemark hindurch und erfahren im kalzifizierten Knorpel eine stabile Insertion (Broom und Poole, 1982). Dadurch wird die Integrität des Gewebes gesteigert (Martinek, 2003). Der kalzifizierte Knorpel trennt den flexiblen hyalinen Knorpel von dem darunter liegenden rigiden subchondralen Knochen (Buckwalter, 1988). In seiner Gesamtheit macht der mineralisierte Knorpel etwa 5-10% der Knorpeldicke aus.

Der subchondrale Knochen steht in enger Beziehung zum kalzifizierten Knorpel und ist mit diesem eng verzahnt (Marlovits und Véscei, 2000a; Imhof et al., 2000). Auf Grund der ähnlichen Steifigkeit beider Gewebe garantiert dies eine feste Verankerung und steigert die Integrität des Gewebes (Martinek, 2003). Der subchondrale Knochen übernimmt nicht nur eine entscheidende Rolle als effektiver Druckabsorber (Ding et al., 1998), sondern bildet auch ein verstärktes Widerlager, welches die auf den Knorpel einwirkenden Scherkräfte minimiert (Radin und Rose, 1986). Sowohl der Knorpel als auch der subchondrale Knochen unterliegen während Be- und Entlastung einer Deformation. Dieses stellt eine notwendige Voraussetzung für die Ernährung des Gewebes dar und fördert zudem noch die Syntheserate der Proteoglykane, der Kollagenfibrillen und der Knochen trabekel (Imhof et al., 2000; Sah et al., 1989). Aus diesem Grund ist die Gesundheit des Knorpels entscheidend von den mechanischen Eigenschaften des subchondralen Knochens abhängig (Radin und Rose, 1986; Swieszkowski et al., 2007). In Abhängigkeit von der punktuellen Belastung, die sich von den einzelnen Schichten des Knorpels auf die Knochenlamelle fortsetzt, sind nach dem Wolffschen Gesetz Veränderungen in der trabekulären Struktur wahrnehmbar (Kummer, 1995). Gleichzeitig kann die Steifigkeit der subchondralen Knochenlamelle nachhaltig Einfluss auf die Gelenkkonformation nehmen. In ihren Studien dokumentierten Radin und Rose 1986 ein gehäuftes Auftreten von Scherkräften innerhalb des artikulären Knorpels, primär in Verbindung mit Diskontinuität oder Veränderung in der Steifigkeit der subchondralen Knochenlamelle. Seit langem ist bekannt, dass Änderungen in der Knochenstruktur mit Osteoarthrose in Verbindung gebracht werden können (Radin und Rose, 1986; Swieszkowski et al., 2007). Diese äußern sich in substantiellen Verlusten von Proteoglykanen und Destruktionen der Knorpeloberfläche (Lahm et al., 2004).

Die starke Vaskularisation in der Region des subchondralen Knochens und der direkte Kontakt der Gefäße, größtenteils in Form von Endarterien zu dem kalzifizierten Knorpel, ermöglichen einerseits eine Versorgung des umliegenden Knorpels mit Glukose, Sauerstoff und Wasser und andererseits den Abtransport von Stoffwechselendprodukten. Die Intensität der Vaskularisation differiert hinsichtlich Alter, Individualität, Genetik und auch in Abhängigkeit vom jeweiligen Gelenk (Imhof et al., 2000). Bei Überbelastung des hyalinen Knorpels und des subchondralen Knochens lassen sich weitreichende strukturelle Veränderungen verzeichnen, die sich bis in den Bereich des unkalzifizierten Knorpels erstrecken. Als primäre Anzeichen gelten hierfür die Zerstörung von Fibrillen, die Produktion von abnormalen Matrixproteinen und die Ausbildung von Knorpelödemen. Die Folge bestehender Überbelastung

sind Zerreissungen und Fibrillationen an der Oberfläche des unkalzifizierten Knorpels, die letztlich zu einem völligen Verlust der Knorpeloberfläche führen können (Kummer, 1995). Mikroverletzungen können aber auch im Bereich des subchondralen Knochens gefunden werden, charakteristisch hierfür sind Knochemarködeme, Blutungen und Nekrosen (Imhof et al., 2000). Rezidivierende Mikroverletzungen des subchondralen Knochens und des kalzifizierten Knorpels können Reparaturmechanismen initiieren, die sich durch die Aktivierung von Fibroblasten, Osteoklasten und Osteoblasten auszeichnen. Daraus resultiert eine Knochenneubildung (Kummer, 1995) und die Formierung einer neuen Mineralisationszone, die letztlich an der Duplikation der Tidemark abgelesen werden kann (Imhof et al., 2000).

Abb. 2: Aufbau des Gelenkknorpels



(Quelle: Junqueira, Carneiro 1996)

2.3 Heilung chondraler und osteochondraler Defekte

Die Reaktionen bei traumatischer Schädigung unterschiedlicher Gewebe besteht aus den drei folgenden Phasen: Nekrose, Inflammation und Reparation (Buckwalter und Mankin, 1998a; Mankin, 1982).

Die Phase der Nekrose setzt direkt mit der Traumatisierung ein. Kennzeichnend hierfür sind der massive Gewebeuntergang in Abhängigkeit von der Art und Schwere der Verletzung, die Empfindlichkeit der jeweiligen Zellen sowie der lokalen Vaskularisation (Mankin, 1982).

Daran schließt sich die Phase der Entzündung an. Das Erscheinungsbild ist geprägt von geschädigten Gefäßen, Gefäßdilatationen, massiver Hyperämie und gesteigerter Permeabilität. Diese genannten Faktoren fördern die Transsudation und Exsudation von Entzündungszellen. In dem traumatisierten Bereich lässt sich einerseits die Ausbildung eines dichten Fibrinnetzes, andererseits die Migration von Entzündungszellen und mesenchymalen Stammzellen unter Bildung eines primären Wundverschlusses beobachten (Mankin, 1982).

Die dritte Phase, die Reparation, beginnt mit dem Einsprossen von Blutgefäßen in das Fibrinnetzwerk. Die undifferenzierten mesenchymalen Zellen differenzieren sich zu Fibroblasten und bilden zunächst ein lockeres gefäßreiches Granulationsgewebe, welches sich schließlich in Narbengewebe umwandelt. Dadurch ziehen sich die Wundränder zusammen.

Nach traumatischer Schädigung verhält sich Knorpelgewebe wie jedes andere Gewebe und durchläuft die Phase der Nekrose. Kennzeichnend hierfür sind absterbende Chondrozyten und ein substanzieller Verlust der Knorpelmatrix. Verantwortlich für das Ausbleiben einer inflammatorischen Reaktion des Knorpels ist seine Avaskularität. Diese bedingt wiederum die Abwesenheit eines Fibrinpfropfs und die damit verbundene ausbleibende Besiedlung mit mesenchymalen Zellen. (Buckwalter, 2002; Mankin, 1974; Mankin, 1982). Die Phase der Inflammation entfällt bei oberflächlichen Knorpelschäden vollständig (Marlovits und Véscei, 2000a; Mankin, 1974). Die verbliebenen intakten Chondrozyten sind in limitierter Weise zur Reparation befähigt. Die Immobilität der Knorpelzellen verhindert die notwendige Migration zu den geschädigten Arealen (Burkhart und Imhof, 1999). Die metabolische und mitotische Aktivität der angrenzenden Chondrozyten ist begrenzt (Mankin, 1982; Buckwalter, 1983; Hunziker, 2002; Bobic und Noble, 2000). Auf diese Weise kann der Verlust an Makromolekülen nicht kompensiert werden.

Die Reaktion des Gelenkknorpels hängt entscheidend von der Tiefe und Ausdehnung des Defektes ab (Alford und Cole, 2005). Die Unterschiede verdeutlichen sich in der Qualität des Regeneratgewebes und im zeitlichen Heilungsverlauf (Buckwalter, 2002; DePalma et al., 1966; Convery et al., 1972).

Prinzipiell lassen sich Knorpeldefekte in drei Kategorien einteilen (Buckwalter und Brown, 2004):

1. Mikroverletzungen mit Schädigung der Matrix und der Zellen,
2. partielle Gelenkknorpeldefekte (Schädigungen der Gelenkknorpelfläche ohne Einbeziehung der subchondralen Knochenplatte) und
3. tiefe Knorpeldefekte oder subchondrale Gelenkknorpeldefekte, die eine Miteinbeziehung der Tidemark und des darunter liegenden subchondralen Knochens aufweisen.

Mikroverletzungen können durch wiederholte stumpfe Traumata, Spitzenbelastung oder auch im Rahmen degenerativer Prozesse, wie zum Beispiel der Osteoarthritis, auftreten (Martinek, 2003; Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998a; Buckwalter und Brown, 2004). Diese äußern sich durch Schädigungen in der Matrix und den Knorpelzellen, ohne makroskopisch sichtbare Veränderungen der Knorpeloberfläche, wodurch eine Diagnosestellung erschwert wird (Buckwalter, 1998; Buckwalter et al., 1994a). Morphologisch können Desintegration der Kollagenultrastruktur mit Verlust der Proteoglykane (Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998a; Buckwalter, 1983), Deformation und Verlust der Chondrozyten (Ulrich-Vinther et al., 2003), Fissurenbildung oder Erweichung des oberflächlichen Knorpels und Verdickung der subchondralen Lammelle erfasst werden. Damit verbunden sind Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften wie Reduktion der Steifigkeit und Zunahme in der Permeabilität, die letztlich zum Untergang der Chondrozyten führen können (Buckwalter et al., 1994a). Zur Zeit sind noch keine klinischen Methoden entwickelt, die eine Alteration der kollagenen Matrix detektieren können (Buckwalter, 2002).

Oberflächliche partielle Knorpelläsionen ohne Beteiligung des subchondralen Knochens können sowohl durch stumpfe Traumata als auch durch degenerative Prozesse ausgelöst werden. Makroskopisch sind Fissuren, Fibrillationen und lose Knorpelfragmente zu beobachten (Buckwalter et al., 1994a). Signifikante morphologische Veränderungen zeigen sich deutlich im Zeitraum von 48 bis 72 Stunden nach der initialen Nekrose in einer Abnahme der Chondrozyten, in Verlust an Proteoglykanen, Auftreten von Zellclustern (Buckwalter und Mankin, 1998b), in Veränderungen der Kollagenzusammensetzung und in den damit verbun-

denen Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften (Buckwalter, 1998; Mankin, 1982). Die verbleibenden Chondrozyten reagieren mit einer erhöhten mitotischen und metabolischen Aktivität, allerdings ist ihr Reaktionsvermögen, Veränderungen in der Matrix zu kompensieren, begrenzt (Buckwalter und Mankin, 1998b; Buckwalter, 1988; Martinek, 2003; Marlovits und Véscei, 2000a; Mankin, 1982). Die Syntheserate der Proteoglykane wird kurzfristig entsprechend gesteigert (Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998a; Roughley und Lee, 1994) und stagniert, ohne den Defekt vollständig auszufüllen (Buckwalter, 2002; Buckwalter und Brown, 2004). Aus diesem Grund ist auch keine Restauration der Gelenkoberfläche möglich (Buckwalter et al., 1994a). Tendenziell heilen kleine oberflächliche Knorpelläsionen kaum (Hunziker, 2002; Cheung et al., 1978; Campbell, 1969) und zeigen auch nach Monaten meist noch eine unveränderte Reaktionslage ohne Fortschreiten zu Arthrosen (Mankin, 1974; Mankin, 1982; Buckwalter, 1983). Größere chondrale Defekte führen zu einer steigenden Belastung des umliegenden Knorpelgewebes und des darunter liegenden subchondralen Knochens. Dieses kann sich im Laufe der Zeit in einer Degeneration des intakten Knorpels äußern (Buckwalter et al., 1994a).

Bei penetrierenden Knorpeldefekten mit zusätzlicher Eröffnung des subchondralen Knochens findet die Phase der Inflammation statt. Der Defektbereich wird mit Blut aus dem Knochenmarkraum unter Bildung eines Hämatoms ausgefüllt. Im Anschluss daran bildet sich ein Fibringerinnsel, das die Wundränder miteinander verbindet (Buckwalter, 2002; Buckwalter und Rosenberg, 1988). Makrophagen und Entzündungszellen wandern in den Defektbereich ein und resorbieren innerhalb von fünf Tagen den Fibrinpfropf (Mankin, 1982; DePalma et al., 1966). Eine besondere Rolle bei der Reparation osteochondraler Defekte spielen vasoaktive Mediatoren, Zytokine und Wachstumsfaktoren, wie TGF- β (Bobic und Noble, 2000; Mankin, 1974; Buckwalter et al., 1994a). Sie stimulieren die Gefäßeinsprossung, fördern die Migration der undifferenzierten Stammzellen in den Fibrinpfropf und beeinflussen die Proliferation und Syntheserate der Zellen (Buckwalter, 2002; Buckwalter und Brown, 2004; Hunziker, 2002). Im Verlauf der nächsten Tage liefert der gut vaskularisierte Knochen pluripotente Stammzellen aus dem Markraum, die sich zu Fibrozyten und Chondrozyten differenzieren können (Mankin, 1982; Martinek, 2003; Campbell, 1969; Caplan et al., 1997). Anschließend setzt die Produktion von Proteoglykanen und Kollagenen ein, vorwiegend Kollagentyp II und I (Buckwalter et al., 1994a). Auf diesem Wege wird schließlich der Defektbereich langsam mit Reparationsgewebe aufgefüllt (Cheung et al., 1978), welches morphologisch dem hyalinen Knorpel ähnelt (DePalma et al., 1966). Shapiro wies 1993 in tierexperimentellen Studien am

Kaninchen reproduzierbare physiologische Reparaturreaktionen nach (Shapiro et al., 1993). Defekte im Bereich des subchondralen Knochens werden von mesenchymalen Stammzellen, die letztlich zu Osteoblastenvorläufern proliferieren, ausgeglichen (Caplan et al., 1997). An der Knorpel-Knochen-Grenze kommt es vorerst zur Ausbildung von Säulenknorpel, der später durch lockeren Geflechtknochen ersetzt wird. Die Ausrichtung der einzelnen Knochenbälkchen orientiert sich an der vorherrschenden Belastung (Kummer, 1995). Dabei wird das ursprüngliche Niveau der subchondralen Lamelle nicht überschritten (Mankin, 1982). Allerdings sind nach 6 bis 12 Monaten bereits Degenerationserscheinungen am knorpeligen Regenerat nachweisbar. Hierzu zählen: das gehäufte Auftreten von Chondrozytenclustern, Hyperzellularität, Auffaserung und einer Regeneratoberfläche mit fibroidem Charakter (Convery et al., 1972), Reduktion der Steifigkeit bei gleichzeitiger Erhöhung der Permeabilität, sowie permanente Spaltbildung zum umliegenden gesunden Knorpelgewebe (Caplan et al., 1997). Im Defektbereich kann nun bevorzugt die Ausbildung von Faserknorpel beobachtet werden (Mankin, 1974; Campbell, 1969), der bezüglich der biomechanischen Eigenschaften denen des hyalinen Knorpels deutlich unterlegen ist und langfristig Spitzenbelastung nicht Stand zu halten vermag (Buckwalter, 1998; Buckwalter, 1983; Bobic und Noble, 2000; Shapiro et al., 1993; Furukawa et al., 1980). Eine Regeneration kann weder im histologischen noch im funktionellen Sinne erreicht werden (Buckwalter, 1998; Buckwalter, 2002; Marlovits und Véscei, 2000a).

Die Mannigfaltigkeit der tierexperimentellen Studien zur Verbesserung der Knorpelregeneration erfordert hinsichtlich ihrer Interpretationen und Ergebnisse eine standardisierte Klassifizierung. Erschwerend kommt hinzu, dass Methoden, die die Knorpelregeneration im Tiermodell stimulieren, nicht unbedingt zu denselben Ergebnissen im menschlichen Organismus führen. Zahlreiche variierende Faktoren wie Patientenalter, Körpergewicht, Gelenkinstabilitäten, Achsenfehlstellungen, Ausmaß der Läsion, Bewegung und Belastung nach der Verletzung, sportliche Aktivität und genetisch determinierte Unterschiede in der Knorpelheilung müssen unbedingt Berücksichtigung finden, um die Effektivität der Methoden sinnvoll abschätzen zu können (Buckwalter, 2002). Die Entwicklung und Etablierung verschiedener Klassifikationssysteme erleichtert zukünftig dieses Problem. In der Klassifikation von Knorpeldefekten sollten die zuvor erwähnten Kriterien Berücksichtigung finden. Außerdem sind zusätzliche Verletzungen an Menisken, Bändern oder axiale Achsenfehlstellungen zu protokollieren und sollten in die Beurteilung mit einfließen (Steinwachs et al., 2008a). Die sog. ‚Outerbridge Klassifikation‘ von Knorpeldefekten, die primär zur Beurteilung der Chondromalazie der Patella

entwickelt und angewendet wurde, findet mittlerweile immer häufiger Anwendung in der Klassifikation von Knorpelschäden im Bereich des Kniegelenkes (Outerbridge, 1961).

2.4 Chirurgische Intervention zur Behandlung von Knorpelschäden

Die zunehmende Inzidenz traumatisch bedingter Knorpelläsionen im Kniegelenk insbesondere bei jungen Patienten, die mit einer Schmerzsymptomatik einhergehen, erfordert auf Grund des minimalen Regenerationspotenzials des Knorpels immer häufiger chirurgischer Intervention. Langfristig führen Knorpelschäden nicht nur zu einer Minimierung der Lebensqualität, sondern auch zu frühzeitigen Arthrosen (Hunziker, 2002; Buckwalter und Brown, 2004). Aus diesem Grunde ist es verständlich, dass zahlreiche Methoden entwickelt worden sind, Knorpeldefekte zu therapieren. Die Wahl der operativen Versorgung ist abhängig von verschiedenen Faktoren wie Alter, Größe, Tiefe und Lokalisation des Defektes. Meniskusläsionen, Bandinstabilitäten und Achsenfehlstellungen finden dabei ebenfalls Berücksichtigung. Klinische Erfahrungen wie auch epidemiologische Studien beweisen, dass Gelenkinstabilitäten und Gelenkverletzungen, die mit einer Schädigung an Menisken, Bändern, der Gelenkkapsel sowie Dislokationen oder intraartikulären Frakturen in Verbindung stehen, häufig die Progression einer Gelenksdegeneration posttraumatisch erhöhen. Primäres Ziel der chirurgischen Intervention sollte die uneingeschränkte schmerzlose Bewegung, die Verhinderung fortschreitender Gewebedegeneration und die Wiederherstellung der Integrität der Gelenkoberfläche sein und zwar unabhängig von der Methode. Wichtige Voraussetzungen für eine gute Knorpelheilung sind eine vollständige Integration mit dem umliegenden Knorpel, eine intakte Oberfläche und langfristige Beständigkeit (Marlovits und Véscei, 2000b). Prinzipiell existieren drei verschiedene Therapieansätze (Marlovits und Véscei, 2000b).

Die erste Möglichkeit der Intervention besitzt einen temporären und rein symptomatischen Effekt. Dieser ist in der Entfernung von losen Knorpelfragmenten und Entzündungsprodukten zu sehen. Der zweite Ansatz beschäftigt sich mit der Stimulierung der intrinsischen Regenerationskapazität des hyalinen Gelenkknorpels und des subchondralen Knochens. Versuche, das limitierte Selbstheilungspotential zu fördern, sind auf die Eröffnung des subchondralen Knochens fokussiert, die mit einer Rekrutierung mesenchymaler Stammzellen aus dem Knochenmark einhergeht. Neuere Forschungsarbeiten befassen sich mit dem Einsatz von Wachstumsfaktoren und Zytokinen, häufig auch in Kombination mit einer Trägermatrix. Der dritte Ansatz hingegen wendet sich der Wiederherstellung der Gelenkoberfläche zu. Dabei finden Maßnahmen wie die Transplantation von autologen Chondrozyten oder von Gewebe Anwen-

dung. Vermehrte Akzeptanz findet bei der Versorgung von Knorpeldefekten heutzutage auch die Transplantation von autologen Knorpel-Knochen-Zylindern.

2.4.1 Lavage, Shaving und Débridement

Die klinisch etablierten Therapieansätze Lavage, Shaving und Débridement werden vor allem bei oberflächlichen Knorpelläsionen angewandt. Der Vorteil für den Patienten liegt in der arthroskopischen Durchführung. Die Lavage zielt auf die Freispülung des Gelenkes von Detritus und Entzündungsmediatoren ab (Jackson, 1991). Die Methode des Shavings verfolgt die Entfernung abgescherter Knorpelfragmente, die zur mechanischen Irritation führen können (Marlovits und Véscei, 2000b; Burkart et al., 2001). Nachteilig sind die häufig postulierte Knorpelnekrosen und Auffaserungen im benachbarten gesunden Knorpel. Der therapeutische Nutzen ist rein symptomatisch, erzielt aber kurzfristig signifikante temporäre Besserung (Marlovits und Véscei, 2000b; Martinek, 2003; Burkart et al., 2001; Jackson, 1991). Beim Débridement können mittels Fasszangen und Shavern freie oder instabile Knorpelfragmente sowie Gelenkskörper entfernt werden, optional Knorpelränder oder Oberflächen geglättet oder Osteophytabtragung oder Teilsynovektomien durchgeführt werden (Burkart et al., 2001). Die Effektivität der Lavage im Vergleich zum Débridement untersuchte Hubbard in einer prospektiven randomisierten Studie. Die Methode des Débridement war selbst nach einem Zeitraum von 4,5 Jahren der Lavage weit überlegen (Hubbard, 1996). Beide Methoden vermögen jedoch weder die Regeneration des Knorpels zu stimulieren noch das Fortschreiten degenerativer Prozesse zu verhindern (Marlovits und Véscei, 2000b). Als palliative Methoden bescheren sie den Patienten lediglich temporäre Schmerzfreiheit (Hunziker, 2002). Daher besitzen diese Verfahren bei der Behandlung jüngerer Patienten keinen Stellenwert.

Das zu Grunde liegende Prinzip der Knochenmark stimulierenden Techniken liegt in der Penetration der subchondralen Knochenlamelle zur Eröffnung des gut vaskularisierten Knochenmarkraumes. Parallel erfolgt die Rekrutierung mesenchymaler Stammzellen in den Defektbereich. Dort erfahren sie, unter Einwirkung der entsprechenden mechanischen und biologischen Reize, letztlich die vollständige Differenzierung zu Knorpel- oder Knochenzellen. Die Anwesenheit der Gefäße ermöglicht den Ablauf der gefäßassoziierten klassischen Heilungskaskade, wie die Ausbildung eines Fibrinpfropfes, Gefäßinvasion, Differenzierung der Stammzellen und Bildung eines faserknorpeligen Regeneratgewebes. Hierzu sind verschiedene Techniken der Knochenmarkstimulierung entwickelt worden, beispielsweise die Knorpel-Knochen-Anbohrung nach Pridie, Drilling und Mikrofrakturierung. Diese Knochenmark sti-

mulierenden Techniken haben den Vorteil, dass sie relativ kostengünstig sind und keine Schädigungen in gesunden Knorpelarealen verursachen. Der derzeitige Stellenwert dieser Techniken wird kontrovers diskutiert (Marlovits und Véscei, 2000b).

2.4.2 Knorpel-Knochen-Anbohrung nach Pridie

Diese Methode wurde 1959 von Pridie zur Behandlung von osteoarthrotischen Defekten beschrieben. Dabei kam die Anbohrung des Defektes durch den sklerosierten subchondralen Knochen bis hin in den gut vaskularisierten spongiösen Knochen zur Anwendung, um die Ausbildung einer glatten Faserknorpeloberfläche anzuregen. Mitchell und Shepard untersuchten in experimentellen Studien an adulten Kaninchen den Einfluss der subchondralen Bohrung im Bereich der Femurkondylen. Nach acht Wochen waren die Ergebnisse mit Vorfinden hyalinartigem Knorpelgewebe zufrieden stellend, das aber bereits nach acht Monaten seine hyaline Erscheinung verloren hatte und nun umfassend bindegewebig durchsetzt war (Mitchell und Shephard, 1976).

2.4.3 Mikrofrakturierung

Eine weitere Technik zur Eröffnung des Knochenmarkraumes stellt die Mikrofrakturierung dar. Unter Verwendung spezieller arthroskopischer Stößel werden Löcher bzw. Mikrofrakturierungen in die subchondrale Knochenlamelle eingebracht. Der Abstand zwischen den einzelnen Löchern sollte 3 bis 4 mm betragen und ungefähr 4 mm tief sein, so dass ein ineinander Brechen vermieden wird und die Gelenkkontur erhalten bleibt (Steadman et al., 1999; Steadman et al., 2003). Die Mikrofrakturierung erzeugt ebenfalls eine Knorpelreparatur über Stimulierung von Knochenmarkszellen (DePalma et al., 1966; Mankin, 1982; Bobic und Noble, 2000). Als vorteilhaft kann die Entstehung einer rauen Oberfläche gewertet werden, die theoretisch eine gute Anheftungsstelle für das austretende Gerinnsel aus Knochenmarkszellen und Blutzellen darstellt (Burkart et al., 2001). Der Vorteil dieser Methode gegenüber der Herdanbohrung besteht vor allem in der Vermeidung von Hitzenekrosen im angrenzenden Knorpel. Steadman konnte positive klinische Resultate vor allem hinsichtlich Schmerzlinde- rung und Funktionalität mit dieser Behandlungsmethode erzielen (Steadman et al., 2003; Steadman et al., 1997; Steadman et al., 1999). Die postoperativen Untersuchungen nach 3 und 5 Jahren ergaben bei 75% der Patienten eine verbesserte Schmerzsituation, 67% berichteten über eine Verbesserung der täglichen Aktivitäten und 65% sogar über eine Verbesserung der sportlichen Tätigkeiten. Obwohl die entstehende Gelenkoberfläche nach Mikrofrakturierung

von fibrocartilärer Natur ist, kann sie mittelfristig zu einer Verbesserung der klinischen Symptomatik führen (Marlovits und Véscei, 2000b). Auf Grund der Ausbildung eines minderwertigen Regeneratgewebes, das langfristig der mechanischen Belastung nicht standhält, wird die klinische Wertigkeit für jüngere Patienten kontrovers diskutiert (Martinek, 2003).

Ein weiterer sehr Erfolg versprechender Ansatz zur Überwindung des limitierten Heilungspotenzials geschädigter Knorpeldefekte ist in der Transplantation von intaktem Knorpelgewebe zu sehen oder in Gewebe mit chondrogenem Potenzial. In diesem Zusammenhang sollten einerseits die Gewebetransplantation von Knochen-Knorpelzylindern, von Perichondrium und andererseits die Zelltransplantation von Chondrozyten und mesenchymalen Stammzellen Erwähnung finden.

2.4.4 Autologe Osteochondrale Transplantation (AOT)

Bei dieser Technik kommen autologe Knorpel-Knochen-Zylinder aus weniger stark belasteten Arealen des Gelenkes zum Einsatz. Diese Spenderzylinder werden mittels spezieller Hohlmeißel entnommen und dann an die Stelle des zu behandelnden Knorpeldefektes in die Hauptbelastungszone transplantiert. Der feste Sitz des Zylinders wird durch die Anwendung der press-fit-Technik gewährleistet (Outerbridge et al., 1995; Martinek, 2003; Burkart et al., 2001). Der osteochondrale Transfer kann bei lokalen Knorpeldefekten einzeln oder multipel als Mosaikplastik angewendet werden (Hangody und Füles, 2003; Hangody et al., 2004; Hangody et al., 2001a; Hangody et al., 2001b; Marlovits und Véscei, 2000b). Vorteilhaft ist die sofortige Verfügbarkeit einer intakten hyalinen Knorpeloberfläche und die Transplantation von variablen Chondrozyten, die zur Aufrechterhaltung der Knorpelmatrix beitragen (Marlovits und Véscei, 2000b). Die Wiederherstellung der Gelenkskonturen und das Fehlen von immunologischen Abwehrreaktionen zählen zu weiteren Vorteilen des AOT (Outerbridge et al., 1995; Burkart et al., 2001). Ein großer Nachteil dieser Methode ist, dass der autologe Knochen-Knorpel-Zylinder, in Abhängigkeit von Defektgröße und Lokalisation, nur limitiert vorhanden ist. Das Ausbleiben einer natürlichen und vollständigen Einheilung des Knorpeltransplantates kann letztlich zu einer fortschreitenden Gewebedegenerationen beitragen (Marlovits und Véscei, 2000b). Im Bereich des spongiösen und subchondralen Knochens kann stets eine Einheilung gefunden werden (Hunziker, 2002). Ein weiteres Problem bei größeren Autografts stellt die Inkongruenz der Knorpeloberfläche dar, da die Entnahme aus einem Bereich mit anderer Oberflächenkrümmung und unterschiedlicher Belastungssituation erfolgt (Burkhart und Imhof, 1999). Als Konsequenz der mechanischen Überbelastung in dieser neu-

en Position können Degenerationserscheinungen am Transplantat auftreten (Hunziker, 2002). Letztendlich stellt die Entnahme des Spender-Zylinders ein weiteres nicht zu vernachlässigendes Trauma dar. Die Erfahrungswerte von Hangody beruhen auf zahlreichen tierexperimentellen Studien und ausgedehnten klinischen Untersuchungen (Hangody et al., 2001b). Hierbei konnten Langzeitüberlebensraten von bis zu 6 Jahren des transplantierten hyalinen Knorpels dokumentiert werden. Die histologischen Analysen bestätigten, dass die Gewebeproben zu 70 bis 80% aus hyalinem Knorpel zusammengesetzt waren. Dieses Verfahren bietet auch nach mehreren Jahren viel versprechende Resultate (Hangody und Füles, 2003). So konnte bei 65-85% der Patienten eine klare Verbesserung der Gelenkfunktion und eine deutliche Schmerzlinderung erzielt werden (Gross et al., 2002; Gross et al., 2005; Chu et al., 1999).

2.4.5 Periostallappenplastik und Perichondrium

Aus der Überlegung heraus, dass sich hyaliner Knorpel sowohl aus perichondralem als auch aus periostalen Gewebeelementen entwickeln kann, eröffnet sich die Möglichkeit, das Potenzial durch Transplantation dieser Gewebe für die Knorpelregeneration zu nutzen. O`Driscoll konnte in einer Studie an Hasenkniegelenken, die mit autologem Periostallappen versorgt wurden, nachweisen, dass sich vorwiegend hyaliner Knorpel vom Kollagentyp II gebildet hatte (O`Driscoll et al., 1988; O`Driscoll und Fitzsimmons, 2001).

Die Transplantation von autologem Perichondrium kann als Alternative aufgefasst werden, die Regeneration von Knorpeldefekten zu fördern. Im Gegensatz zum osteochondralen Transfer wird der zum Zeitpunkt der Operation nur mit Perichondrium bedeckte Defektbereich erst langsam postoperativ mit einem Reparaturgewebe, bestehend aus einer Kombination von faserigem und hyalinem Knorpel, ausgefüllt. Homminga und Ritsilä verwenden bevorzugt Perichondrium aus dem Rippenknorpelbereich unter Ausnutzung seiner biologischen Fähigkeiten, sich in hyalinen Knorpel differenzieren zu können (Homminga et al., 1991; Marlovits und Véscei, 2000b; Bruns et al., 1997a; Bruns et al. 1997b; Bruns, 1992). Unter bestimmten Bedingungen kann von den zellreichen Schichten des Perichondriums eine Synthese von Knorpelzellen erfolgen. Die Fixierung des Perichondriums in dem geschädigten Knorpelareal erfolgt unter zu Hilfenahme eines Fibrinklebers. Die direkte Umgebung des Transplantates spielt eine bedeutende Rolle bei der Differenzierung der Zellen. In dieser Tatsache begründet sich auch die große Ossifikationstendenz des Transplantates, welches durch Re- und Dedifferenzierungsvorgängen charakterisiert wird. Weitere Probleme dieses Verfahrens liegen in der mangelnden Bindung zwischen Knorpel und subchondralem Knochen. Trotzdem lassen sich

weitgehend gute Ergebnisse innerhalb der ersten zwei Jahre mit dieser Methode reproduzieren. Untersuchungen von Homminga an Schafkniegelenken zeigten, dass Perichondrium als Transplantat in der Lage ist, bevorzugt hyalinen Knorpel mit einem hohen Anteil von 74% an typischen Kollagentyp II im Transplantatgebiet zu produzieren (Homminga et al., 1991). Jedoch wiesen in einer Studie von Bouwmeester über einen Zeitraum von vier Jahren durchschnittlich lediglich 38% der Patienten ein gutes Ergebnis auf, bei 8% war das Ergebnis mäßig und bei 55% sogar schlecht. Im Bereich des Regeneratgewebes konnte bei bioptisch untersuchten Patienten größtenteils knorpelähnliches Gewebe mit einem physiologischen Aufbau nachgewiesen werden (Bouwmeester et al., 1997).

2.4.6 Autologer Chondrozytentransfer (ACT)

Eine Alternative zur Versorgung von Knorpelläsionen besteht in der Möglichkeit des autologen Chondrozytentransfers (ACT). Dieses spezifische Verfahren wurde in den 1980er Jahren als erstes von der Arbeitsgruppe von Brittberg und Peterson beschrieben, basiert auf der arthroskopischen Entnahme eines hyalinen Knorpelstückes ohne Eröffnung des subchondralen Knochens aus einem weniger belasteten Areal des Gelenkes, vorzugsweise von der Trochlea (Brittberg et al., 1994). Unter Verwendung eines speziellen Verfahrens können die darin enthaltenen Chondrozyten im Labor über mehrere Wochen in Monolayer Kultursystemen angezüchtet und vermehrt werden (Martinek, 2003; Marlovits und Véscei, 2000b; Kim und Han, 2000; Martinek und Imhof, 2003). In einer zweiten sich nun anschließenden Operation erfolgt die Darstellung des Knorpeldefektes. Voraussetzung für die Reimplantation der Zellsuspension ist ein umfassendes Debridement des Knorpeldefektes bis zum gesunden umliegenden Knorpel. Im Anschluss daran wird ein zuvor aus dem proximo-medialen Tibiaplateau entnommener Periostallappen auf die Läsion genäht und darunter die Zellsuspension injiziert. Insgesamt führt dieses Verfahren bei der Mehrheit der Patienten zu einer signifikanten Verbesserung der klinischen Symptomatik. Peterson konnte in einer Langzeitstudie in einem Zeitraum von bis zu 9 Jahren eine Erfolgsrate von 80% bei der Versorgung von Läsionen im Bereich der Femurkondylen verzeichnen (Peterson, 1996). Zu den Vorzügen des ACT im Vergleich zu anderen Verfahren sei die nachweisliche Existenz von dem Kollagentyp II und auch von hyalinartigem Regeneratgewebe erwähnt, welches mittels Biopsien gewonnen und analysiert wurde (Brittberg et al., 1994). Die Problematik der Inkongruenz der Oberfläche kann mit diesem Verfahren vermieden werden (Rudert und Wirth, 1998). Darüber hinaus wird über eine gute Verträglichkeit berichtet (Morelli et al., 2002; Brittberg et al., 1994). Allerdings

sollten der extreme finanzielle Aufwand sowie die nicht unerhebliche Belastung der zweiten Operation als prägnante Nachteile dieser Methode hier ebenfalls Erwähnung finden (Bobic und Noble, 2000). Als ein zusätzliches Problem kann die Entdifferenzierung der in Monolayer kultivierten Chondrozyten gewertet werden, die mit einem Verlust spezifischer funktioneller und biochemischer Eigenschaften einhergeht, sowie die Dedifferenzierung von Chondrozyten zu Fibroblasten (Marlovits und Véscei, 2000b). Die morphologische Erfassung und die Qualität des Reparaturgewebes weist unterschiedliche Resultate auf, die sich von hyaliner bis zu faserknorpeliger Beschaffenheit erstrecken. Die Ergebnisse experimenteller Studien geben nur eingeschränkt Antwort auf die Effektivität dieser Methode, da die Resultate variieren (Marlovits und Véscei, 2000b).

2.4.7 Tissue engineering

Moderne Techniken ermöglichen erstmals die in-vitro-Herstellung lebender Ersatzgewebe für plastisch-rekonstruktive Eingriffe. Ihr Einsatz scheint bei der Therapie osteochondraler Läsionen eine völlig neue Dimension therapeutischer Möglichkeiten zu eröffnen. Das Konzept des Tissue engineering basiert auf der Kombination von zu transplantierenden Zellen und einer biodegradierbaren Trägersubstanz als dreidimensionale Matrix (Swieszkowski et al., 2007). Als biodegradierbare Materialien eignen sich hauptsächlich Substanzen aus Fibrin, Kollagen oder Gelatine, sowie Polymere basierend auf Polylactid (PLA), Polyglycolid (PGA), Hyaluronsäure, Agarose oder Alginat. Zusätzlich kann auch der Einsatz synthetischer Polymere, wie Teflon, Carbon, Hydroxyapatit oder Polyethylmethacrylat beobachtet werden (Guo et al., 2004; Chen et al., 2004). Für die Versorgung osteochondraler Defekte finden verschiedene biodegradierbare Implantate aus PLA und PGA sowie ihren Kopolymeren Verwendung (Fan et al., 2006; Frenkel und Di Cesare, 2004; Uematsu et al. 2005; Lind et al., 2008). Die Impaktierung des Implantats erfolgt auch hier mittels press-fit-Technik im Defektbereich. Zuerst wird arthroskopisch eine Knorpelbiopsie entnommen. Anschließend werden die aus der extrazellulären Matrix enzymatisch isolierten Chondrozyten in Monolayerkulturen kultiviert (Petersen et al., 2003). Nach Abschluss der initialen Vermehrung werden die expandierten Chondrozyten in eine dreidimensionale Matrix transponiert (Kim und Han, 2000; Chen et al., 2004; Pilliar et al. 2007; Guo et al., 2004; Swieszkowski et al., 2007). Andere Projekte verwenden mesenchymale Stammzelle um die Knorpelregeneration zu fördern (Fan et al., 2006; Uematsu et al. 2005; Shao et al., 2006; Detsch et al., 2008). Das synthetische Gerüst dient dabei den Zellen zur Stabilisierung (Dorotka et al., 2005; Boyan et al., 1999; Guo et al.,

2004). Das häufig in zweidimensionalen Kulturen beobachtete Phänomen der Dedifferenzierung fällt unter der Verwendung dreidimensionaler Scaffolds geringer aus (Fan et al., 2006), wobei die Chondrozyten ihren Phänotyp und ihre Funktionalität beibehalten (Kim und Han, 2000; Haisch et al., 1996). Vorzugsweise agiert der Scaffold selbst als Substrat für die Zellen (Boyan et al., 1999) und ermöglicht ihre Proliferation ohne Dedifferenzierung (Kim und Han, 2000). Im Anschluss daran beginnen sie mit der Synthese der extrazellulären Matrixkomponenten, welche die charakteristischen Merkmale von hyalinem Knorpel aufweisen (Petersen et al., 2003). Die Anforderungen an die Materialeigenschaften sind vielfältig. Gefordert werden Biokompatibilität, Sterilität, minimale Diffusionsbarriere, ausreichende Adhärenzeigenschaften, steuerbare Degradation sowie eine gute reproduzierbare dreidimensionale Struktur und temporäre Stabilität (Rudert und Wirth, 1998; Sherwood et al., 2002; Chen et al., 2004; Woodfield et al., 2002; Freed et al., 1994; Hunziker, 2002; Guo et al., 2004; Günther et al., 1998; Hofman, 1995; Weihe et al., 2001; Lind et al., 2008; Uematsu et al., 2005; Detsch et al., 2008). Während die Initialphase der knöchernen Integration im Wesentlichen von der Oberflächenbeschaffenheit des Implantates bestimmt ist, hängt die anschließend erhoffte Durchbauung maßgeblich von der Fähigkeit ab, als Leitgerüst zu dienen (Osteokonduktion) (Günther et al., 1998; Boyan et al., 1999; Detsch et al., 2008). Entscheidenden Einfluss auf die Ansiedelung und Interaktion der Zellen hat die Porosität der Implantate, sie sollte möglichst offenporig gewählt werden (Rudert und Wirth, 1998; Hunziker, 1999; Woodfield et al., 2002; Jansson et al., 2000; Sherwood et al., 2002; Freed et al., 1994; Hunziker, 2002; Hofman, 1995; Günther et al., 1998; Liu und Ma, 2004; Jones et al., 2006). Funktional beeinflusst die Porengröße nicht nur die Steifigkeit und den internen Zusammenhalt (Kim und Han, 2000), sondern gewährleistet auch die Ernährung der Zellen und den Abtransport von Stoffwechselprodukten (Sherwood et al., 2002; Jones et al., 2006). Als vorteilhaft kann die Inkorporation von chemoaktiven Faktoren wie Integrinen in die Scaffolds gewertet werden, begleitet von einer zeitlich kontrollierten Liberation. Sie wirken modulierend auf die extrazelluläre Matrix und ermöglichen den Zellen eine gerichtete Besiedelung (Kim und Han, 2000; Weihe et al., 2001). Die enzymatische und hydrolytische Degradation der synthetischen Materialien, beeinflussbar über das Mischungsverhältnis von PLA und PGA, erfolgt durch körpereigene Stoffwechselwege (Gerlach, 2000; Claes et al., 1998). Die Degradationsrate sollte steuerbar und die Degradationsprodukte nicht zytotoxisch sein, um die Regenerationsrate des gewünschten Gewebes zu egalisieren (Rudert und Wirth, 1998; Hunziker, 2002; Gogolewski, 2000). Die Kombination verschiedener Polymere erlaubt es, die Steuerung

des Degenerationsverhaltens zu optimieren, vor allem im Hinblick auf den Steifigkeitsabfall und den Volumenabbau (Claes, 2002; Rehm et al., 1997; Freed et al., 1994). Die freiwerdenden Hydroxycarbonsäuren induzieren einen Abfall des pH-Wertes und generieren dadurch ein zelltoxisches Milieu (Weihe et al., 2001). Dies stellt die Grundlage für die häufig beobachteten Fremdkörperreaktionen während der Degradation dar (Jager et al., 2002).

2.4.8 Polylactid-glycolid-Scaffolds

Da der hyaline Knorpel kaum aus eigener Kraft zur Regeneration befähigt ist, kann es als umso erstaunlicher angesehen werden, dass undifferenzierten mesenchymalen Stammzellen die Fähigkeit zugesprochen wird, unter bestimmten mechanischen Einflüssen sich in Chondrozyten zu differenzieren und damit hyalinen Knorpel zu generieren (Jansson et al., 2000; Chen et al., 2004). Das vorherrschende Milieu wirkt sich ebenfalls modulierend auf das Differenzierungspotenzial der Knochenmarkstammzellen aus (Boyan et al., 1999). Hervorzuheben seien ihre leichte Gewinnung, ihr chondrogenes Potenzial und ihre hohe biosynthetische Aktivität (Kim und Han, 2000). Die Verwendung eines dreidimensionalen biodegradierbaren Trägerkonstruktes ermöglicht den einwandernden Zellen mit chondrogenem Potenzial die Etablierung einer knorpelähnlichen Matrix (Kim und Han, 2000; Dorotka et al., 2005; Chen et al., 2004; Fan et al., 2006). In experimentellen Studien konnte die osteo- und chondroinduktive Wirkung undifferenzierter Stammzellen nachgewiesen werden.

Polylactid-glycolid-Scaffolds weisen eine poröse dreidimensionale trabekuläre Struktur auf, wobei die Poren miteinander zu einem interkonnektierenden System verbunden sind. Dieser Aufbau gewährleistet ein optimales Einwachsen von Knorpel- und Knochenzellen sowie von Blutkapillaren, die eine schnelle Verankerung des Implantats im umliegenden Knochen bedingt (Boyan et al., 1999; Gelinsky et al., 2004; Liu und Ma, 2004). Langfristig lässt sich eine gute knöcherne Fixaktion beobachten. Die Implantation eines Scaffolds gestattet einerseits die Restauration der Gelenkoberfläche, die für die Funktionalität notwendig ist (Kim und Han, 2000), andererseits kann das einsprossende Gewebe sofort und während der Differenzierung mechanisch belastet werden (Jansson et al., 2000).

Die Ausgangsstoffe für diese resorbierbaren Polymere stellen lineare Polyester der Milch- und Glykolsäuren (Polylactid bzw. Polyglycolid) und deren Kopolymeren dar (Gerlach, 2000). Die Mikrostruktur kann sowohl amorphe als auch kristalline Bereiche aufweisen, die entscheidenden Einfluss auf die Festigkeit des Polymers haben. Eine amorphe Struktur bedingt eine niedrigere Festigkeit auf Grund ihrer ungerichteten Verzweigung der Polymerketten

(Gerlach, 2000). Kristalline Regionen sind durch eine parallel geordnete Anordnung der Polymerketten unter Ausnutzung der intramolekularen Kräfte charakterisiert und zeichnen sich durch höhere Festigkeitswerte und langsame Degradation aus (Claes et al., 1998; Helling und Weiler, 1998; Boyan et al., 1999). Die Degradationskinetiken der reinen Polymere untereinander differieren. Das hydrophobe PLA weist einen langsameren hydrolytischen Abbau auf, dokumentierbar ab dem sechsten Monat und kann unter Umständen bis zu fünf Jahren andauern (Hoffmann et al., 1997; Bergsma et al., 1995; Claes et al., 1998). Die langsame protrahierte Freisetzung ermöglicht eine adäquate Entfernung aus dem Implantatlager, ohne die Phagozytosekapazität der ansässigen Makrophagen und Granulozyten zu überfordern (Hoffmann et al., 1997). Im Gegensatz dazu beginnt die Degradation des hydrophilen PGA bereits nach 1-2 Wochen (Gerlach, 2000), und das Material verliert seine Festigkeit vollständig nach 6-8 Wochen (Claes et al., 1998; Helling und Weiler, 1998). Die Dauer der hydrolytischen Spaltung ist abhängig von der Temperatur, der Wasserverfügbarkeit, der Hydrophilie, der Oberflächengeometrie und der Zusammensetzung der Polymere, weiterhin vom pH-Wert des Implantatlagers, der Lokalisation, der Höhe des Molekulargewichts sowie der Kristallinität (Gerlach, 2000; Claes, 2002; Gogolewski, 2000). Der Abtransport der Degradationsprodukte wird vom umliegenden Gewebe bewerkstelligt, in Abhängigkeit von der Molekularstruktur und der Größe des Implantats (Pistner et al., 1993). Im Zuge der Degradation werden die Esterbindungen hydrolytisch gespalten und ermöglichen somit das permeable Konstrukt zu penetrieren (Pistner et al., 1993; Jansson et al., 2000). Die hydrolytische Spaltung von Polylactiden setzt saure Abbauprodukte, in diesem Falle Milchsäure frei, die einen Abfall des physiologischen pH-Wertes induziert (Jager et al., 2002; Boyan et al., 1999). Die niedermolekularen Abbauprodukte der auf Lactid und Glycolid basierenden Polymeren werden letztlich über den Citratzyklus vollständig zu Wasser und Kohlendioxid metabolisiert (Gerlach, 2000; Helling und Weiler, 1998; Gogolewski, 2000; Bergsma et al., 1995). Dabei weisen sie einen von zellulären bzw. enzymatischen Einwirkungen unabhängigen hydrolytischen Abbau auf, ohne dass eine Akkumulation der Abbauprodukte beobachtet werden konnte (Gerlach, 2000). Die hydrolytische Spaltung beginnt offensichtlich in den amorphen Abschnitten der Polymere, da die hochkristallinen Bereiche nur sehr schwer zugänglich sind. Solange die Polymere nicht degradieren, weisen sie eine ausgezeichnete Gewebeverträglichkeit auf. Als charakteristisch ist die Anwesenheit einer meist bindegewebigen oder knöchernen Manschette um die Implantate zu bewerten (Claes, 2002). PLA/PGA- Copolymere sind als relativ verträglich, nicht toxisch oder inflammatorisch beschrieben (Nelson et al. 1977; Hofman, 1995). Milde Fremdkör-

perreaktionen lassen sich in Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Scaffolds sowie zum Zeitpunkt der Polymerdegradation verzeichnen. Die Fremdkörperreaktionen manifestieren sich in einer massiven Anhäufung von Makrophagen, neutrophile Granulozyten, Lymphozyten und Fremdkörperriesenzellen (Böstman et al., 1990; Weiler et al., 1996; Gogolewski, 2000; Bergsma et al., 1995). Dies zeigt sich besonders deutlich bei der Verwendung von PGA. Provoziert werden sie durch autokatalytische Reaktionen im Inneren der Implantate, die zu einer Freisetzung von Monomeren und einer deutlichen Absenkung des pH-Wertes in der Umgebung führen (Daniels et al., 1992; Bergsam et al., 1993; Weiler et al., 1996; Jager et al., 2002). Mit verantwortlich für einen nicht ausreichend schnellen Abtransport der Degradationsprodukte und eine damit verbundene verstärkte lokale Akkumulation dieser, liegt in der bindegewebigen oder knöchernen Umscheidung begründet (Helling und Weiler, 1998). Diese Tatsache fördert ebenfalls die Etablierung einer entzündlichen Reaktion (Claes, 2002; Hoffmann et al., 1997; Böstman et al., 1990). Teilweise bedingt dieses zelltoxische Milieu eine Vielzahl von entzündlichen Gewebereaktionen, die sich in Schmerzen, Schwellungen, Synovialitis und aseptischen Fisteln oder Osteolysen manifestieren (Claes, 2002; Gerlach, 2000; Weiler et al., 1996; Helling und Weiler, 1998). Für den Heilungsfortschritt ist es wünschenswert, mit zunehmender Differenzierung des heilenden Gewebes wachsende mechanische Beanspruchung auf das Heilungsgebiet zu übertragen, um den Heilungsprozess zu dynamisieren (Claes, 2002; Rehm et al., 1997; Bergsma et al., 1995; Woodfield et al., 2002). Vor diesem Hintergrund ist das Bestreben der aktuellen Forschung, Scaffolds mit einem zweischichtigen Aufbau zu designen, welche mit einer speziellen Architektur der Knochen- und Knorpelregion ausgestattet sind, die den einwachsenden Zellen optimale Bedingungen hinsichtlich Porosität, mechanischer Festigkeit und Degradationskinetik bieten (Jansson et al., 2000; Sherwood et al., 2002; Woodfield et al., 2002; Ameer et al., 2002; Fan et al., 2006; Kelly und Prendergast, 2006; Shao et al., 2006; Frenkel et al., 2005). Parallel zu der schnell fortschreitenden Degradation verlieren PGA-Implantate auch innerhalb von sechs Wochen ihre Festigkeit, so dass die mechanische Stabilität langfristig von dem neu synthetisierten Gewebe getragen werden muss (Jansson et al., 2000; Sherwood et al., 2002; Bergsma et al., 1995; Swieszkowski et al., 2007). Biodegradierbare Polymere verformen sich unter konstanter mechanischer Last irreversibel oder erfahren unter konstanter Verformung einen Abfall der applizierten Kräfte oder Spannung (Relaxation). Die Ursache hierfür ist in der reduzierten Zug- und Biegefestigkeit und des verminderten Elastizitätsmoduls zu suchen (Gerlach, 2000; Claes et al., 1998).

3 Material und Methoden

Im Rahmen einer tierexperimentellen Studie wurden standardisierte osteochondrale Defekte in die mediale bzw. laterale Femurkondyle des linken Kniegelenkes von Merino-Mix Schafen gesetzt. Eine Defektauffüllung erfolgte unter Verwendung von Poly-D,L-Lactid-Implantaten unterschiedlicher Steifigkeit. Der andere Defekt diente zur Kontrolle und blieb unversorgt. Nach einer Standzeit von drei bzw. sechs Monaten wurde ein deskriptiver Vergleich hinsichtlich der Heilungsverläufe und der Regeneration osteochondraler Defekte in Abhängigkeit von der Steifigkeit der Poly-D,L-Lactid-Implantate festgehalten.

3.1 Tiermodell und Haltung

Für diesen Versuch wurden 24 weibliche güste Merino-Mix-Schafe ausgewählt, die zum Zeitpunkt des Versuchsbeginn 2 ½ Jahre alt waren. Dabei handelte es sich um vier Versuchsgruppen mit jeweils sechs Tieren zu je zwei Standzeiten von drei und sechs Monaten. In einer eingehenden tierärztlichen Untersuchung wurde den Tieren ein guter Gesundheitszustand attestiert bevor sie in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité, Campus Virchow-Klinikum, eingestellt wurden. Dort wurde das jeweilige Gewicht ermittelt. Im Weiteren erhielten die Tiere eine präventive Behandlung gegen Ekto- und Endoparasiten mit dem Präparat Ivomec® (Ivermectin, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland).

3.1.1 Tierhaltung

Während der gesamten Versuchsdauer erfolgte die Unterbringung der Tiere nach geltendem Tierschutzrecht artgerecht in Gruppenhaltung in der tierexperimentellen Abteilung (Abb. 3). Die Genehmigung für dieses Forschungsprojekt wurde durch das Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit als zuständige Behörde mit Sitz in Berlin erteilt (Genehmigungsnummer G 037/04). Der Stallboden war mit Stroh und Holzspänen eingestreut, zwei Mal wöchentlich wurde der Stall gesäubert und frisch eingestreut. Als Grundfutter wurden die Schafe morgens und abends mit Heu gefüttert, Wasser stand ihnen ad libitum über Selbsttränken zur Verfügung. Diese wurden täglich gereinigt und auf ihre Funktionalität geprüft. Kraftfutter erhielten nur Tiere mit einer Standzeit von sechs Monaten zu Trainingszwecken präoperativ und postoperativ während der durchgeführten Messung der Bodenreaktionskraft. Die Frischluftzufuhr und die Klimatisierung des Raumes regelte eine Klimaanlage. Durch die Fenster fiel in den Sommermonaten genügend Tageslicht, in den Wintermo-

naten wurde der natürliche Tag-Nacht-Rhythmus über eine integrierte Lichtanlage gesteuert. Für alle Tiere der Versuchsgruppen herrschten die gleichen Haltungsbedingungen.

Abb. 3: Tierhaltung



3.2 Versuchsanordnung

Die Schafe wurden zufällig vor Versuchsbeginn ausgewählt und in vier Gruppen zu jeweils sechs Tieren eingeteilt (Tab. 1). In den Gruppen I und III wurden die gesetzten Defekte mit einem weichen Poly-D,L-Lactid-Scaffold (PolyGraft, OsteoBiologics Inc, San Antonio, Texas) versorgt. Die Versorgung mittels eines harten Poly-D,L-Lactid-Scaffolds (PolyGraft, OsteoBiologics Inc, San Antonio, Texas) kam bei den Gruppen II und IV zum Einsatz, die Standzeiten betragen jeweils drei und sechs Monate.

Es wurden randomisiert osteochondrale Defekte in den lasttragenden Bereich der medialen und lateralen Femurkondyle des linken Kniegelenkes gesetzt. Hierbei galt ein standardisierter osteochondraler Defekt mit 8,4 mm Durchmesser und einer Tiefe von 10 mm mit Eröffnung des subchondralen Knochens als Referenzdefekt.

Auf der Gegenseite wurde ein Defekt mit 7,4 mm im Durchmesser bei gleicher Tiefe gesetzt und mit einem Poly-D,L-Lactid-Scaffold versorgt. Die Auffüllung erfolgte bis auf Höhe der subchondralen Lamelle.

Tab. 1: Darstellung der Gruppengrößen, der verwendeten Implantate und der Standzeit

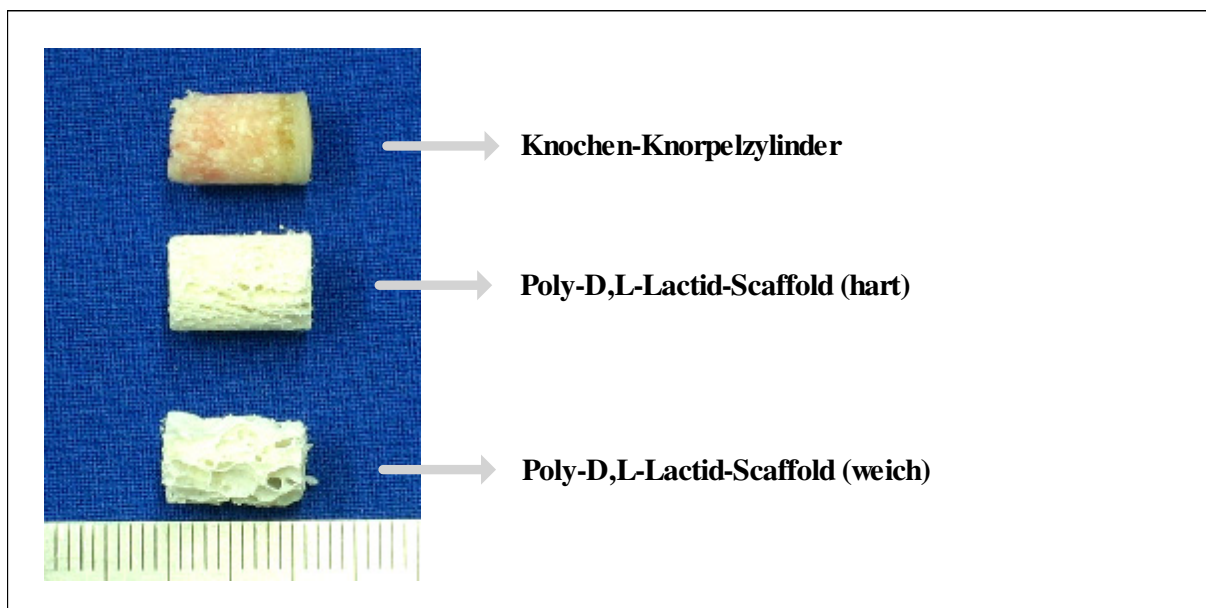
Gruppe	Implantat	Standzeit
I n = 6	weiche Poly-D,L-Lactid-Scaffold-Füllung (55% native Steifigkeit)	drei Monate
II n = 6	harte Poly-D,L-Lactid-Scaffold-Füllung (85% native Steifigkeit)	drei Monate
III n = 6	weiche Poly-D,L-Lactid-Scaffold-Füllung (55% native Steifigkeit)	sechs Monate
IV n = 6	harte Poly-D,L-Lactid-Scaffold-Füllung (85% native Steifigkeit)	sechs Monate

Die in dieser Studie verwendeten synthetischen Poly-D,L-Lactid-Implantate waren zylindrisch, mit einer Implantatlänge von 10 mm und einem Durchmesser von 7,45 mm. Die biodegradierbaren Trägerkonstrukte wiesen miteinander zu einem interkonnektierenden System verbundene Poren auf. Unterschiede ließen sich zwischen den beiden Poly-D,L-Lactid-Implantaten im Hinblick auf ihre initiale Steifigkeit verzeichnen, begründet in Variationen des mengenmäßigen Anteils der beiden Hauptkomponenten Polylactid und Polyglycolid und in ihrem makroskopischen Erscheinungsbild. Detaillierte Aufschlüsselungen der Mischungsverhältnisse wurden aus firmenpolitischen Gründen nicht preisgegeben (PolyGraft, OsteoBiologics Inc, San Antonio, Texas). Auf Grund der verschiedenen Eigenschaften der reinen Polymere kann bezüglich der Zusammensetzung nur spekuliert werden. Die Implantate der Gruppe Polyweich mit einer Steifigkeit von 55% weisen einen höheren Anteil an PGA mit amorpher Struktur auf, verglichen mit der Gruppe Polyhart, während in dieser Gruppe der Anteil an PLA dominiert und dadurch eine höhere Steifigkeit erreicht wird. Die Mikrostruktur des Polylactids mit seinen kristallinen Regionen ist verantwortlich für die höhere Festigkeit und die langsame Degeneration. Die Wahl der Porosität nahm ebenfalls Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften der Implantate. In Anlehnung an die native Steifigkeit des Knochens ließen sich letztlich für die weichen Poly-D,L-Lactid-Implantate eine Steifigkeit von 55% verbuchen. Im Falle der harten Poly-D,L-Lactid-Implantate konnte eine Steifigkeit von 85% erreicht werden.

Die folgende Abbildung (Abb.4) zeigt die optischen Unterschiede zwischen einem nativen autologen Knochen-Knorpel-Zylinder und den beiden synthetischen Poly-D,L-Lactid-Implantaten. In beiden Implantaten wirkt die Oberfläche rau, offenporig, inhomogen und un-

regelmäßig. Die Struktur der harten Poly-D,L-Lactid-Implantate erscheint, im Vergleich zu den weichen Poly-D,L-Lactid-Implantaten wesentlich kompakter, bedingt durch den gering gewählten Porendurchmesser. Außerdem lassen sie eine trabekuläre Ausrichtung in Längsrichtung erkennen. In Bezug auf ihre trabekuläre Ausrichtung erwecken die weichen Implantate einen eher unorientierten Eindruck. Dieses Erscheinungsbild wird maßgeblich von vorherrschenden unregelmäßig großen Poren geprägt, die grundsätzlich zu einer Auflockerung der Struktur führen.

Abb. 4: Optische Gegenüberstellung zwischen einem nativen Knochen-Knorpel-Zylinder und den beiden synthetischen Implantaten



3.3 Operationsvorbereitung

Vor dem Eingriff wurden die Tiere einer 12-stündigen Nahrungskarenz unterzogen, Wasser stand weiterhin ad libitum zur Verfügung. Präoperativ wurde das Gewicht ermittelt. Im Anschluss daran folgte eine Fixierung des Tieres, um einen venösen Zugang in der V. cephalica antebrachii legen zu können. Über den Venenverweilkatheter wurde dem Schaf die Injektionsnarkose mit Thiopental-Natrium (Trapanal®, Altana Pharma, Konstanz, Deutschland) intravenös bis zum Erreichen der Intubationsfähigkeit unter ständiger Kontrolle der Vitalfunktionen und Reflexe infundiert. Auf einer Trage wurde das Tier in den Operationsvorbereitungsraum gebracht. Dort erfolgte am sedierten Tier unter zu Hilfenahme eines Laryngoskopes die Intubation mit einem Endotracheltubus (Ø 9 mm). Dieser wurde hinter dem Kehlkopf als Schutz vor Aspiration geblockt und mittels Klebeband an der Maulspalte fixiert. Zeitgleich wurde das Tier an ein Beatmungsgerät (Sulla 800V, Capnolog, Drägerwerk AG, Lübeck,

Deutschland) angeschlossen und mit einem Gemisch aus Isofluran (Forene®, Abbot GmbH, Wiesbaden, Deutschland), Lachgas und Sauerstoff beatmet. Die Isofluran-Konzentration belief sich auf 1,5 Vol %, das Verhältnis Lachgas zu Sauerstoff lag bei 40 Vol % zu 60 Vol %. Entsprechend dem respiratorischen CO₂-Wert (39-40 mmHg) betrug die Beatmungsfrequenz zwölf Atemzüge pro Minute. Das Atemzugvolumen, abhängig vom jeweiligen Gewicht, variierte zwischen fünf und acht Litern pro Minute. Über einen Kontrollmonitor konnten permanent die Sauerstoffsättigung und der CO₂-Gehalt überwacht werden.

Anschließend wurde eine Magenschlundsonde (Ø 14 mm, Rüschi, Kern, Deutschland) gelegt, um einer Pansentympanie vorzubeugen. Zum Schutz der Augen vor Austrocknung wurde Bepanthen-Augensalbe (Panthenol-Augensalbe, Jenapharm®, Jena, Deutschland) aufgetragen.

Nach Abschluss der Narkosevorbereitung erfolgte die weitere Vorbereitung auf den operativen Eingriff. Dazu wurde das Tier in Rückenlage gebracht und die linke Hintergliedmaße ausgehend von der Fessel bis zur Hüfte geschoren, gereinigt und gewaschen. Zuvor wurde eine 20 cm x 15 cm große Fläche im hinteren Rückenbereich frei geschoren, um eine optimale Platzierung und Funktionalität der Kautermatte zu erzielen. Alle vier Klauen wurden mit Polstermaterial und Mullbinden umwickelt, um Kontaminationen zu vermeiden.

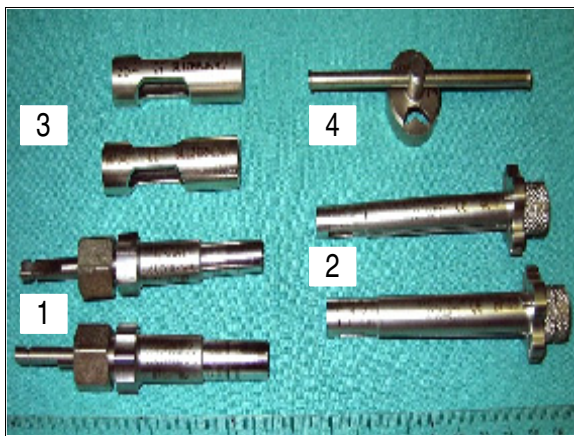
Unmittelbar daran schloss sich die Befestigung der EKG-Elektroden, jeweils oberhalb der Fesselgelenke an beiden Vorderbeinen und an der rechten Hintergliedmaße, an. Somit war eine kontinuierliche Überprüfung der Herzfrequenz und des Herzrhythmus gegeben. Nach dem Transport in den Operationssaal wurde das Schaf erneut an das Narkosegerät (Isofluran Vaporizer 711, Servo Ventilator, Siemens AG, Karlsruhe, Deutschland) angeschlossen und die vorigen Einstellungen übernommen. Zusätzlich dokumentierte eine angebrachte Klemme am Ohr die Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut. Ein hinzu geschalteter Kapnograph vervollständigte die permanente Überwachung der Vitalfunktionen. Perioperativ wurde ein in 100 ml Aqua destillata gelöstes Antibiotikum (Augmentan 2,2 g, SmithKline Beecham, München, Deutschland) als Sturzinfusion infundiert sowie 1000 ml Elektrolytlösung (Elektrolyt-Infusionslösung, Chemie AG, Berlin, Deutschland) als Dauertropfinfusion. Abschließend wurde das Tier mit sterilen Tüchern abgedeckt, ausgenommen die linke Hintergliedmaße. Das Operationsfeld wurde komplett mit Jodpolyvidonlösung (Braunol®, B. Braun, Melsungen, Deutschland) desinfiziert und chirurgisch vorbereitet.

3.4 Operation

Der Zugang wurde medial am linken Kniegelenk gewählt. Nach einer sechs Zentimeter langen parapatellaren Hautinzision wurden vorsichtig subkutanes Bindegewebe und die dortigen Muskelfazien (Fascia genu, Fascia lata) durchtrennt. Zur besseren Übersicht wurde umliegendes Gewebe aus dem Operationsfeld mit Hilfe von Wundhaken zurückgehalten. Die Präparation der Gelenkkapsel wurde unter Verwendung einer Metzenbaum-Präparierschere und eines Kauters durchgeführt. Anschließend erfolgte eine Längseröffnung der Gelenkkapsel medial der Patella, sowie die Luxation der Patella nach lateral. Die maximale Flexion im Kniegelenk, die während der gesamten Operation beibehalten wurde, ermöglichte einen optimalen Einblick in das eröffnete Kniegelenk. In dieser Position war es möglich, nach Teilresektion des patellären Fettkörpers die Femurkondylen übersichtlich darzustellen. Nun wurde unter Berücksichtigung der Oberflächenkrümmung des Gelenkknorpels der jeweiligen medialen oder lateralen Femurkondyle der Bereich für den osteochondralen Defekt bestimmt. Die größere der beiden Hohlfräsen (Einwegfräse, Zimmer GmbH, Winterthur, Schweiz) (Abb.5) wurde zunächst leicht in den Knorpel eingedrückt. Der Durchmesser des osteochondralen Defektes belief sich auf 8,4 mm. Unter Beibehaltung der Position wurde nun mittels einer druckluftbetriebenen Pistole ein 10 mm tiefes Loch in die subchondrale Knochenlamelle gefräst (Abb. 6). Um Hitzenekrosen zu vermeiden, geschah dies unter ständiger Spülung mit steriler Kochsalzlösung. Nach Entnahme des Knorpel-Knochen-Zylinders (Abb. 7) wurden kleine Knochenfragmente aus dem Bohrloch entfernt und der Defektboden sorgfältig mit einem Stößel geglättet. Die Defektränder wurden sorgfältig mit einer Skalpellklinge begradigt und geglättet. Auf diese Weise entstand ein als Leerdefekt (LD) zu definierender Defekt, der nicht weiter versorgt wurde (Abb. 10). Auf der gegenüberliegenden Kondyle wurde bei gleicher Prozedur unter Verwendung einer kleineren Hohlfräse (Einwegfräse, Zimmer GmbH, Winterthur, Schweiz) (Abb. 5) ein osteochondraler Defekt mit einem Durchmesser von 7,4 mm gesetzt. Je nach Versuchsgruppe wurde der vorliegende Defekt mit einem weichen oder harten Poly-D,L-Lactid-Scaffold unter Anwendung der press-fit-Technik versorgt. Das Prinzip dieser Methode basiert auf einer alleinigen Fixierung durch das Implantat, welches einen größeren Durchmesser als das bestehende Bohrloch aufweist. Das sterile, resorbierbare Implantat wurde dem entnommenen Knorpel-Knochen-Zylinder mit Hilfe einer Lüerzange in Bezug auf Länge und Oberflächenkonvexität angepasst. Der in einer Führungsschiene platzierte Poly-D,L-Lactid-Scaffold wurde unter leichten Hammerschlägen in den Defekt gedrückt (Abb. 8). Dabei sollte die Oberfläche des Implantats mit der subchondralen Lamelle abschließen (Abb.

9). Im Anschluss daran wurde das Gelenk mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gespült, bis sämtliche Blutkoagula entfernt waren. Nach Reluxierung der Patella wurde die Gelenkkapsel mit resorbierbaren Vicryl (Ethicon, Johnson-Johnson, Stevens, Belgien) mit Hilfe von Einzelheften verschlossen. Die Unterhaut wurde ebenfalls mit resorbierbarem Nahtmaterial (Ethicon, Johnson-Johnson, Stevens, Belgien) und Einzelheften verschlossen. Zuletzt wurde die Hautinzision mit nicht resorbierbarem Merselenefaden (Ethicon, Johnson-Johnson, Stevens, Belgien) mit Knopfheften verschlossen. Die Operationswunde wurde mit einem sterilen 10 cm langen Pflaster (Fixomull® Strech, BSN Medical GmbH & Co KG, Hamburg, Deutschland) abgedeckt.

Abb. 5: Operationsbesteck

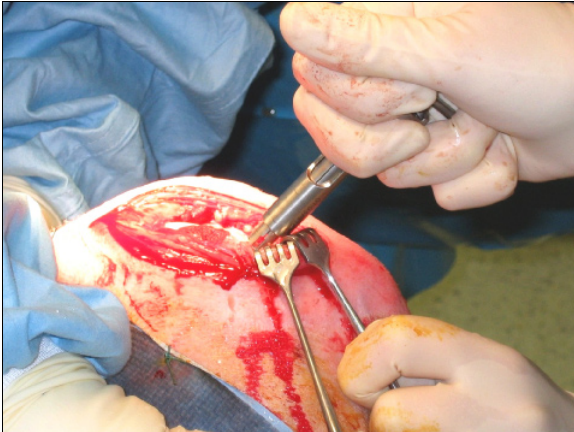


Bestehend aus großer und kleiner Hohlfräse (1), Entnahmehilfen (2) zur Entnahme der Zylinder mit dazugehörigen Stabilisierungsmanschetten (3) und Drehhilfe (4)

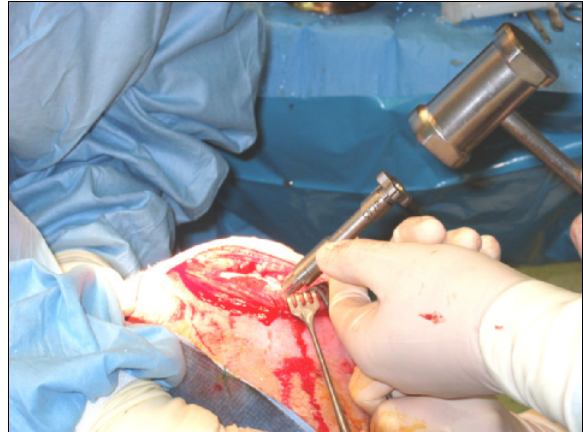
Abb. 6: Bohrung eines osteochondralen Defektes



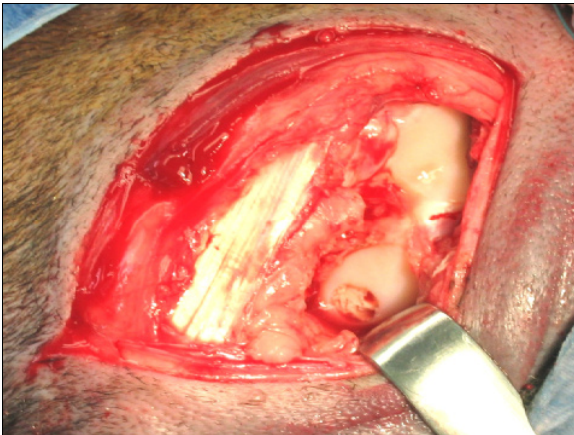
Bohrung des 10 mm tiefen Defektes, rechtwinklig zur Gelenkoberfläche

Abb. 7: Zylinderentnahme

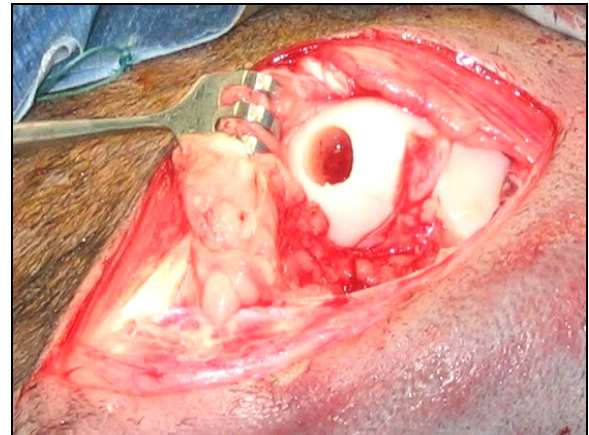
Entnahme des Knochen-Knorpel-Zylinders mittels Entnahmehilfe

Abb. 8: Einsetzen des Scaffolds

Implantation des Scaffolds mit Hilfe der Stabilisierungsmanschette

Abb. 9: Füllung

Laterale Femurkondyle nach Versorgung mit einem Scaffold bis auf das Niveau der subchondralen Knochenlamelle (\varnothing 7,4 mm)

Abb. 10: Leerdefekt

Mediale Femurkondyle nach Setzen des Defektes, dieser bleibt unversorgt (\varnothing 8,4 mm)

3.5 Postoperative Versorgung

Jedes Tier bekam zur postoperativen Analgesie auf die mediale Oberschenkelhaut ein Fentanylpflaster (Durogesic 75 $\mu\text{g}/\text{h}$, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) aufgeklebt. Dies gab transdermal kontinuierlich 75 μg Fentanyl pro Stunde ab und wurde für die Dauer von drei Tagen auf der Haut belassen. Sobald die Tiere selbstständig atmeten, wurden sie in ihre gewohnte Umgebung gebracht, dort extubiert und solange intensiv überwacht, bis sie sicher stehen konnten. Individuell dauerte das Abfluten der Narkose zwischen 30 Minuten und mehreren Stunden. Direkt nach dem Erwachen standen den Tieren Wasser und Futter ad libitum zur Verfügung. Alle Schafe erholten sich ohne Komplikationen von der Operation.

Das Allgemeinbefinden wurde täglich postoperativ kontrolliert und Lahmheitsuntersuchungen unter Sichtkontrolle durchgeführt. Primäres Ziel der Nachsorge war die Kontrolle des allge-

meinen Gesundheitszustandes der Schafe insbesondere auf den Zustand der operierten Gliedmaße bezogen. Erhöhte Aufmerksamkeit galt Entzündungserscheinungen und verstärkter Lahmheit. Sichtbar lahm zeigten sich die Tiere unmittelbar nach und einige Tage nach der Operation. Das Gangbild verbesserte sich aber signifikant innerhalb der folgenden Tage. Eine vollständige Schonung der operierten Gliedmaße über einen längeren Zeitraum war nicht zu verzeichnen. Die Fäden der Wundnaht wurden 10 Tage post operationem entfernt.

Der weitere Heilungsverlauf wurde anfänglich wöchentlich und später in monatlichen Routineuntersuchungen dokumentiert, dazu zählten auch regelmäßige Gewichtskontrollen.

3.6 Messung der Bodenreaktionskraft

Für die Messung der Bodenreaktionskraft wurden jeweils die sechs Tiere aus den Gruppen III und IV mit einer Standzeit von sechs Monaten herangezogen. Die Messungen wurden zunächst präoperativ, drei Tage nach der Operation und später in der 1., 2., 3., 4., 8., 12., 16., 20. und 24. Woche durchgeführt. Die durchgeführten Bodenreaktionsmessungen orientierten sich an einem standardisierten Protokoll (Kleemann et al., 2007). Vor Versuchsbeginn wurden diese Schafe speziell darauf trainiert, über einen fünf Meter langen hölzernen Laufsteg hinter der Untersucherin freiwillig herzulaufen. In den Laufsteg war eine Messplattform (emed® system novel GmbH, München, Deutschland), die mit einem Computer verbunden war, eingelassen. Eine drei mm starke Gummimatte bedeckte sowohl die Plattform als auch den Laufsteg (Abb. 11).

Um die Trainingseinheiten und die späteren Messungen für die Schafe attraktiver zu gestalten, bekamen sie zusätzlich Kraftfutter als Belohnung angeboten. Das Tempo und die damit verbundene Schrittlänge konnte individuell von den Tieren selbst gewählt werden.

Die Messungen der Bodenreaktionskraft dienten der Evaluation des Gangmusters, somit war es möglich, die dynamischen Druckverteilungen während eines Gangzyklus darzustellen.

Ein Messzyklus umfasste jeweils die Dokumentation von acht einzelnen Klauenabdrücken jeder Gliedmaße. Deren anschließende Auswertung erfolgte mit Hilfe der entsprechenden Software novel-win 7.9 (emed® system novel GmbH, München, Deutschland). Besondere Beachtung in der späteren Analyse fanden die Parameter der Bodenreaktionskraft, der Kontaktzeit und der Kontaktfläche unter Berücksichtigung des aktuell ermittelten Gewichtes zu jeder Messung.

Als Bezugswert wurde die präoperative Messung für das jeweilige Bein definiert und mit der Statistiksoftware SPSS 14 (SPSS 14, Windows Inc, Chicago, Illinios) analysiert. Die subjektiven Betrachtungen der Untersucherin hinsichtlich des Bewegungs- und Allgemeinverhaltens des Tieres flossen ebenfalls mit in die Untersuchung ein.

Abb. 11: Messung der Bodenreaktionskraft



Das Schaf läuft hinter der Untersucherin her. Dabei fußt das Tier mit der rechten vorderen Gliedmaße auf die unter der Gummimatte eingelassene Messplattform, die durch Klebestreifen markiert wurde.

3.7 Gewinnung und Aufbereitung der Präparate

3.7.1 Euthanasie der Tiere

Nach Ablauf der Standzeiten von drei bzw. sechs Monaten erfolgte die Euthanasie der Tiere. Hierbei wurden die Tiere mit je 2,5 g Thiopental- Natrium narkotisiert und erhielten unmittelbar danach bis zum Eintritt des Todes 100 ml einer 7,5 prozentigen Kaliumchloridlösung (Fresenius Kabi GmbH, Bad Homburg, Deutschland) intravenös. Der induzierte Herzstillstand wurde auskultatorisch überprüft.

Die Präparation und Gewinnung der Oberschenkelknochen geschah unmittelbar nach der Tötung für das rechte und linke Hinterbein identisch. Beide Hintergliedmaßen wurden vom Rumpf abgesetzt. Als nächstes erfolgte nach der Häutung der Hintergliedmaßen die Entnahme der beiden Oberschenkelknochen. Anschließend wurden die Knochen vom angrenzenden Bindegewebe und der Muskulatur befreit. Dem schloss sich die Eröffnung und Durchtrennung

des Kniegelenkes an. Die Femurkondylen wurden, unter Schonung des Gelenkknorpels, vorsichtig von Band- und Geweberesten frei präpariert. Die Präparate wurden für die weitere Aufbereitung in einer isotonischen Natriumchloridlösung aufbewahrt und so vor der Austrocknung geschützt. Noch im Sektionsraum wurden die Präparate direkt nach der Entnahme makroskopisch begutachtet und photographisch dokumentiert.

3.7.2 Sägen der Präparate

Die Präparate wurden mit Hilfe des Makro-Trennschleifsystems (Firma Exakt Apperatebau GmbH, Norderstedt, Deutschland) gewonnen und erfolgten unabhängig von der Versorgung für alle Präparate nach dem gleichem Prinzip. Während der gesamten Sägearbeiten wurde das Sägeblatt einer kontinuierlichen Wasserkühlung unterzogen, um thermische Schädigungen der Präparate zu verhindern.

Zuerst wurde der Tibiaschaft auf halber Länge manuell mit einer Handsäge durchtrennt. Anschließend konnte das distale Knochenende so in eine Einspannvorrichtung fixiert werden, dass die Knorpeldefekte senkrecht und in einem Winkel von 90° zum Sägeblatt zeigten. Die Einspannvorrichtung wurde mit dem flexiblen Schlitten des Trennschleifsystems, welches Seitwärtsverschiebung im Millimeterbereich erlaubte, fest verschraubt. Dies ermöglichte eine optimale Positionierung des Präparates, wobei das Sägeblatt parallel zum lateralen Rollkamm ausgerichtet war.

Nach der korrekten Ausrichtung wurde jeweils parallel medial und lateral vom Leerdefekt und versorgten Defekt in kraniokaudaler Richtung zwischen den Kondylen gesägt, dies galt natürlich auch für die nativen Präparate. Die Lösung der einzelnen Scheiben aus dem distalen Ende des Femurs gelang durch einen Transversalschnitt, dies erforderte zuvor eine Drehung des Knochens um 90° (Abb. 12). Zwei weitere Sägevorgänge, jeweils oberhalb und unterhalb der Defekte, waren nötig, um das Gefüge letztendlich zu lösen. In einem letzten Schnitt wurden die einzelnen Präparate direkt in der Defektmitte durchtrennt (Abb. 13). Die so gewonnenen Präparate wiesen in ihrer Mitte den entsprechenden Defekt auf, daran schloss sich in die Peripherie ziehend intakter Gelenkknorpel mit einem Sicherheitsabstand von 4 mm an (Abb.14). Zur Orientierung und Rekonstruktion des Bohrganges dienten angefertigte Röntgen- und MRT-Aufnahmen. Nach der photographischen Dokumentation wurden die Präparate für die weitere Probenaufbearbeitung in Tissue Uni-Kassetten (Tissue III Tec®, Sacura Finetek BV, Niederlande) gelegt und beschriftet.

Abb. 12: Darstellung der beiden Femurkondylen der rechten unbehandelten Gliedmaße nach den einzelnen Sägeschnitten

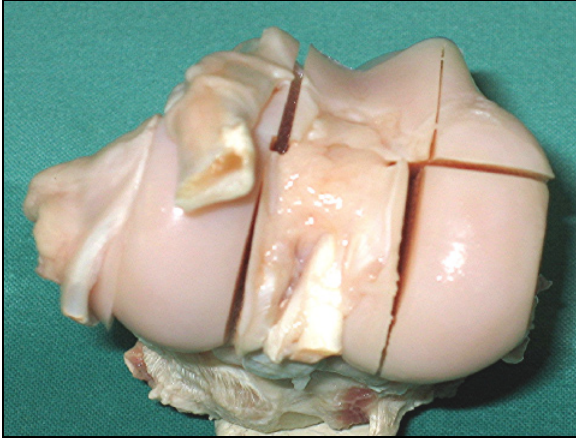


Abb. 13: Durchtrennung der Femurkondyle direkt in der Defektmittle, Aufsicht auf die regenerierte Gelenkfläche nach sechs Monaten Standzeit

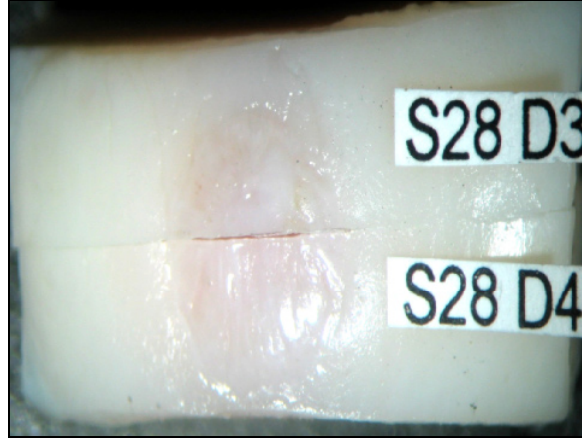
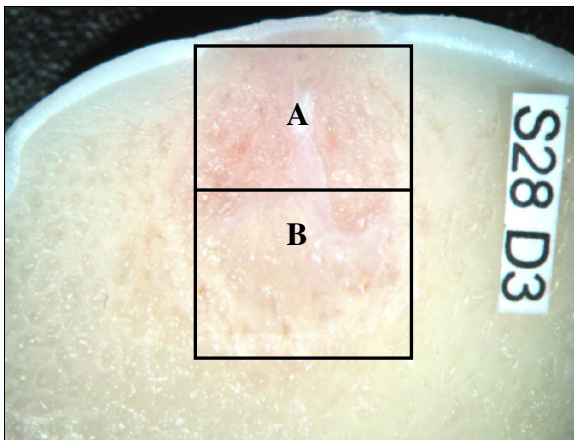


Abb. 14: Schnittfläche eines gesägten Präparates
In der Mitte ist der gesetzte Defekt (ROI A und B) zu erkennen, versorgt mit einem Scaffold (hart). Standzeit sechs Monate, Füllung



3.8 Histologische Aufbereitung der Präparate

3.8.1 Fixation der Präparate

Unmittelbar nach der Entnahme ist eine schnelle Fixation der gewonnenen Präparate erforderlich, um eventuell einsetzende Autolyse bzw. Heterolyseprozesse zu verhindern.

Die Fixation erfolgte hierbei direkt nach dem Sägen für den Zeitraum von sieben Tagen in einer neutralen isotonen Formaldehyd-Alkohol-Lösung, die wie folgt zusammengesetzt war: 324 ml 37 %iges Formaldehyd, 550 ml 100 %iges Ethanol, 130 ml 0,1 molarer Barbitol-Natrium-Puffer mit pH- Wert von 7,3 und 6 g Glukose. Um alle Formalinrückstände zu entfernen, wurden die Proben für die anschließende Weiterverarbeitung eine halbe Stunde unter fließendem Leitungswasser gewässert.

Danach wurden die fixierten Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert. Entscheidend war, dass die Präparate vollständig mit Alkohol während der gesamten Prozedur bedeckt waren. Die Platzierung der Präparatgläser auf einem Schüttler (KIKA Labortechnik HS501 Digital, Staufen; Deutschland) ermöglichte eine optimale Infiltration. Durch die kontinuierlichen Bewegungen wurde ein gleichmäßiges Durchdringen und Benetzen der Präparate mit Ethanol gewährleistet. Dem Entwässerungsprozess folgte zur Entfettung der Präparate die Einbettung in Xylol für 24 Stunden (Baker 7400 AA, Deventer, Holland). Dies galt als Vorbereitung auf die nachfolgende Kunststoffeinbettung.

3.8.2 Einbettung der Präparate

Bei dem in dieser Studie verwendeten Einbettmedium für die Hartschnitt-Technik handelte es sich um einen kalt polymerisierenden Kunststoff auf Methylmethacrylatbasis für histologische Untersuchungen von mineralisiertem Gewebe (Technovit 9100 neu, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland). Eine optimale Infiltration der Präparate mit diesem Kunststoff setzte ein zweimaliges Präinfiltrieren vor der eigentlichen Einbettung voraus. Die Herstellung und der Gebrauch der fertigen Gebrauchslösungen (Präinfiltrationslösung, Infiltrationslösung und Polymerisationsgemisch) erfolgten entsprechend den Herstellerangaben.

Die entwässerten und entfetteten Präparate wurden für 14 Tage bei Raumtemperatur in die Präinfiltrationslösung gelegt. Darauf folgte eine weitere 14-tägige Phase in der Infiltrationslösung bei 4° C im Kühlschrank, um ein Aushärten des Kunststoffes zu verhindern. Diese Prozedur führte dazu, dass der Kunststoff die Präparate vollständig durchtränkte. Für die Herstel-

lung des Einbettmediums (Technovit 9100 neu, Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) wurden die Stammlösungen A (Basislösung, PMMA-Pulver und Härter) und Stammlösungen B (Basislösung und Polymerisationsregler) im Volumenverhältnis 9 zu 1 gemischt. Der Aushärtungsprozess setzte sofort nach der Mischung beider Komponenten ein, daher durfte das Polymerisationsgemisch erst unmittelbar vor dem Gebrauch angesetzt werden. Die eigentliche Einbettung erfolgte in luftdicht verschließbaren Kunststoffgefäßen entsprechend der Präparatgröße. Dazu wurden zuvor die Knorpel-Knochen-Scheiben aus ihren Unikassetten entnommen und mit der anzuschneidenden Seite einzeln auf den Boden der Einbettform gelegt. Darauf wurde möglichst blasenfrei das visköse Polymerisationsgemisch gegossen, bis das Präparat vollständig bedeckt war. Um eine genaue Identifikation der Präparate zu gewährleisten, wurde vor dem Deckelverschluss ein beschrifteter Papierstreifen in die Einbettform gelegt. Ein optimales Aushärtungsergebnis wurde erzielt, indem die luftdicht verschlossenen Formen für 24 Stunden in einem Eisbad heruntergekühlt wurden. Nach erfolgreicher Auspolymerisation des Kunststoffes konnten die Präparate aus den Einbettformen entnommen werden.

3.8.3 Anfertigen der histologischen Präparate

Die in Methylmethacrylat eingebetteten Präparate wurden zunächst mit einer Tischschleifmaschine (Phoenix 3000, Jean Wirtz GmbH, Düsseldorf, Deutschland) in eine rechteckige Form geschliffen. Im Anschluss daran wurden die Rückseite der Präparate mit ca. 2 cm Technovit 3040 (Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) überschichtet und erneut in Form geschliffen, so dass sie optimal in das Mikrotom eingespannt werden konnten. Mit Hilfe des Hartschnittmikrotoms (Leica SM 2500S, Bensheim, Deutschland) und einem 16 cm langen Hartmetallmesser (Messerwinkel 40°) wurden unter ständiger Benetzung des Messers und des Präparatblockes 6 µm dicke Serienschnitte angefertigt. Die einzelnen Schnitte wurden auf beschrifteten Objektträgern (75x50 mm Superior, Marienfeld, Laboratory Glassware, EU) analog dem Präparat aufgetragen, wodurch eine spätere genaue Zuordnung möglich wurde. Unmittelbar daran erfolgte eine Behandlung der Schnitte mit Streckflüssigkeit, die eine Streckung und Entfaltung des Gewebes bewirkte. Die Streckflüssigkeit setzte sich aus drei Teilen Butoxyethylacetat und sieben Teilen 70 %igem Ethanol zusammen. Die so präparierten Schnitte wurden nun sowohl mit Isolierfolie (Kisol-Folie, MDS GmbH, Buseck, Deutschland) als auch mit einem saugstarken Filterpapier bedeckt. Die Aushärtung der übereinander gestapelten Schnitte vollzog sich unter Schraubzwingendruck zwei Tage lang in einem Brutschrank

(Heraeus Instruments, Kendro Laboratory Products, Hanau, Deutschland) bei 60°C.

3.9 Histologische Färbungen

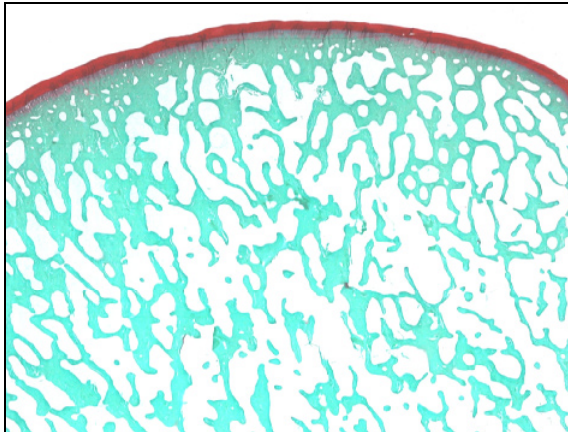
Als Vorbereitung auf die Färbungen wurden die Schnitte jeweils dreimal 30 Minuten in 2-Methoxyethylacetat (MERCK Schuchardt OHG, Hohenbrunn, Deutschland) entplastet. Dies führte zu einer vollständigen Elimination des Kunststoffes aus den Geweben und machte diese für die nachfolgenden Färbelösungen zugänglich. Anschließend durchliefen die Schnitte eine absteigende Alkoholreihe, um rehydriert zu werden.

Für die histomorphometrische Beurteilung des Defektbereiches wurden zwei Standardfärbungen Safranin-Orange / Lichtgrün und Safranin-Orange / von Kossa ausgewählt. Für die histologische Beurteilung wurde zudem noch die Trichromfärbung nach Masson und Goldner durchgeführt.

Safranin-Orange / Lichtgrün Färbung

Diese spezifische Färbemethode eignete sich besonders zur Darstellung von Knorpelgewebe (Abb. 15). Hierbei drang der Farbstoff Safranin-Orange in die Knorpelgrundsubstanz ein und band bevorzugt an den sauren Gruppen der Mukopolysaccharide, welche sich dann intensiv rot färbten. Osteoidsäume und Zellkerne stellten sich ebenfalls rot dar. In einer Gegenfärbung mit Lichtgrün wurden Knochen- und Bindegewebe grün angefärbt (Färbeprotokoll im Anhang, Tab. 5).

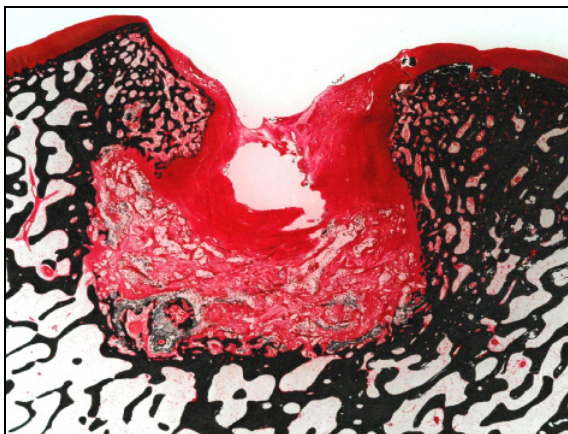
**Abb. 15: Safranin-Orange / Lichtgrün Färbung
nativ, Standzeit drei Monate**



Kombinierte Safranin-Orange / von Kossa Färbung

Diese spezielle Färbung erlaubte eine Unterscheidung von mineralisiertem und nicht mineralisiertem Gewebe (Abb.16). Mineralisierter Knorpel und Knochen färbten sich einheitlich schwarz, Mineralisationsfronten hingegen stellten sich schwarz granuliert dar. Die Kombinationsfärbung mit Safranin-Orange führte zu einer kontrastreichen Darstellung von nicht mineralisiertem Knorpel und Bindegewebe, welches sich in verschiedenen intensiven Rottönen präsentierte (Färbeprotokoll im Anhang, Tab. 6).

**Abb. 16: kombinierte Safranin- Orange / von Kossa Färbung
Füllung, Standzeit drei Monate**

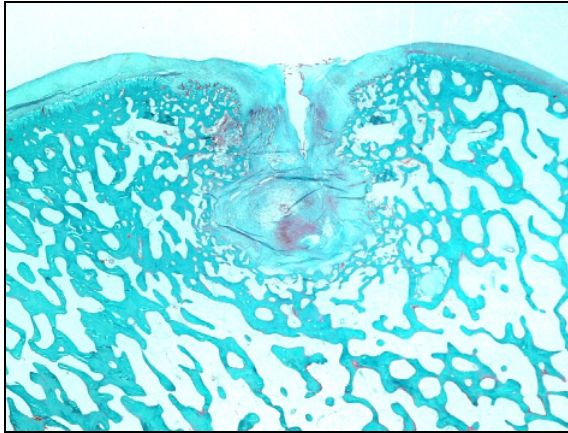


Trichromfärbung nach Masson und Goldner

Diese Färbung hebt verschiedene Zell- und Gewebeanteile hervor (Abb. 17). Zellkerne färbten sich bräunlich-schwarz an, während sich das Zytoplasma ziegelrot hervorhob. Eine Orangefärbung erfuhren die kernlosen Erythrozyten. Bindegewebe und saure Mukosubstanzen

stellten sich hellgrün dar. Mineralisiertes Knochengewebe war von leuchtend grüner Farbe, hingegen färbten sich unverkalkte Osteoidsäume rötlich (Färbeprotokoll im Anhang, Tab. 7).

**Abb. 17: Trichromfärbung nach Masson und Goldner
Leerdefekt, Standzeit drei Monate**



3.9.1 Eindecken der Schnitte

Nach dem Entwässern der gefärbten Präparate in einer absteigenden Alkoholreihe verweilten die Schnitte für 10 Minuten in Xylol. Um die Präparate langfristig zu konservieren, wurden die Präparate luftdicht mit Deckgläsern und dem Einschlussmittel Vitru –Clud (Langenbrick, Emmendingen, Deutschland) eingedeckelt. Die eingedeckten Objektträger trockneten 24 Stunden bei Raumtemperatur.

3.10 Histologische Auswertung

Die histologischen Präparate wurden unter dem Lichtmikroskop (Axioskop 2, Zeiss, Oberkochen, Deutschland) semiquantitativ bei aufsteigender Vergrößerung durchgemustert, besondere Aufmerksamkeit galt dabei der Defektregion.

Anhand eines modifizierten Scores nach dem Vorbild Wakitanis, modifiziert von Pineda (Wakitani et al., 1994) und nach O’Driscoll (O’Driscoll et al., 1988) wurden die mit Safranin-Orange / von Kossa und Masson-Goldner gefärbten Präparate im Hinblick auf die Defekte, dies impliziert den gefüllten Defekt und den Leerdefekt, beurteilt und klassifiziert. Diese Ergebnisse wurden pro Präparat und Scorekriterium gemittelt und ausgewertet. Der Score war unterteilt in die beiden Abschnitte A (Punkte 1-7) und B (Punkte 8-12).

Der Score A befasste sich mit der Bewertung und Quantifizierung des neu entstandenen Gewebes innerhalb des Defektbereichs, der sich daran anschließende zweite Abschnitt B mit der

Integration des Implantats im umliegenden Gewebe. Die maximal erreichbare Gesamtpunktzahl betrug 27 Punkte bei Score A und 12 Punkte bei Score B. Die nativen Präparate erhielten als Optimum die jeweilige Höchstpunktzahl.

Tab. 2: Semiquantitativer Score zur Auswertung der Präparate

Score A		
Kategorie	Punkte	
prozentualer Anteil des hyalinen Knorpels	80%-100%	8
	60%-80%	6
	40%-60%	4
	20%-40%	2
	0%-20%	0
A. Oberflächenbeschaffenheit	glatt und intakt	2
	Fissuren	1
	Risse, Fibrillation	0
B. Strukturelle Integrität	normal	2
	leichte Risse, Zysten	1
	kaum integriert	0
C. Knorpeldicke	100% des umliegenden Knorpels	2
	50%-100% des umliegenden Knorpels oder dicker als normal	1
	0%-50% normalen Knorpels	0
D. Verbindung zum umliegenden Knorpel	verbunden auf beiden Seiten	2
	verbunden auf einer Seite, teilweise verbunden auf beiden Seiten	1
	unverbunden	0
degenerative zelluläre Veränderungen	normale Zellularität, keine Cluster	2
	leichte Hypozellularität, <25% Chondrozytencluster	1
	moderate Hypozellularität, Hyperzellularität, >25% Cluster	0
degenerative Veränderungen im umliegenden Knorpel	normale Zellularität, keine Cluster, normale Anfärbung	3
	normale Zellularität, wenig Cluster, moderate Anfärbung	2
	milde oder moderate Hypozellularität, leichte Anfärbung	1
	schwere Hypozellularität, viel Cluster, kaum Anfärbung	0

Rekonstruktion des subchondralen Knochens	vollständige Rekonstruktion	2
	mehr als 50% Rekonstruktion	1
	≤50% Rekonstruktion	0
Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und neuem subchondralen Knochen	vollständig und ununterbrochen	2
	<100% aber >50%	1
	<50%	0
Safranin-Orange Färbung	mehr als 80% homogene positive Anfärbung	2
	40%-80% homogene positive Anfärbung	1
	<40% homogene positive Anfärbung	0
		Σ 27
Score B		
Auffüllung im Defektbereich	91%-110%	4
	76%-90%	3
	51%-75%	2
	26%-50%	1
	<26%	0
laterale knöcherne Integration	verbunden auf beiden Seiten	2
	verbunden auf einer Seite, teilweise auf beiden Seiten	1
	Unverbunden	0
basale Integration	91%-100%	3
	70%-90%	2
	50%-69%	1
	<50%	0
Entzündungsreaktionen	Keine	2
	Gering	1
	Stark	0
Fremdkörperreaktion	Nein	1
	Ja	0
		Σ A+B 39

3.10.1 Definition der Region of Interest (ROI)

Die ROI definierte das Interessengebiet der Auswertung und charakterisierte einen konkreten Bereich innerhalb des Präparates. Dieser gliederte sich in zwei unterschiedlich große Segmente, die in der späteren Auswertung gesonderte Berücksichtigung fand (Abb.14). Der eigentliche Defektbereich wurde von den Regionen A und B repräsentiert. Die Ausmaße der gemeinsamen Fläche von A und B differierten in Abhängigkeit von der verwendeten Hohlfräse. Bei dem versorgten Defekt wurde diese Fläche mit der Höhe von 10 mm und einer Breite von 7,4 mm standardisiert festgelegt. Der Leerdefekt beanspruchte eine Fläche mit einer Breite von 8,4 mm und einer Höhe von 10 mm. In beiden Fällen war so eine vollständige Abdeckung des jeweiligen Defektes gewährleistet. Der Fokus dieser Auswertung richtete sich primär auf die osteochondrale Defektheilung.

3.10.2 Bildanalyse

Eine weitere Möglichkeit, Knorpel-Knochenschnitte zu analysieren und quantitativ zu beurteilen, bot ein computergestütztes Auswertungssystem. Für dieses spezielle Auswertungsverfahren in der Bildanalyse wurden die Schnitte standardisiert unter Verwendung einer hochauflösenden Digitalkamera (Nikon D70, Nikon Corporation Fuji, Tokio, Japan) photographiert. Eine optimale Ausleuchtung der Präparate und eine damit verbundene Verbesserung der Bildqualität durch Verstärkung der Kontraste wurde mit einer externen Lichtquelle (Leica KL 1500 LCD, Bensheim, Deutschland) erzielt. Um eine räumliche Orientierung zu erhalten, wurde neben dem Präparat eine Skalierung im Millimeterbereich angebracht. Dies ermöglichte später eine notwendige Kalibrierung im Digitalbild.

Die auf einem Stativ montierte Kamera gewährleistete einen gleich bleibenden Abstand zum jeweiligen Präparat während des gesamten Photographievorganges. Die jeweiligen Einstellungen wurden standardisiert für alle Schnitte beibehalten.

Für die Auswertung in der Bildanalyse kamen jeweils zwei Schnitte pro Präparat, ein nach Safranin-Orange / Lichtgrün und nach Safranin-Orange / von Kossa gefärbter Schnitt, zur Anwendung.

Mit einem eigens für diese spezifischen Versuchsanforderungen geschriebenen Computerprogramm (KS 400, Kontron Elektronik GmbH, Eching, Deutschland) war es möglich, die digitalen Bilder zu analysieren. Die Identifizierung spezifischer Strukturen (Knorpel, mineralisiertem Knochen und Bindegewebe) erfolgte auf Grund ihrer unterschiedlichen Anfärbung. Diese

Farbcodierung ermöglichte die Erfassung und Berechnung von Flächeninhalten verschiedener Gewebetypen. Die abgespeicherten Präparatbilder wurden im Rahmen des Programms im Rechner hochgeladen und im weiteren Verlauf wurden die einzelnen Anweisungen des Programms abgearbeitet.

In einem ersten Schritt erfolgte die Kalibrierung des Systems an einem Safranin-Orange / von Kossa gefärbten Präparates. Die Millimeterskalierung auf den digitalen Bildern diente hierbei der Kalibrierung des jeweiligen Präparates, dazu wurde ein vom Makro vorgegebenes Rechteck mit 3 mm Kantenlänge angelegt (Abb. 18). Die, das Präparat umschließende gewebefreie Fläche wurde speziell markiert um von den folgenden Berechnungen ausgeschlossen zu werden (Abb. 19). Anschließend wurde eine vorher definierte „region of interest“ („ROI“) (Abb. 14) im Defektbereich so platziert, dass die obere Kante der ROI mit der Gelenkknorpeloberfläche abschloss (Abb. 20). Die ROI erstreckte sich über den gesamten Defektbereich. Die weiteren Messungen bezogen sich nur noch auf die fixierte ROI. Zuerst wurde in dieser ROI das Knochengewebe segmentiert, welches sich in der Safranin-Orange / von Kossa-Färbung schwarz anfärbte (Abb. 21). In einem dem gleichen Schnitt wurde im Anschluss das sich rot darstellende Binde- und Knorpelgewebe markiert (Abb. 22). Im Folgenden errechnete das Computerprogramm in Abhängigkeit von der Farbverteilung der einzelnen Gewebe die entsprechenden Flächenanteile an mineralisierten Knochen, Knochendichte, hyalinem Knorpel und Bindegewebe. Das Programm erstellte zur Berechnung der knöchernen Struktur ein Binärbild. Anhand des zweiten Präparates in der Safranin-Orange / Lichtgrünfärbung erfolgte letztlich die Dokumentation und Berechnung des neu gebildeten hyalinen Knorpels im Defektbereich (Abb. 23), verfahren wurde nach der gleichen Prozedur wie beim ersten Präparat. Die nicht aufgefüllte Fläche des Defektbereiches wird durch Anlegen einer speziellen Leer-ROI markiert und entsprechend berechnet.

Die Vorgaben des Programms bezüglich der angefärbten Bereiche erlaubten dem Untersucher eine manuelle Korrektur. Die Möglichkeit bestand, Bereiche, die vom Programm nicht als Zielgewebe registriert worden waren, im Nachhinein zu markieren und in die Auswertung einfließen zu lassen. Aus den einzeln markierten Flächen addierte das Programm letztlich die gesamten Knochen- und Knorpelflächen. Gewebefreie Bereiche im Sinne von nicht aufgefüllter Fläche wurden im histologischen Schnitt innerhalb der ROI markiert und von der standardmäßig berechneten ROI schließlich subtrahiert. Die flächenmäßige Erfassung des Poly-D,L-Lactid-Scaffold wurde mit Hilfe eines weiteren Makros gewährleistet. Entsprechend den oben beschriebenen Schritten erfolgte auch hier eine Kalibrierung und Festlegung der ROI.

Im Anschluss daran war es nun möglich, ausschließlich manuell die Poly-D,L-Lactid-Scaffoldreste zu markieren und zu erfassen.

Parameterdefinition

Im Folgenden sind die in der Bildanalyse erhobenen Parameter aufgeführt und erklärt:

Total Bone Area: Gesamtknochenfläche (mm²)

Darunter war die gesamte Knochenfläche zu verstehen, die sich im histologischen Schnitt als schwarze Fläche darstellte. In ihrer Gesamtheit bestand sie aus mineralisiertem Knochen, ungefüllten Lakunen, kleinen Bindegewebsinseln und Blutgefäßen.

Total Mineralized Bone Area: Gesamtfläche an mineralisierten Knochen (mm²)

Bei diesem Parameter wurden die schwarz angefärbten mineralisierten Areale des Knochens und Knorpels berücksichtigt und flächenmäßig ermittelt. Die ermittelte Fläche des mineralisierten Knorpels war so gering, dass diese vernachlässigt werden konnte. Somit entsprach der gewonnene Wert primär dem des mineralisierten Knochens.

Bone density: Knochendichte (%)

In die Berechnung fließen die beiden ermittelten Werte aus der Gesamtknochenfläche und der mineralisierten Knochenfläche mit ein. Der Anteil des mineralisierten Knochens in Bezug auf die Gesamtknochenfläche ergibt die Knochendichte.

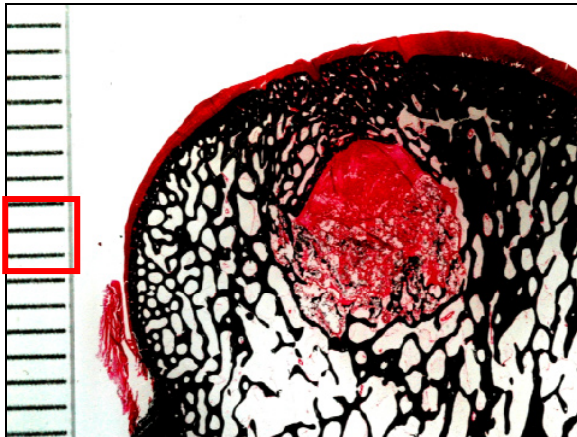
Total Connective Tissue Area: Gesamtbindegewebsfläche (mm²)

Die Gesamtbindegewebsfläche berechnete sich basierend auf dem nach Safranin-Orange / von Kossa gefärbten Schnitt aus dem rot gefärbten Bindegewebe und dem hyalinen Knorpel. Letztlich erhielt man den Wert für das Gesamtbindegewebe nach Subtraktion des Anteils an hyalinen Knorpel.

Cartilage Area: Knorpelfläche (mm²)

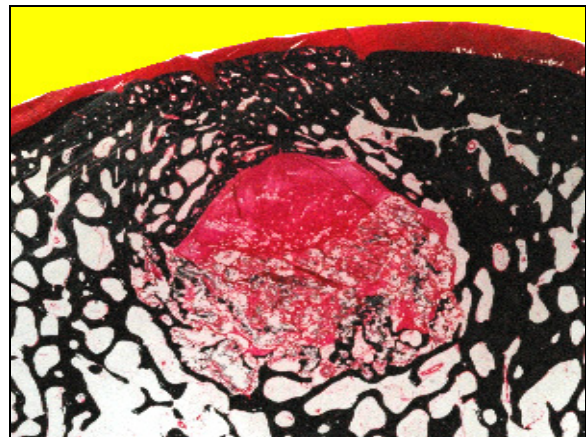
Die Berechnung der Knorpelfläche erfolgte aus dem mit Safranin-Orange / Lichtgrün gefärbten Präparat, hierbei fand nur der hyaline Knorpel in der Auswertung Berücksichtigung.

Abb. 18: Kalibrierung an Millimeterskala



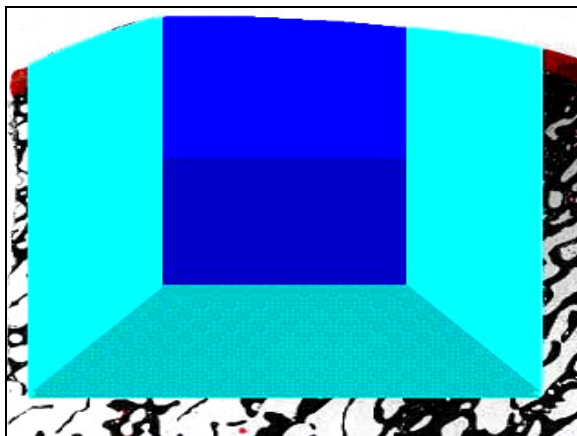
Safranin-Orange / von Kossa Färbung

Abb. 19: Ausschluss der umschließenden gewebe-freien Fläche durch Markierung (gelb)



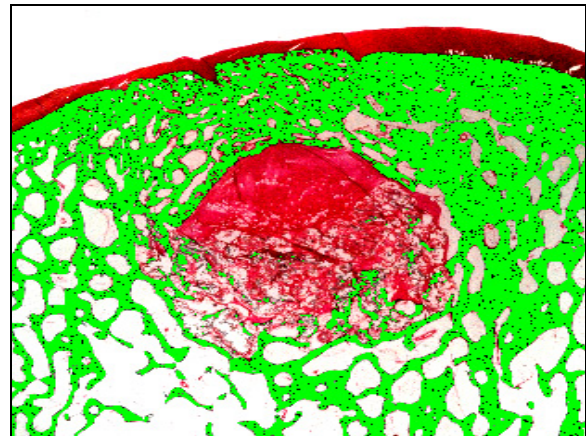
Safranin-Orange / von Kossa Färbung

Abb. 20: Positionierung der ROI



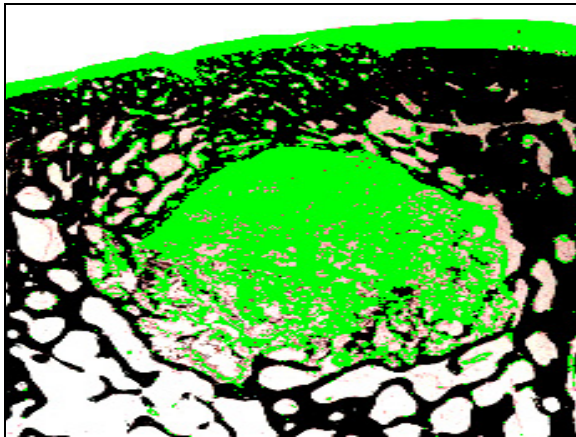
Safranin-Orange / von Kossa Färbung

Abb. 21: Markierung der gesamten mineralisier-ten Knochenfläche



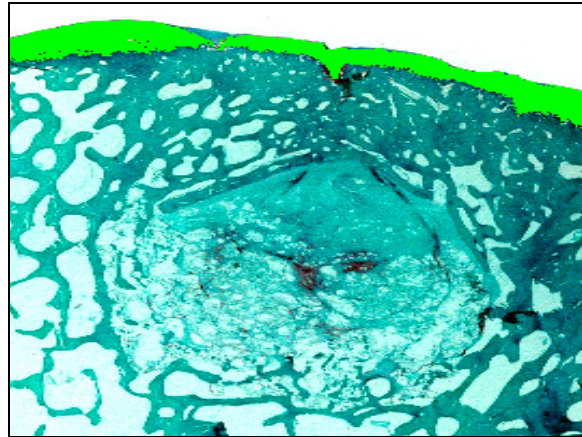
Safranin-Orange / von Kossa Färbung

Abb. 22: Markierung der Gesamtfläche von Bindegewebe und Knorpel



Safranin-Orange / von Kossa Färbung

Abb. 23: Markierung des Knorpels



Safranin- Orange / Lichtgrün Färbung

3.10.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der histomorphometrischen Daten erfolgte unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS 14 (SPSS 14, Windows Inc, Chicago, Illinios). Zusätzlich fand der nicht parametrischen Mann-Whitney-Test Anwendung. Die Verwendung dieses Testverfahrens auf die gewonnenen histomorphometrischen Daten diente einerseits der Untersuchung bezüglich des Einflusses der Standzeit innerhalb der Gruppen, andererseits wurde damit der Einfluss der Therapie zu beiden Zeitpunkten analysiert. Additiv fand der nicht parametrische Wilcoxon-Test Anwendung. So wurde ein direkter Vergleich zwischen Leerdefekten und Füllungen ermöglicht. Die Signifikanz für beide Testverfahren wurde mit einem p-Wert von $p < 0,05$ festgesetzt.

Die im Histo-score erhobenen Daten wurden ebenfalls mit den oben erwähnten statistischen Testverfahren analysiert. Die statistische Analyse stützte sich auf die Bildung der Differenzen zwischen den jeweils ermittelten Punktwerten für die Implantate und den versorgten Defekten zum jeweiligen Zeitpunkt. Die Anwendung des Mann-Whitney-Tests diente der Darstellung von Unterschieden zwischen den Implantaten und den Leerdefekten zu den verschiedenen Zeitpunkten. Als Testverfahren wurde der Wilcoxon-Test zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben verwendet. Er basiert auf einer Rangreihe der absoluten Wertepaar-Differenzen und berechnet fallweise zu jedem Wertepaar die Differenzen.

4 Ergebnisse

4.1 Subjektive Beurteilung des Heilungserfolges

Während der postoperativen Heilungsphase war bei keinem der 24 Versuchstiere ein gestörtes Allgemeinbefinden oder eine Veränderung in der Futter- und Wasseraufnahme zu verzeichnen. Keines der Tiere wies Anzeichen einer Wundheilungsstörung oder einer postoperativen sekundären Infektion des operierten linken Kniegelenks auf. Bei allen Tieren konnte initial eine deutliche Schonung der operierten Gliedmaße mit geringfügiger Fußung auf der Klauenspitze festgestellt werden. Die in den ersten Tagen nach der Operation zu verzeichnende Lahmheit bildete sich im Laufe der Zeit mit sukzessiver Steigerung der Belastung deutlich zurück. Eine vollständige Einschränkung der Beweglichkeit des Kniegelenkes infolge der Operation wurde in keinem Fall beobachtet. Nach sechs Monaten war die linke Gliedmaße in ihrer Funktionalität wieder vollständig hergestellt.

4.2 Messung der Bodenreaktionskräfte

Die Messungen der Bodenreaktionskraft dienten der Evaluation des Gangmusters. Somit war es möglich, die dynamischen Druckverteilungen während eines Gangzyklus darzustellen. Das Ausmaß der Bodenreaktionskraft ist proportional sowohl zur relativen Größe des Körpergewichts, das von der Klaue beim Auftritt getragen wird, als auch zur Körperbeschleunigung. In die Auswertung gingen jeweils sechs Tiere aus den Gruppen III und IV mit einer Standzeit von sechs Monaten ein. Die Bearbeitung der Rohdaten, zusammen getragen aus den einzelnen Messungen der Bodenreaktionskräfte, erfolgte mit Hilfe der entsprechenden Software novelwin 7.9 (emed® system novel GmbH, München, Deutschland). Bei den zu analysierenden Parametern handelte es sich um die maximale Bodenreaktionskraft, die Kontaktzeit und die Kontaktfläche. Als Bezugswert wurde die präoperative Messung mit 100% für das jeweilige Bein definiert. Zudem war eine große interindividuelle Variabilität hinsichtlich der erhobenen Messwerte feststellbar sowohl innerhalb einer Gruppe als auch zwischen beiden. Im Folgenden werden die Verläufe der einzelnen Bodenreaktionsparameter für beide Gruppen skizziert, sie zeigen die relativen Werte basierend auf den präoperativen Wert. Die Betrachtung konzentriert sich primär auf die beiden hinteren Gliedmaßen. Die grafische Darstellung erfolgt mit Hilfe von Fehlerbalken, bezeichnend ist hier die Lage des Mittelwertes für die einzelnen Variablen. Zusätzlich liefern Fehlerbalken neben den beobachteten Mittelwerten aus der

zugrunde liegenden Stichprobe auch Informationen über die wahrscheinliche Lage des Mittelwertes in der Grundgesamtheit.

Da die geringe Gruppengröße von Schafen ($n=6$) gegenüber der Vielzahl von Messzeitpunkten und die starken interindividuellen Schwankungen bei der statistischen Untersuchung, Probleme im Hinblick auf signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen, Zeitpunkten und Parametern bereitete, wurde die Auswertung auf einen rein deskriptiven Vergleich der beiden Gruppen beschränkt.

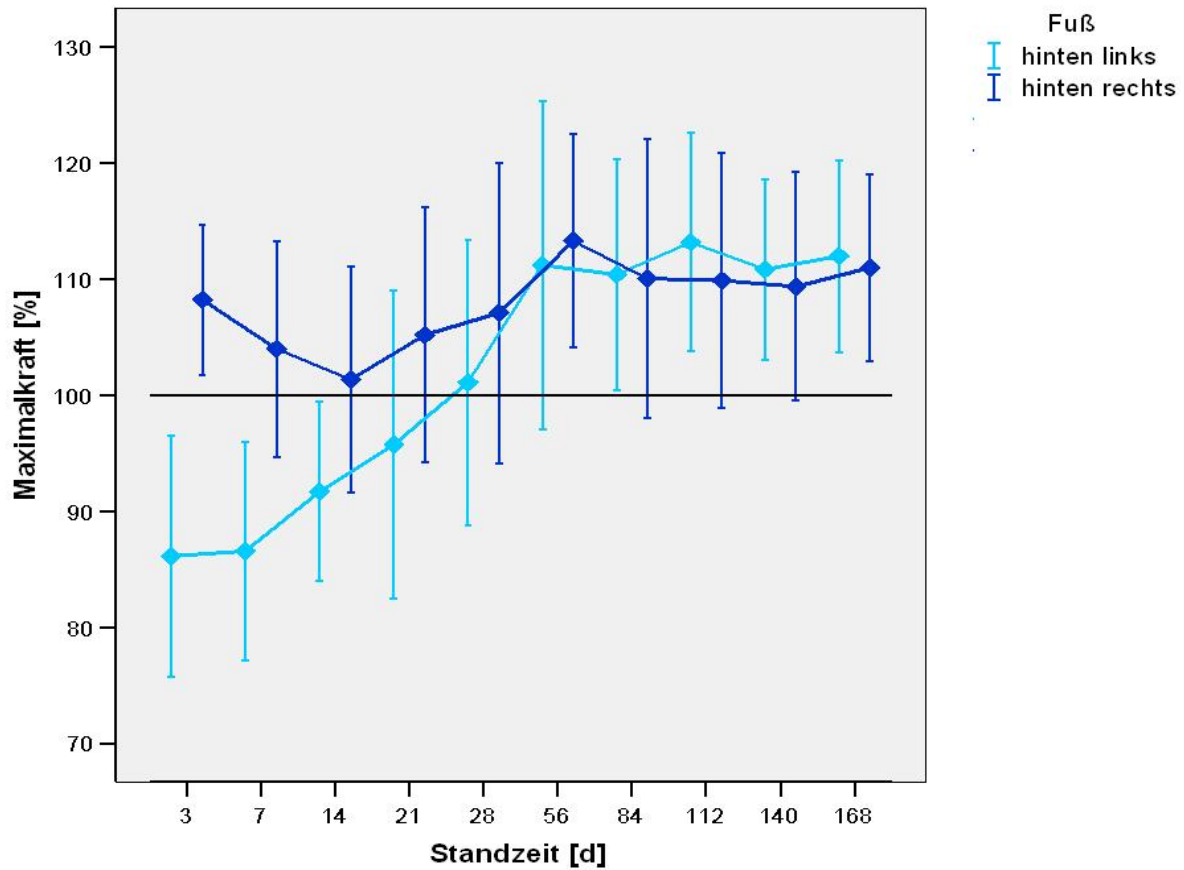
Eine Tabelle mit den Mittelwerten sowie den Minimal- und Maximalwerten der jeweiligen Parameter für die beiden untersuchten Gruppen findet sich im Anhang (Tab. 8; Tab. 9).

4.2.1 Maximalkraft

Bei allen Tieren beider Gruppen kam es postoperativ zu einer deutlichen Abnahme der maximalen Bodenreaktionskraft im Sinne einer Entlastung der operierten Extremität während des Gangzyklus. Die Gruppe III, versorgt mit einem weichen Poly-D,L-Lactid-Scaffold, zeigte am dritten Tag nach der Operation eine deutliche Reduktion der maximalen Bodenreaktionskraft auf 86% (Abb. 24). Parallel dazu ließ sich in der Gruppe IV, welche mit einem harten Poly-D,L-Lactid-Scaffold versorgt worden war, eine Abnahme der maximalen Bodenreaktionskraft am dritten Tag post operationem auf 83% verzeichnen (Abb. 25). Nach vier Wochen war die linke Gliedmaße der Gruppe III in ihrer Funktionalität wieder vollständig hergestellt und kehrte zum präoperativen Ausgangsniveau zurück. In der Gruppe IV ließ sich eine längere Schonung der operierten Gliedmaße bis zur achten Woche nachweisen. Im Laufe der Zeit kam es in beiden Gruppen zu einer kontinuierlichen Steigerung der Gewichtsbelastung der linken Gliedmaße bis hin zum präoperativen Ausgangsniveau, welche folgend graphisch dargestellt werden (Abb. 24; Abb. 25).

Abb. 24: Darstellung der Maximalkraft für beide Hintergliedmaßen der Gruppe III. Die Grafik zeigt Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung.

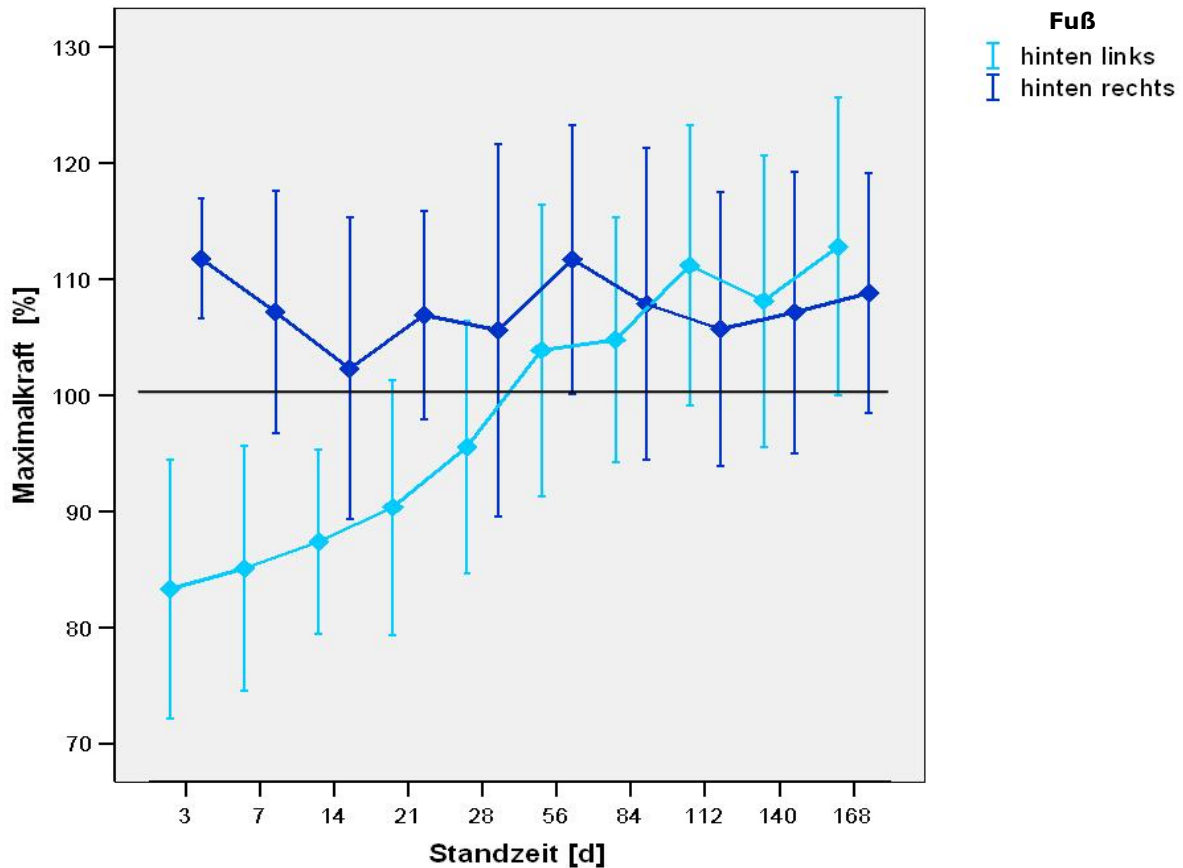
In den ersten drei Wochen ist eine Entlastung der linken operierten Gliedmaße zu erkennen, die nach vier Wochen das präoperative Ausgangsniveau erreicht. Die rechte gesunde Gliedmaße erfährt anfänglich eine kompensatorische Mehrbelastung mit einem Maximalpunkt drei Tage post operationem.



Gleichzeitig war zu beobachten, dass die kontralaterale intakte rechte Hintergliedmaße in beiden Gruppen eine kompensatorische Mehrbelastung erfuhr mit einem Maximalpunkt drei Tage post operationem (Abb. 24; Abb.25). Danach war eine stetig korrespondierende Kraftzunahme der kontralateralen operierten Gliedmaße zu verzeichnen. Dieses Geschehen lässt sich bis in die vierte Woche verfolgen, danach kam es zu einer allmählichen Angleichung der Kurvenverläufe. In beiden Gruppen wurde die rechte gesunde Gliedmaße während der ersten acht Wochen des Beobachtungszeitraums mehr belastet.

Abb. 25: Darstellung der Maximalkraft für beide Hintergliedmaßen der Gruppe IV. Die Grafik zeigt Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung.

In den ersten vier Wochen ist eine Entlastung der linken operierten Gliedmaße zu erkennen, die nach fünf Wochen das präoperative Ausgangsniveau erreicht. Die rechte gesunde Gliedmaße erfährt eine kompensatorische Mehrbelastung mit einem Maximalpunkt drei Tage post operationem.

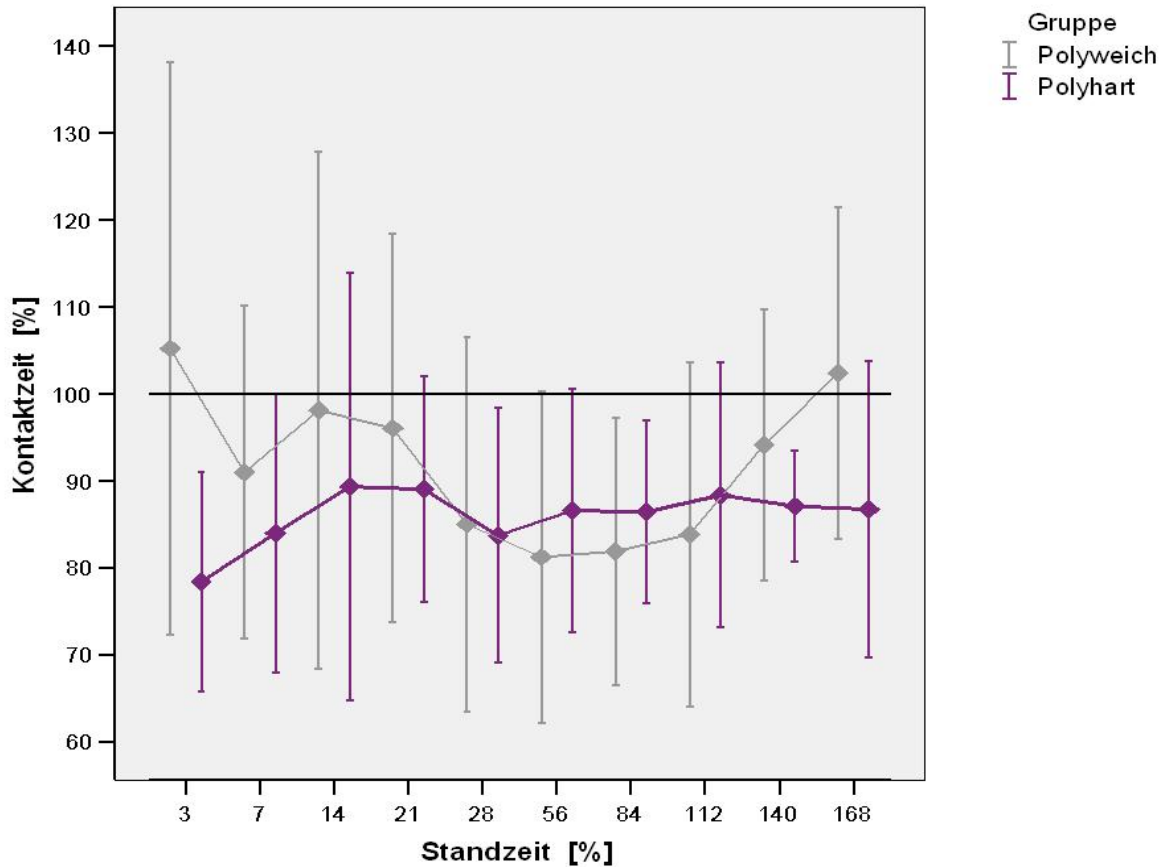


4.2.2 Kontaktzeit

Die Kurvenverläufe der operierten Gliedmaße beider Gruppen für den Parameter Kontaktzeit verhielten sich ähnlich, einer anfänglichen Abnahme folgte eine stetige Zunahme der Kontaktzeit (Abb. 26). Der Kurvenverlauf der Gruppe III (Polyweich) zeigte zu Beginn eine rapide Abnahme der Kontaktzeit bezüglich der linken hinteren Gliedmaße, die in der achten Woche post operationem ihr Minimum mit einem Mittelwert von 81% des präoperativen Wertes erreichte. Die Gruppe IV (Polyhart) wies einen ähnlichen Kurvenverlauf bezüglich des untersuchten Parameters auf, wobei das Minimum in der vierten Woche mit einem Mittelwert von 85% erreicht wurde. In dem anschließenden Zeitraum erfolgte eine Annäherung der Kontaktzeit an den präoperativen Ausgangswert. Die registrierte Teilentlastung der operierten Gliedmaße bedingt gleichfalls eine Reduktion der Kontaktzeit.

Abb. 26: Darstellung der Kontaktzeit für die linke Hintergliedmaße beider Gruppen (III und IV). Die Grafik zeigt Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung.

Beide Gruppen zeigten eine Verkürzung der Kontaktzeit, die während des gesamten Beobachtungszeitraums anhielt.

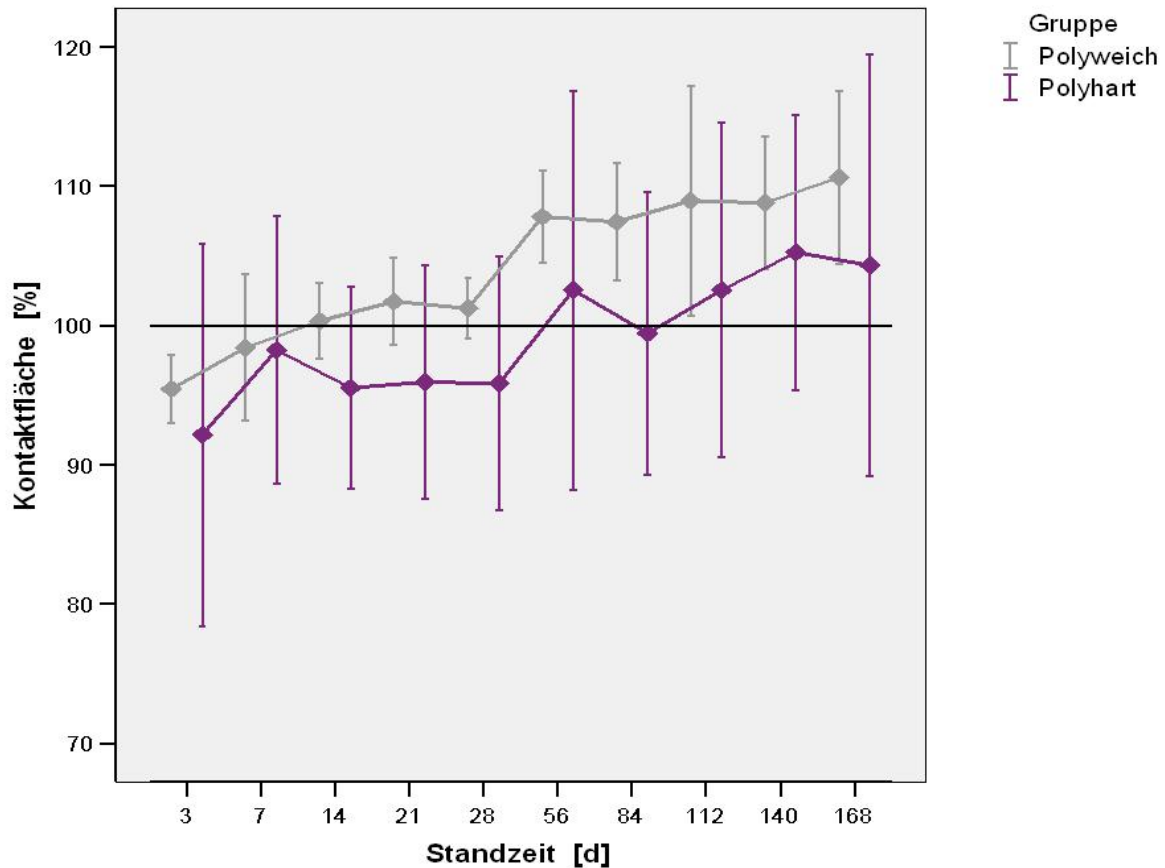


4.2.3 Kontaktfläche

Der Parameter Kontaktfläche erreichte in beiden Gruppen für die operierte Gliedmaße drei Tage post operationem sein Minimum mit einem Mittelwert von 93% in der Gruppe IV, die geringfügig schlechtere von beiden. Die Gruppe III erreichte schon eine Woche eher, also bereits nach zwei Wochen, den präoperativen Status, im Vergleich dazu die Gruppe IV erst nach acht Wochen. Auffälliger Weise ließ sich ein stetiger Kurvenanstieg in beiden Gruppen ab der achten Woche über das präoperative Niveau verzeichnen. In den ersten drei Wochen war tendenziell ein Anstieg im Vergleich zum präoperativen Wert feststellbar (Abb. 27). Auch in diesem Fall waren die Beobachtungen in der vorhandenen Lahmheit begründet. Das veränderte Gangbild resultierte aus einer Fußung mit der Klauenspitze, ablesbar an der Abnahme der Kontaktfläche. Die Betrachtung der jeweiligen rechten Gliedmaße hinsichtlich des zeitlichen Verlaufes ergab keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Gruppen.

Abb. 27: Darstellung der Kontaktfläche für die linke Hintergliedmaße beider Gruppen (III und IV). Die Grafik zeigt Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung.

Die Kontaktfläche verringerte sich in beiden Gruppen post operationem. Die Gruppe Polyweich erreichte bereits nach zwei Wochen den präoperativen Ausgangswert, während die Gruppe Polyhart erst nach acht Wochen den Ausgangswert wiedererlangte.



4.3 Ergebnisse der makroskopischen Beurteilung bei der Explantation

Während der Explantation wurde in keinem Kniegelenk ein Anzeichen einer makroskopisch erkennbaren degenerativen Erscheinung oder einer Synovitis gefunden. Die Konvexität der Gelenkoberfläche schien durch die Implantate nicht beeinträchtigt zu sein. Auf der artikulierenden Knorpeloberfläche des Tibiaplateaus waren keinerlei makroskopischen Veränderungen sichtbar. Die Betrachtung der jeweiligen Gruppe bezogen auf die versorgten und unversorgten Defekte erfolgte in getrennten Abschnitten.

4.3.1 versorgter osteochondraler Defekt

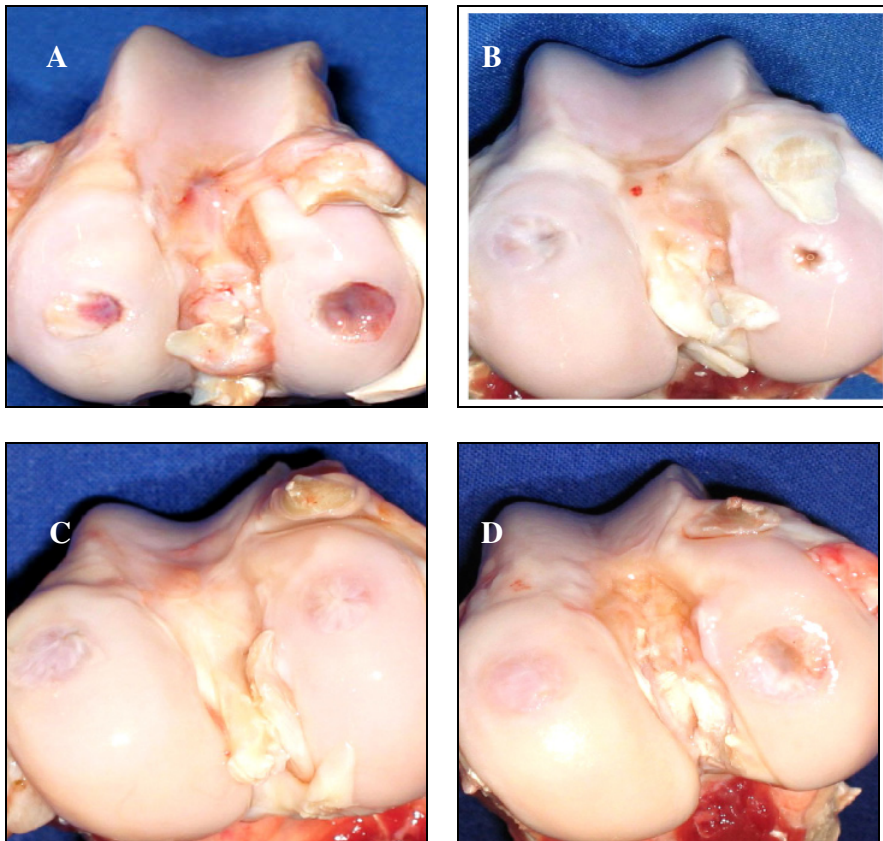
Nach der Versorgung mit einem synthetischen Poly-D,L-Lactid-Implantat unterschiedlicher Steifigkeit war der Defektbereich in beiden Gruppen mit einer Standzeit von drei Monaten noch deutlich zu erkennen (Abb. 28 A, B). Die Regeneratoberflächen beider Gruppen unter-

schieden sich makroskopisch nicht. Der Defektbereich beider Gruppen war nach drei Monaten unvollständig abgeheilt und eine vollständige Auffüllung bis auf das Niveau der Gelenkoberfläche war nur in vier Präparaten zu verzeichnen. Die Regeneratoberfläche von einer weißlichen bis elfenbeinernen glänzenden, zum Teil auch leicht rötlichen Färbung sah unregelmäßig, leicht rau und inhomogen aus. Makroskopisch wies das regenerierte Gewebe eine gute Integrität zum umliegenden Knorpel auf. Auch nach einer Standzeit von sechs Monaten waren die Defekte noch deutlich visuell abgrenzbar. Allerdings konnte eine vollständige Auffüllung bis auf das Niveau des umliegenden Gelenkknorpels beobachtet werden (Abb. 28 C, D). Somit wurde die Rekonstruktion einer neuen Gelenkoberfläche erreicht. Die Färbung und Integrität der Regeneratoberfläche verhielt sich wie bei den drei Monatstieren, strukturell erschien der Hauptanteil wesentlich glatter und homogener.

4.3.2 unversorgter osteochondraler Defekt

In beiden Gruppen mit einer Standzeit von drei Monaten war das Bohrloch noch deutlich zu erkennen. Der Defektbereich beider Gruppen war nach drei Monaten unvollständig abgeheilt. Die Betrachtung der unversorgten osteochondralen Defekte der kontralateralen Femurkondyle zeigte eine uneinheitliche Regeneration nach drei Monaten. Der überwiegende Anteil der Defekte wies eine deutlich geringere Auffüllung des Defektbereiches auf verglichen mit den versorgten Defekten (Abb. 28 A). Die unversorgten Defekte enthielten vor allem Blutkoagel und Bindegewebe. Das Niveau der Gelenkfläche konnte nur von drei Präparaten nach einem Zeitraum von drei Monaten erreicht werden (Abb. 28 B). Die Defektränder, prominent, aber nicht scharfkantig, zeichneten sich deutlich in der Gruppe der drei-Monatstiere ab (Abb. 28 A). Hauptsächlich war die Regeneratoberfläche weißlich bis leicht rötlich gefärbt. Variabilitäten ließen sich hinsichtlich der Struktur verzeichnen, die sich einerseits rau und unregelmäßig, andererseits aber auch glatt und glänzend darstellte. Nach sechs Monaten war bei dem überwiegenden Anteil der unversorgten Defekte eine geschlossene Oberfläche sichtbar. Die Regeneratoberfläche, ebenfalls weißlich schimmernd, zeichnete sich auf Grund ihrer rauen inhomogenen Oberflächenstruktur, die zum Teil auch von Rissen durchzogen war, deutlich vom umliegenden Knorpelgewebe ab (Abb. 28 D).

Abb. 28: makroskopische Exemplare



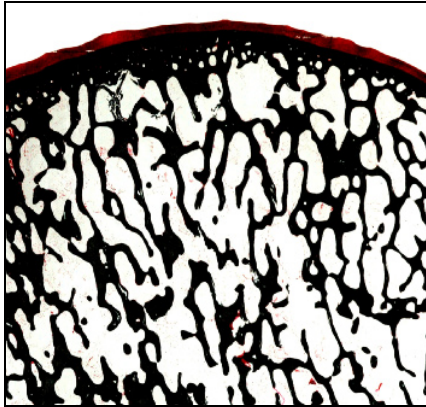
Von links nach rechts: weicher Poly-D,L-Lactid-Scaffold (A; C), harter Poly-D,L-Lactid-Scaffold (B; D)
 oben: nach drei Monaten, unten: nach sechs Monaten; die jeweils linke Kondyle weist die Füllung und die rechte Kondyle den Leerdefekt auf.

4.4 Ergebnisse der deskriptiven Histologie

Die histologische Auswertung strebte den deskriptiven Vergleich der beiden Poly-D,L-Lactid-Scaffolds unterschiedlicher Steifigkeit bezüglich der Regeneration osteochondraler Defekte an. In alle Auswertungen gingen jeweils sechs Tiere pro Gruppe ein. Aus der Versuchsgruppe II mit einer Standzeit von drei Monaten, versorgt mit einem harten Poly-D,L-Lactid-Implantat, flossen nur vier Präparate in die Auswertung ein, da sich zwei Präparate trotz mehrmaliger histologischer Aufbereitung nicht verarbeiten ließen. Die poröse Struktur der Poly-D,L-Lactid-Scaffolds wurde im Laufe der histologischen Präparation aus den gewonnenen Gewebeproben heraus gelöst. Aus diesem Grund stellt sich das ursprüngliche synthetische Scaffoldmaterial in den Präparaten nur noch als unterschiedlich große Leerräume dar und ist in den durchgeführten Färbungen nicht darstellbar. Vor diesem Hintergrund wird zum besseren Verständnis im nachfolgenden Text weiterhin der Begriff Scaffoldmaterial verwendet.

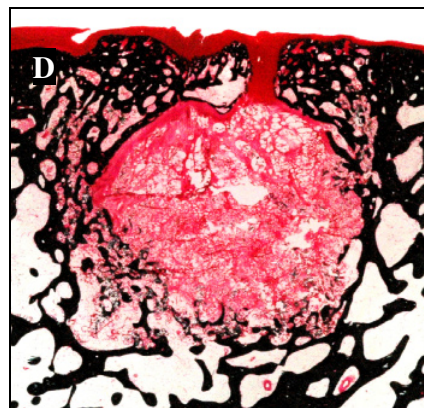
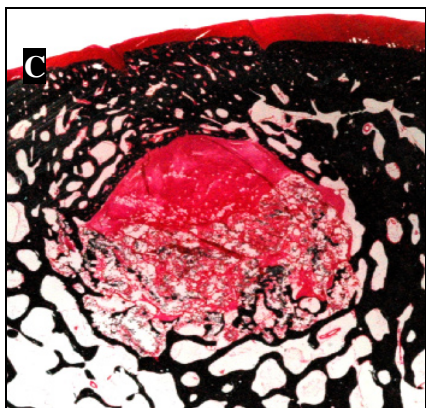
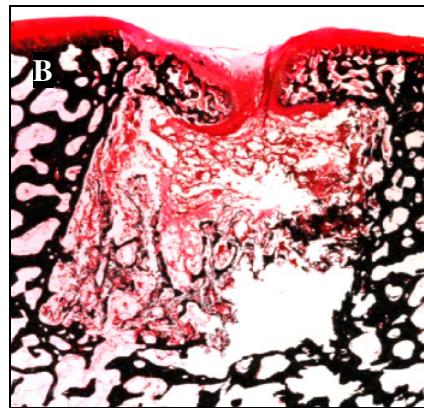
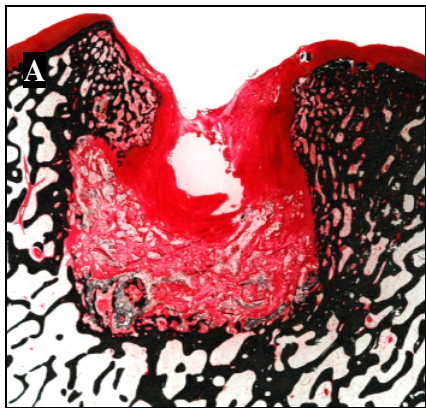
Die pro Gruppe exemplarisch ausgewählten histologischen Schnittpräparate (Abb. 29 bis 31) in der kombinierten Safranin-Orange / von Kossa Färbung sollen einen kleinen Einblick hinsichtlich des Heilungsverlaufes zu beiden Standzeiten gewähren.

Abb. 29: natives Präparat (gesund)



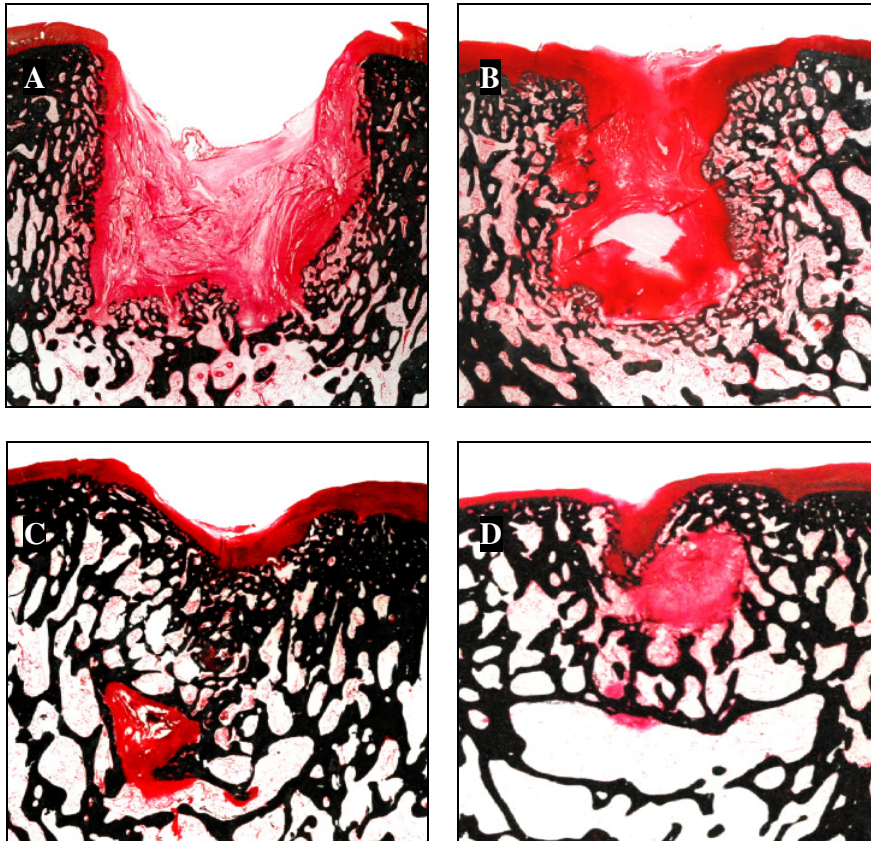
3 Monate; (Safranin-Orange / von Kossa)

Abb. 30: versorgter Defekt



Von links nach rechts: weicher Poly-D,L-Lactid-Scaffold (A; C), harter Poly-D,L-Lactid-Scaffold (B; D)
oben: nach drei Monaten, unten: nach sechs Monaten (Safranin-Orange / von Kossa)

Abb. 31: unversorgter Defekt



Von links nach rechts: weicher Poly-D,L-Lactid-Scaffold (A; C), harter Poly-D,L-Lactid-Scaffold (B; D)
oben: nach drei Monaten, unten: nach sechs Monaten (Safranin-Orange / von Kossa)

4.4.1 Versorgung mit weichem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach drei Monaten

In allen Präparaten dieser Gruppe war der ursprüngliche Defektbereich noch eindeutig zu identifizieren (Abb. 30 A). Das Niveau der Gelenkoberfläche konnte in zwei von sechs Fällen wiederhergestellt werden. In diesen beiden Präparaten präsentierte sich die rekonstruierte Oberfläche größtenteils glatt und eben. Allerdings konnten auch einige wenige Bereiche, die von kleineren Rissen und Unebenheiten geprägt waren, beobachtet werden. Die übrigen vier Defekte waren zu $\frac{2}{3}$ aufgefüllt, blieben aber deutlich unter dem Niveau der Gelenkoberfläche. In diesen Präparaten ließ sich eine vor allem bindegewebige Auffüllung in den dorsalen Bereichen bis fast in den Bereich der subchondralen Lamelle beobachten (Abb. 30 A). Die Oberfläche erwies sich als unregelmäßig, geprägt von Rauheiten, Unebenheiten und kleineren Rissen, vor allem in Form von Fibrillationen. Das Regenerat größtenteils von faserknorpeliger Qualität wies vereinzelt hyalinartige Inseln vor allem in der Nähe der Ränder auf. Das synthetisierte Gewebe beinhaltete einige unreife Chondrozyten, charakterisiert durch ihren riesigen Nukleolus und reichlich Zytoplasma. Zudem waren wenige Chondrozytencluster (Abb. 32 A) und leichte Hypozellularität feststellbar. Chondrozytencluster waren ebenfalls im Randbereich

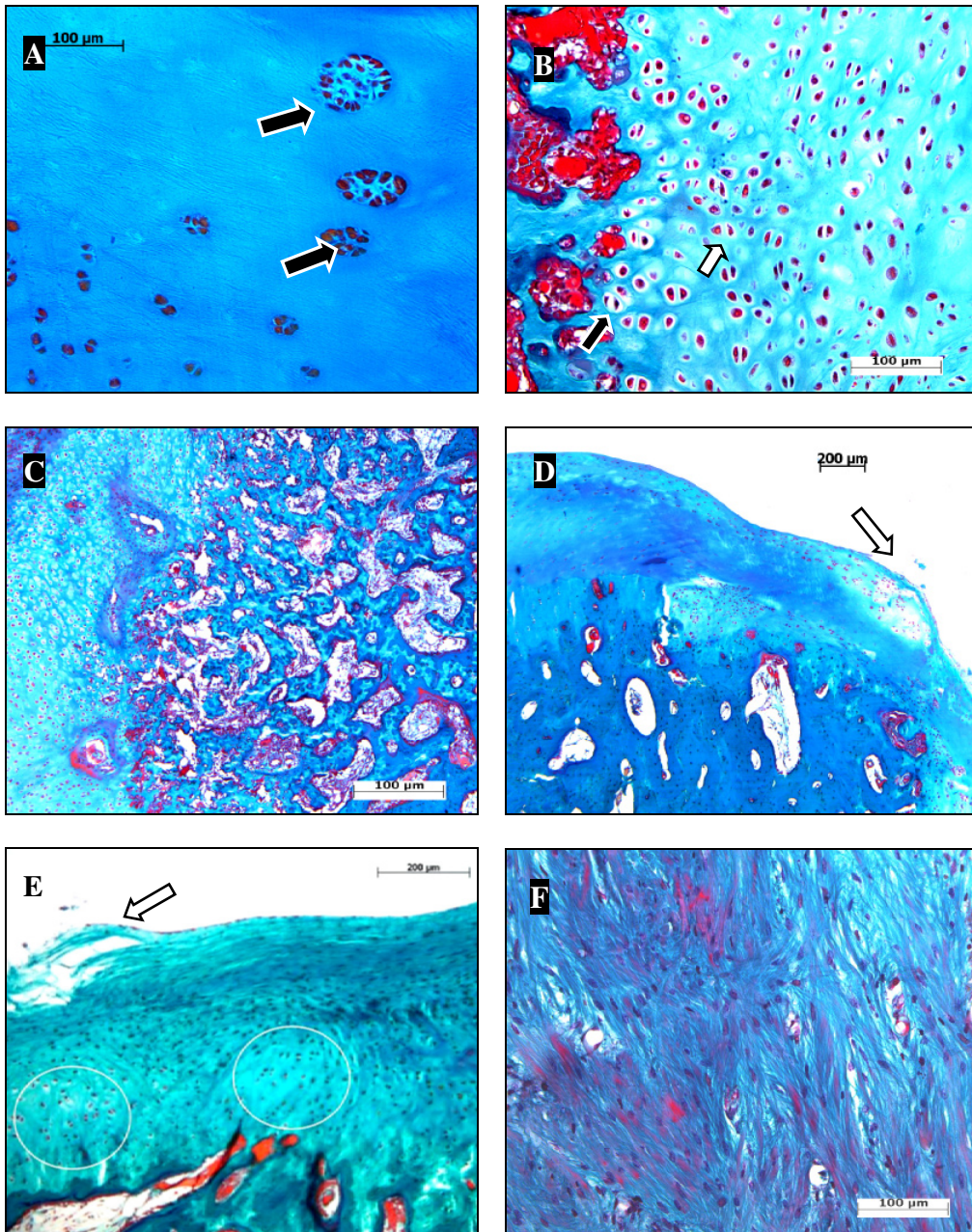
des Empfängerknorpels anzutreffen. Fibröses Gewebe formierte sich beginnend an den Defekträndern und versuchte eine Verbindung zur gegenüberliegenden Defektseite zu schaffen (Abb. 30 A). Eine vollständige Rekonstruktion der subchondralen Lamelle im Defektbereich war in keinem Präparat dieser Gruppe zu verzeichnen. Augenscheinlich stellt sich die neugebildete subchondrale Lamelle in den angrenzenden Randbereichen kompakter, verdickt und sklerosiert dar. Nach drei Monaten waren $\frac{2}{3}$ des dorasalen Implantates degradiert. In allen Präparaten gab es im basalen Defektbereich Hinweise auf vorherrschendes Scaffoldmaterial, charakterisiert durch unterschiedlich große Leerräume, die im Zuge der Präparation an Stelle des Scaffoldmaterials entstanden sind. Zudem formierte sich lockeres, aus spindelförmigen Zellen bestehendes Bindegewebe besonders in den dorsalen Bereichen, parallel zur fortschreitenden Degradation der Implantate, direkt dem noch vorhandenen Scaffoldmaterial angrenzend. Charakteristisch für alle Präparate war die zu beobachtende enchondrale Ossifikation (Abb. 32 B; Abb. 34 B) beginnend an den lateralen Rändern nahe der Gelenkoberfläche, die ein tendenzielles aufeinander Wachsen der Ränder vermuten lassen. Optisch konnte in vier von sechs Präparaten ein von lateral zu verzeichnender Knochenwachstum mit zum Teil darüber neu formierten Knorpel gesehen werden. Weiterhin kann in vier von sechs Fällen eine anfängliche knöcherne Integration des Poly-D,L-Lactid-Scaffolds gesehen werden (Abb. 32 C). Der neu synthetisierte Knochen erschien kompakter mit sehr kleinlumigen Lakunen. Ein Ansatz zur Trabekelbildung war erkennbar, allerdings zeigten sich die einzelnen Trabekel unorientiert und verdickt (Abb. 30 A). Eine zur Längsausrichtung des Knochens senkrechte Trabekelstruktur war in keinem der Präparate zu diesem Zeitpunkt erkennbar.

4.4.2 Versorgung mit hartem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach drei Monaten

In dieser Gruppe ließ sich der ursprüngliche Defektbereich in allen Präparaten noch eindeutig identifizieren. Allerdings war in dieser Gruppe eine Rekonstruktion der Gelenkoberfläche in zwei von vier Präparaten erfolgt (Abb. 30 B). Die Regeneratoberfläche war bei der Hälfte der Tiere glatt und eben, die anderen zwei Präparate wiesen hingegen Rauigkeiten und Fibrillationen auf. Auffällig war die Tatsache, dass Präparate mit geschlossener subchondraler Knochenlamelle auch eine glatte und ebene Gelenkoberfläche aufwiesen. Die zu beobachtende Neubildung meist faserknorpeliger Struktur einerseits und die Wiederherstellung der subchondralen Lamelle andererseits waren wesentlich stärker voran geschritten als in der Gruppe Polyweich zum selben Zeitpunkt. Einige Bereiche des neu synthetisierten Knorpels färbten sich schwächer an, verglichen mit der intakten Knorpelmatrix der Randbereiche. Weiterhin

konnten Parallelen in Bezug auf die Regenerate in ihren lichtmikroskopischen Erscheinungen festgestellt werden verglichen mit den drei- Monatstieren der Gruppe Polyweich. Im anliegenden intakten Knorpel war randständig die Anwesenheit degenerativer Prozesse in Form von Chondrozytenclustern nachweisbar. In einem Präparat ohne Rekonstruktion der Gelenkoberfläche war eine Herauslösung des dorsalen Scaffoldmaterials detektierbar. Bindegewebige Auffüllungsversuche sowie eine beginnende enchondrale Ossifikation von den Seitenrändern konnte in allen Präparaten wahrgenommen werden. Gemeinsamkeiten zeigten alle Präparate dieser Gruppe in der Anwesenheit von Scaffoldmaterial im basalen Defektbereich (Abb. 30 B). Augenscheinlich wies die Gruppe Polyhart (volumenmäßig) mehr von dem noch nicht degradierten Scaffoldmaterial im basalen Bereich auf, verglichen mit der Gruppe Polyweich zum selben Zeitpunkt. Optisch erschien der, das Implantat umschließende mineralisierte Knochen von kompakterer Struktur. Die Knochenlakunen waren auf Grund des verdichteten Knochens kaum zu erkennen. Auch in dieser Gruppe präsentierten sich die einzelnen trabekulären Strukturen verdickt und in ihren Ausrichtungen unorientiert (Abb. 30 B). Eine beginnende basale knöcherne Integration war in einem Präparat zu erkennen. Im Gegensatz dazu war eine deutliche laterale knöcherne Integration der beiden Randbereiche im oberen Drittel in zwei von vier Präparaten sichtbar, die zu einem vollständigen Schluss der subchondralen Knochenlamelle führten. Die übrigen zwei Präparate demonstrierten eine beginnende Brückenbildung der lateralen Ränder, ebenfalls im oberen Drittel des ursprünglichen Defektbereichs lokalisiert (Abb. 30 B). Der subchondrale Knochen erschien tendenziell in allen Präparaten, auch die Gruppe Polyweich betreffend, an den Defekträndern und im Defektbereich verdickt und unorientiert. In einem Präparat konnte, direkt an dem Implantat angrenzend, ein mit Bindegewebe und Scaffoldmaterial gefüllter Hohlraum in der Tiefe beobachtet werden, der sich deutlich in den umliegenden basalen und lateralen Bereich erstreckte. Einzelne Scaffoldpartikel, von bindegewebigen Septen durchzogen, sowie eine Anreicherung von Leukozyten und Makrophagen in der direkten Umgebung der Scaffoldpartikel füllten den Hohlraum. Diese ovale Struktur, mit einer Größe von ca. 30% des ursprünglichen Implantates, war von einer bindegewebigen Membran allseits umschlossen und somit vom benachbarten Gewebe abgekapselt.

Abb.: 32



A: Chondrozytencluster (Pfeile) im Randbereich des angrenzenden gesunden Knorpels (Polyweich nach drei Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 μm); **B:** enchondrale Ossifikation im Randbereich; Blasenknorpel (schwarzer Pfeil) mit Tendenz zur säulenförmigen Anordnung, Säulenknorpel (weißer Pfeil) (Polyweich nach 3 Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 μm); **C:** beginnende knöcherne Auffüllung im Randbereich, neugebildeter mineralisierter Knochen von einer unorientierten Struktur weist sowohl Osteoid als auch Ossein auf (Polyweich nach 3 Monaten, Masson-Goldner, 100 μm); **D:** Cartilage-flow (Pfeil), Knorpel des Randbereichs fließt in den Defekt, mit deutlichen Degenerationszeichen in Form von Chondrozytenclustern (Leerdefekt nach drei Monaten, Masson-Goldner, s.b. 200 μm); **E:** Regenerat bestehend aus Faserknorpel an der Oberfläche und in tieferen Schichten hyalinartige Inseln (Kreise), Regeneratoberfläche von Rissen und Fibrillationen geprägt (weißer Pfeil) (Leerdefekt nach 6 Monaten, Masson-Goldner, s.b. 200 μm); **F:** bindegewebige Auffüllung in der Defektmite mit Fibrozyten, die straffes faserreiches Bindegewebe produzieren; der Faserverlauf ist hauptsächlich senkrecht zur Gelenkoberfläche (Leerdefekt nach 3 Monaten, Masson Goldner, s.b. 100 μm).

4.4.3 Versorgung mit weichem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach sechs Monaten

Der ursprüngliche Defektbereich war bei einer Versorgung mit einem weichen Poly-D,L-Lactid-Implantat auch noch nach einer Standzeit von sechs Monaten zu erkennen. Eine vollständige Rekonstruktion einer Gelenkoberfläche mit dazu gehörigem neu gebildeten Knorpel und geschlossener subchondraler Lamelle war in fünf von sechs Präparaten zu beobachten (Abb. 30 C). Die neu synthetisierte Regeneratoberfläche ließ geringfügige Unebenheiten und Rauheiten erkennen, jedoch keine großflächigen Risse und Fibrillationen. In dem anderen Präparat war eine Einziehung der Oberfläche zu verzeichnen, die aber mit einer einigermaßen glatten Knorpeloberfläche mit darunter angrenzenden subchondralen Knochen versehen war. Das Erscheinungsbild des knorpeligen Regenerats erweckte insgesamt den Eindruck hyalinen Gewebes (Abb. 33 A), obwohl es sich schmaler als das angrenzende randständige intakte Knorpelgewebe darstellte (Abb. 30 C). Vor allem zeichnete sich das Regenerat durch die Anwesenheit von Chondrozyten aus, die hauptsächlich eine polygonale Struktur aufwiesen. In den tieferen Schichten des Knorpels bildeten sie häufig isogene Zellgruppen. Weiterhin ließen sich eine leichte Hyperzellularität und eine uneinheitliche Anordnung der Chondrozyten in einigen Bereichen des Regenerats verifizieren (Abb. 33 A, B). Die hyalinspezifische Schichtung konnte ansatzweise in einigen Abschnitten wahrgenommen werden. Allerdings fanden sich auch faserknorpelige Anteile charakterisiert durch die Darstellung von kollagenen Faserbündeln sowie Regionen diffus erhöhter Zelldichte, deren Zellen keine typische Chondrozytenform aufwiesen, sondern eher Fibroblasten glichen. Während einige Präparate im angrenzenden hyalinen Bereich randbetonte Degenerationsanzeichen in Form von Chondrozytenclustern (Abb. 33 B) aufwiesen, fanden sich in anderen Präparaten keinerlei Anzeichen degenerativer Veränderungen. In den tieferen Regionen des Defektbereiches aller Präparate war immer noch ein beachtlicher Anteil an nicht resorbiertem Scaffoldmaterial nachweisbar, jedoch deutlich weniger verglichen mit den drei Monatspräparaten (Abb. 30 C). In fünf Präparaten war eine Anreicherung von lockerem Bindegewebe im dorsalen Bereich der Poly-D,L-Lactid-Implantate zu erkennen (Abb. 30 C). Teilweise formierte sich auch eine bindegewebige Schicht abschnittsweise um die einzelnen Implantate und grenzte diese somit vom umliegenden mineralisierten Knochen ab, zu sehen in zwei Präparaten.

Nachfolgende Betrachtungen galten für alle Präparate dieser Gruppe. Auch nach einem Zeitraum von sechs Monaten waren Sklerosierungen in Form von Verdickungen und erhöhter Dichte der subchondralen Lamelle und des Implantats umsäumenden mineralisierten Knochen sichtbar (Abb. 30 C). Die Knochenlakunen wirkten kleinlumiger verglichen mit dem umlie-

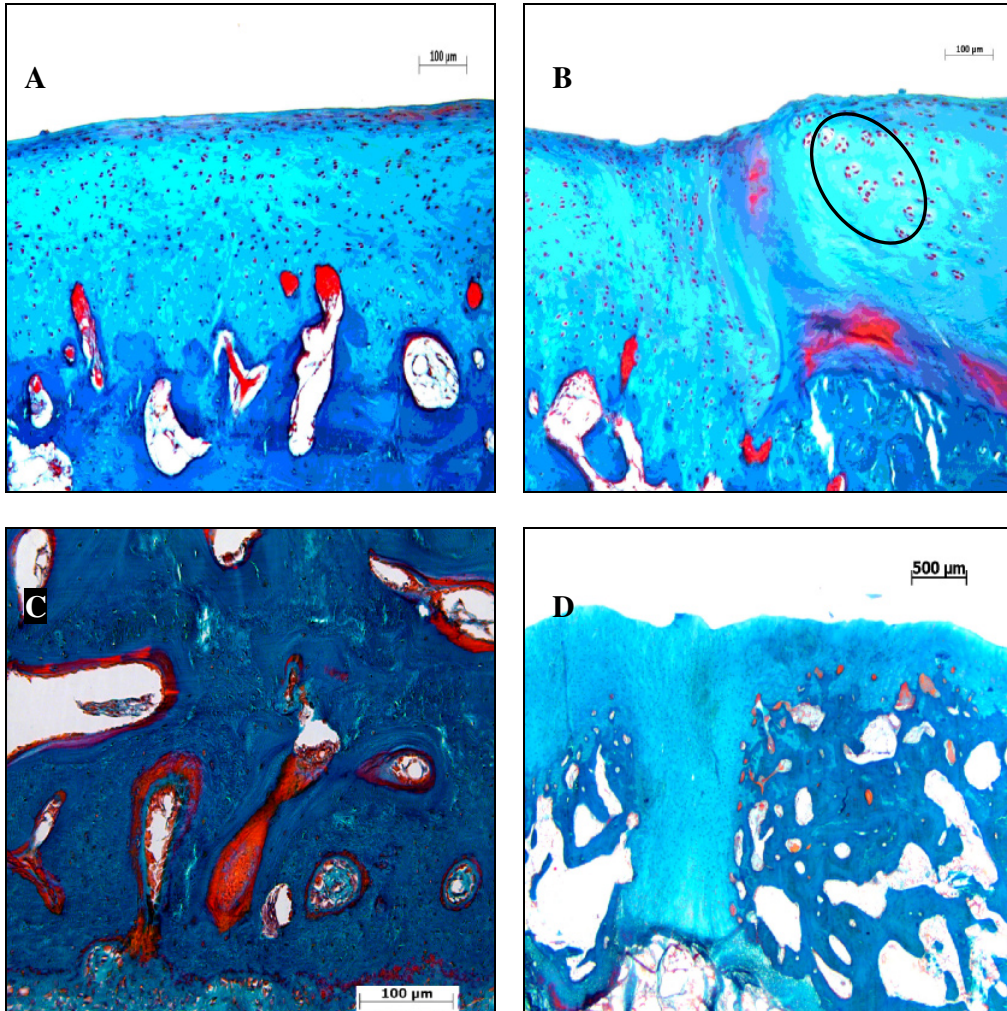
genden Knochengewebe (Abb. 33 C). Die vornehmliche Trabekelausrichtung ließ eine beginnende Längsorientierung senkrecht auf die Gelenkoberfläche erkennen. Parallel dazu stellten sich die einzelnen trabekulären Strukturen immer noch deutlich verdickt dar. Die in allen Präparaten zu beobachtende enchondrale Ossifikation, welche sich primär in den lateralen Randbereichen der Implantate vollzieht, bewirkte eine beginnende knöcherne Integration.

4.4.4 Versorgung mit hartem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach sechs Monaten

Auch in dieser Gruppe war der ehemalige Defektbereich noch eindeutig zu identifizieren. Die Versorgung osteochondraler Defekte mit Hilfe eines harten Poly-D,L-Lactid-Implantates zeigte in allen Präparaten eine vollständige Rekonstruktion der Gelenkoberfläche (Abb. 30 D; Abb. 33 D). Allerdings konnte parallel dazu nur in zwei Fällen eine durchgehende Rekonstruktion der subchondralen Lamelle verzeichnet werden. Wie zuvor in der Gruppe Polyweich beschrieben, erschien auch hier die subchondrale Lamelle sklerosiert und unorientiert. Jedoch waren in dieser Gruppe die Veränderungen wesentlich geringer ausgeprägt. Der neu gebildete Knorpel zeichnete sich im Vergleich zum umliegenden Gewebe wesentlich schmaler ab (Abb. 30 D). Er zeigte Ähnlichkeiten im Erscheinungsbild bezüglich der Knorpelbildung und den Degenerationsanzeichen verglichen mit der Gruppe Polyweich mit einer Standzeit von sechs Monaten. Die fibrocartilaginäre Gelenkoberfläche wies bei allen Präparaten deutliche Unebenheiten (Abb. 33 D), Fibrillationen und tiefe Risse unterschiedlichen Ausmaßes auf, die sich zum Teil bis in den angrenzenden Knochen erstreckten. Auffällig war in dieser Gruppe in zwei Präparaten das Auftreten von zwei unterschiedlich großen Hohlräumen, die von einer bindegewebigen Membran umschlossen waren und somit gleichzeitig gegen die umliegende knöcherne Struktur in der Tiefe abgekapselt waren. Die Ausführungsgänge dieser mit Flüssigkeit und Bindegewebe gefüllten Hohlräume mündeten auf der Gelenkoberfläche. Optisch war wesentlich mehr Scaffoldmaterial von einer kompakteren Struktur basal vorzufinden verglichen mit der anderen sechs Monatsgruppe (Abb. 30 D). Bedingt durch die von allen Seiten einsetzende enchondrale Ossifikation in den Randbereichen des Implantates konnte eine basale und laterale knöcherne Integration in allen Fällen beobachtet werden. In einem Präparat schien sich eine bindegewebige Membran um das noch nicht resorbierte Scaffoldmaterial zu formieren (Abb. 34 A). Das knöcherne kompakte Rahmenkonstrukt, welches das Implantat umschloss, zeigte ebenfalls eine deutlich verdickte, unregelmäßige und auch nach einem Zeitraum von sechs Monaten unorientierte trabekuläre Struktur mit verdickten Trabekeln. Die Knochendichte erschien in diesem umschriebenen Bereich höher als im benachbarten unver-

änderten knöchernen Gewebe. Die trabekuläre Ausrichtung in Längsrichtung war in dieser Gruppe wesentlich deutlicher wahrnehmbar als in der Gruppe Polyweich zum selben Zeitpunkt.

Abb.: 33

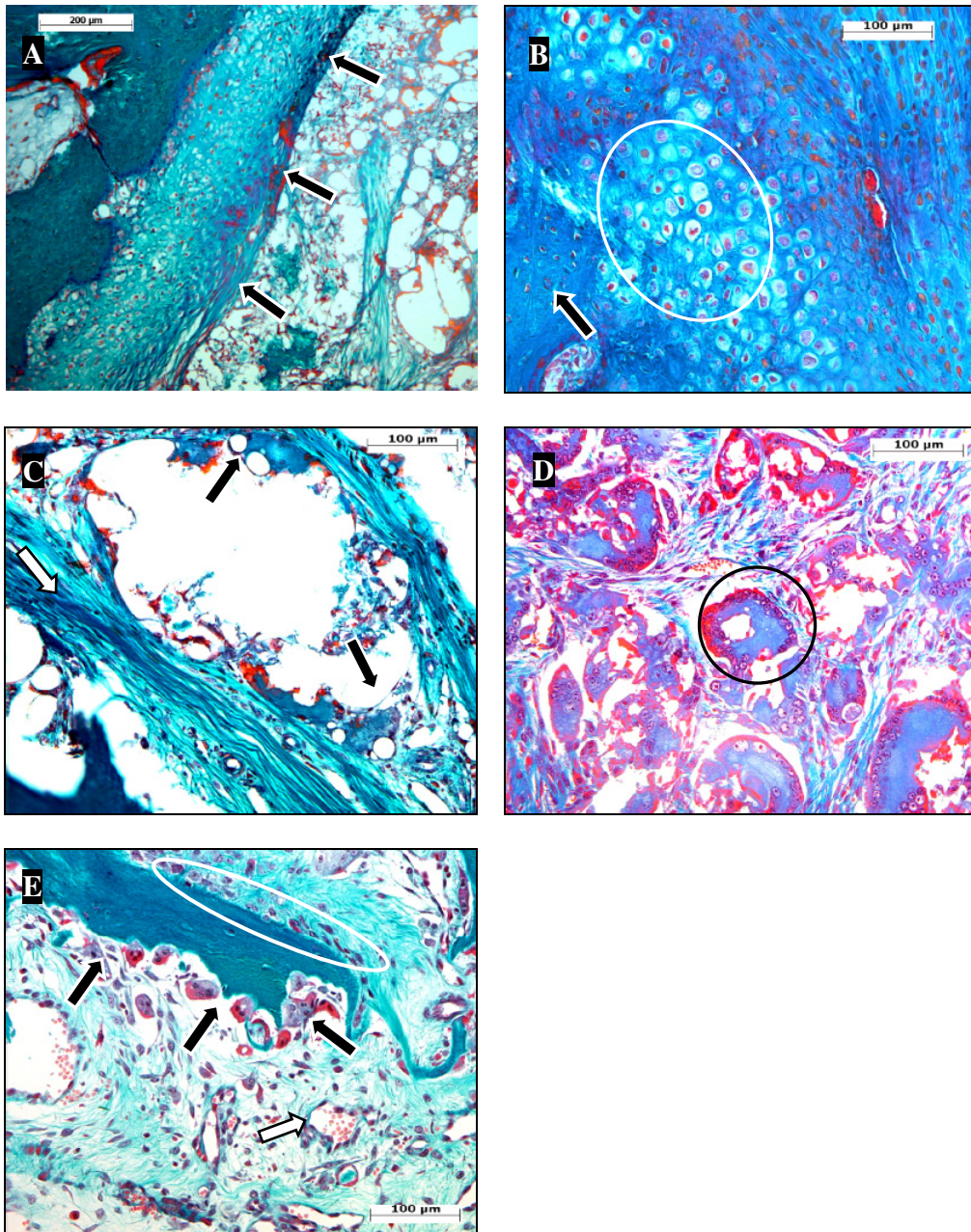


A: neugebildetes hyalinartiges Regenerat mit unregelmäßiger subchondralen Lamelle (Polyweich nach sechs Monaten, Masson-Goldner, scale bar (s.b.) 100 μm); **B:** Übergang vom zellreichen Regenerat (links) mit Verlust der typischen säulenförmigen Knorpelstruktur zum angrenzenden gesunden Knorpel (rechts) mit zahlreichen Chondrozytenclustern (Ellipse) (Polyweich nach sechs Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 μm); **C:** kompakte Knochenneubildung mit kleinlumigen Knochenlakunen in der Tiefe des Defektes (Polyweich nach 6 Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 μm); **D:** bis auf das Gelenkniveau aufgefüllter Defekt mit unregelmäßiger Oberfläche, deutlich erkennbar das knöcherne aufeinander Wachsen der Defektränder und die zum Teil bindegewebige Auf-füllung (Polyhart nach sechs Monaten, Masson-Goldner, s.b. 500 μm).

4.4.5 Histologische Besonderheiten bei der Versorgung mittels Poly-D,L-Lactid-Implantat

Die nachfolgenden histologischen Ausführungen beziehen sich auf die Präparate, bei denen die Versorgung mittels Poly-D,L-Lactid-Implantat erfolgte. In direkter Umgebung der noch nicht degradierten Scaffoldpartikel war eine diffuse Akkumulation von Makrophagen, Fremdkörperriesen- und Entzündungszellen zu beobachten (Abb. 34 C, D). Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen, die direkt die Oberfläche der Scaffoldpartikel angreifen, phagozytieren einzelne Degradationsprodukte der Poly-D,L-Lactid-Implantate (Abb. 34 C). Aus diesem Grund konnten inkorporierte Scaffoldpartikel in diesen Zellen nachgewiesen werden. Entzündungsreaktionen, lokalisiert in der näheren Umgebung der Poly-D,L-Lactid-Implantate manifestierten sich durch das gehäufte Auftreten von Neutrophilen- Granulozyten und kleinen Lymphozyten. In diesen Zusammenhang sei auch die Fremdkörperreaktion zu erwähnen, die durch aktivierte Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen vermittelt wird (Abb. 34 D). Die Akkumulation dieser speziellen Zellen ist assoziiert mit der Anwesenheit und der räumlichen Nähe zu kleineren Gefäßen (Abb. 34 D), die sich im Zuge der Regeneration in der Tiefe des Defektes neu gebildet haben. Die Mehrzahl der Poly-D,L-Lactid-Implantate nach sechs Monaten war zum einen von bindegewebigen Septen durchzogen (Abb. 34 C) und zum anderen abschnittsweise von einer bindegewebigen Membran eingekapselt (Abb. 34 A). Diese dünnen, aus lockerem Bindegewebe bestehenden Septen mit einem teilweise parallelfaserigen Verlauf durchzogen größtenteils das gesamte Implantat. Förderlich schien hierbei die offenporige poröse Struktur der Scaffolds. Die häufig nachgewiesene dünne bindegewebige Membran, gebildet aus Fibroblasten und Histozyten, formierte sich direkt um die Implantate und schirmte diese von dem angrenzenden mineralisierten Knochen ab. Gleichzeitig ließen sich auch Abschnitte erkennen mit direktem Kontakt zwischen dem Poly-D,L-Lactid-Implantat und neu gebildetem angrenzenden mineralisierten Knochen. Vereinzelt waren in der Tiefe der lateralen Defektränder blutgefüllte Gefäße zwischen den einzelnen Knochentrabekeln und im Bindegewebe erkennbar. In den Randbereichen befanden sich, den Rändern der Lakunen direkt anliegend, Osteoblasten und einige Osteoklasten (Abb.34 E). Die Osteoblasten siedelten sich in direkter Umgebung zum Knochen an und bildeten unverkalktes Osteoid. Hingegen erweiterten die Osteoklasten durch Resorption die Knochenlakunen. Auch hier konnte die Nähe zu kleineren Gefäßen beobachtet werden (Abb. 34 E).

Abb.: 34



A: Scaffold in der Tiefe des Defektes von bindegewebiger Kapsel (Pfeile) umgeben (Polyhart nach 6 Monaten, Masson-Goldner, s.b. 200 µm); **B:** enchondrale Ossifikation im dorso-lateralen Randbereich, Blasenknorpel in säulenförmiger Anordnung (Ellipse), Osteozyten im Osteoid eingeschlossen (Pfeil) (Polyweich nach drei Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 µm); **C:** einzelne Scaffoldpartikel im lateralen Randbereich des Implantats von parallelfaserigen bindegewebigen Septen (weißer Pfeil) durchzogen, Makrophagen mit inkorporierten Scaffoldpartikeln (schwarze Pfeile) an der Oberfläche des Scaffolds (Polyhart nach sechs Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 µm); **D:** Fremdkörperreaktion charakterisiert durch Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen (Kreis), die direkt an den Scaffoldpartikel angreifen und diese auch z. T. phagozytiert haben; lockeres Bindegewebe und kleinere Gefäße füllen den Zwischenraum (Polyhart nach drei Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 µm); **E:** in der Tiefe des Defektes; Osteoblasten in direkter Umgebung zum Osteoid (Ellipse), Osteoklasten (schwarze Pfeile) erweitern die Knochenlakunen zudem einige Gefäße (weißer Pfeil) und lockeres Bindegewebe (Polyhart nach sechs Monaten, Masson-Goldner, s.b. 100 µm).

4.4.6 unversorgter osteochondraler Defekt nach drei Monaten

Erhebliche interindividuelle Variabilitäten waren sowohl innerhalb der Gruppe als auch zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf die Regeneration der unversorgten osteochondralen Defekte zu verzeichnen. Nach einer Standzeit von drei Monaten waren in beiden Gruppen die ursprünglichen Defektbereiche noch eindeutig zu identifizieren (Abb. 31 A, B). Bei einem Präparat aus der Gruppe mit weichem Poly-D,L-Lactid-Implantat war der Bohrkanal auf einer Seite im oberen Randbereich eingebrochen. Ein Teil des angrenzenden gesunden Knorpels wie auch der darunter befindliche Knochen waren abgebrochen und in das Bohrloch eingebrochen, dadurch verbreiterte sich der ursprüngliche Defektbereich. Jede Gruppe wies jeweils drei Präparate auf, die eine vollständige Auffüllung bis zum Niveau der Gelenkoberfläche erfahren haben (Abb. 31 B). Das synthetisierte Gewebe war von unterschiedlicher Qualität, während der überwiegende Anteil mit lockerem Bindegewebe gefüllt war (Abb. 31 A), konnte bei insgesamt drei Defekten eine vermehrte Knochenneubildung (enchondrale Ossifikation) im dorsalen Randbereich beobachtet werden (Abb. 31 B).

Die Defektmitte vorallem bindegewebig aufgefüllt, war charakterisiert durch Fibrozyten, die einerseits lockeres, andererseits straffes faserreiches Bindegewebe produzierten. Der Faserverlauf verlief hauptsächlich senkrecht zur Gelenkoberfläche (Abb. 32 F). Das den Defektbereich auffüllenden neugebildeten Gewebe war in der Gruppe Polyweich hauptsächlich geprägt von hypervaskulärem Bindegewebe, verglichen mit der Gruppe Polyhart, die eine erhöhte enchondrale Ossifikation erkennen ließ. Die neu gebildete Regeneratoberfläche von faseriger Struktur war unregelmäßig und geprägt von tiefen Rissen und Fibrillationen. In einigen Randbereichen sah es so aus, als ob der Knorpel in den Defekt hinein flösse (Cartilage flow) (Abb. 32 D). Grundsätzlich ließ sich ein Aufeinanderwachsen der Defektränder verzeichnen (Abb. 31 B), charakterisiert durch beginnende knöcherne Zubildung in allen bis auf zwei Präparaten. Eine Vereinigung der beiden aufeinander zu wachsenden knöchernen Zubildungen, im Sinne einer vollständigen Brückenbildung, war vor allem in der Gruppe Polyweich in zwei Fällen feststellbar. In der gleichen Gruppe war bei einem Präparat in der Tiefe ein mit Bindegewebe gefüllter Hohlraum zu verbuchen (Abb. 31 B). Der subchondrale Knochen schien in allen Präparaten in unmittelbarer Nähe zum Defekt verdickt. Die beginnende trabekuläre Ausrichtung im neu gebildeten Knochen schien ungeordnet, die einzelnen Trabekel wirkten verdickt und die Zwischenräume enthielten vereinzelt Bindegewebe (Abb. 31 B). In einigen Fällen war die Knochenstruktur im basalen Bereich zum Teil aufgelockert und von großen Lakunen geprägt. Inflammatorische Anzeichen in Form von Fremdkörperriesenzellen waren in keiner

Gruppe vertreten. Jedoch konnte eine vermehrte Ansammlung von Neutrophilen-Granulozyten in den basalen und lateralen Bereichen assoziiert mit dem Auftreten kleinerer Gefäßen vorgefunden werden.

4.4.7 unversorgter osteochondraler Defekt nach sechs Monaten

Auch nach sechs Monaten waren in beiden Gruppen und allen Präparaten die ehemaligen Defektbereiche eindeutig zu erkennen. Die Rekonstruktion der Gelenkoberfläche bis auf das umliegende Niveau gelang bei zehn von zwölf Präparaten (Abb. 31 D). Dabei präsentierte sich die Oberfläche des knorpelähnlichen Regenerates als extrem unregelmäßig von deutlichen Rissen durchzogen (Abb. 32 E). Das Regenerat erscheint wesentlich dünner als der umliegende hyaline Knorpel (Abb. 31 D). Die darunter befindliche subchondrale Lamelle wies in allen Präparaten Sklerosierungen auf, erkennbar an einer verdickten, kompakteren und unorientierten knöchernen Struktur (Abb. 31 C). Ein vollständiger Schluss der Lamelle war nur in vier Fällen der Gruppe Polyweich vor zu finden. Die Tendenz zur Brückenbildung im dorsalen Bereich der Defektränder war in den übrigen Präparaten nachvollziehbar und größtenteils bis auf kleinere Bindegewebsabschnitte bereits erfolgt. Der wesentliche Anteil der Präparate wies eine ungeordnete aufgelockerte knöcherne Auffüllung des Defektes beginnend von basal und lateral auf. Die trabekulären Strukturen im neu gebildeten Knochen stellten sich ebenfalls verdickt dar (Abb. 31 C). Die zu beobachtenden Knochenlakunen schienen kleinlumiger verglichen mit dem angrenzenden Knochengewebe. Weiterhin war in insgesamt sechs Präparaten trotz geschlossener subchondraler Lamelle ein in der Tiefe zu lokalisierender Hohlraum unterschiedlichen Ausmaßes zu sehen (Abb. 31 D), der nur vereinzelt Bindegewebe enthielt. Eine membranöse Auskleidung war nicht zu erkennen.

4.5 Ergebnisse der Histomorphometrie

Die histomorphometrische Auswertung basiert auf den in der Bildanalyse ermittelten Ergebnissen. Die nachfolgenden Ergebnisse hinsichtlich der einzelnen Gewebeanteile beziehen sich auf die in Kapitel 3.9 definierte ROI. Der Defektbereich wird von ROI A und ROI B repräsentiert. In die Auswertung gehen sechs Tiere pro Gruppe ein. Aus der Gruppe II mit einer Standzeit von drei Monaten, versorgt mit einem harten Poly-D,L-Lactid-Implantat, fließen nur vier Präparate in die Auswertung ein. Da auf Grund der geringen Gruppengröße von einer Normalverteilung der Werte nicht ausgegangen werden konnte, erfolgte die Darstellung sämtlicher Werte der histomorphometrischen Auswertung als Mediane. Die Ergebnisse wurden

mittels Boxplots dargestellt und beschränken sich auf ROI A und ROI B. Sie zeigen grafisch die Lage und die Verteilung der Werte einer Variablen auf. Die Boxplotdarstellung skizziert den Median, das 25- und 75-Prozentperzentil sowie den Minimum- und Maximalwert. Sämtliche Werte außerhalb dieses Bereiches werden als Ausreißer- bzw. Extremwerte charakterisiert. Die Entfernung der Ausreißer zur dargestellten Box beträgt zwischen dem 1,5fachen und dem 3fachen der Boxhöhe. Extremwerte liegen dagegen mehr als das 3fache der Boxhöhe über dem 75 Prozentperzentil bzw. unter dem 25 Prozentperzentil.

Die histomorphometrische Auswertung der einzelnen Gewebeflächen im Defektbereich wird im Folgenden nach drei und sechs Monaten Standzeit getrennt vorgenommen. Die geringen interindividuellen Variabilitäten innerhalb der gesunden (nativen) Präparate ermöglichen die Zusammenfassung der Proben jeweils zu drei und sechs Monaten Standzeit und dienen hier als Referenzwerte. Die histomorphometrische Analyse bezieht sich im Folgenden auf die Gewebeanteile mineralisierter Knochen, Bindegewebe, Knorpel und auf den noch nicht degradierten Scaffold. Zusätzlich findet die nicht aufgefüllte Fläche im Defektbereich (Leerfläche) Berücksichtigung. Nachfolgend werden ausschließlich die Ergebnisse der prozentual gemittelten Gewebeverteilungen der ROI A und B betrachtet und die Regenerationsfortschritte der einzelnen Gruppen mit den nativen Werten (Referenzwert) verglichen.

Die nativen Präparate wiesen nach drei Monaten einen mineralisierten Knochenanteil von 46%, ein Bindegewebeanteil von 0,3% und 14% Knorpel für ROI A (Abb. 35; Abb. 36; Abb. 37) auf, hingegen war ROI B nur mit mineralisiertem Knochengewebe von 34% vertreten (Abb. 40).

Nach drei Monaten waren die versorgten Defekte der Gruppe Polyweich zu 80% aufgefüllt, die Gruppe Polyhart erreichte mit 93% fast eine nahezu vollständige Auffüllung des Defektes (Abb. 39). Die ROI A der Gruppe Polyweich ließ einen mineralisierten Knochenanteil (Abb. 35) von 15% (Gruppe Polyhart: 24%) und einen Knorpelanteil (Abb. 37) von 12% (Gruppe Polyhart: 12%) verbuchen. Somit entsprachen die prozentual ermittelten Werte für den Parameter Knorpel in beiden Gruppen denen der nativen Präparate. Die Gruppe Polyhart war geringgradig der anderen Gruppe überlegen im Hinblick auf den flächenmäßigen Anteil an mineralisiertem Knochen, jedoch blieben sie deutlich hinter denen der nativen Präparate zurück. Die übrigen Parameter der ROI A wiesen für beide Gruppen ähnliche Tendenzen auf, die sich verglichen mit den nativen Werten in erheblichen Abweichungen auszeichneten. Auffällig war hierbei die massive Bindegewebeauffüllung (Abb. 36) von 34% (Gruppe Polyhart:

21%) und der geringfügige Anteil an nicht degradiertem Scaffoldmaterial (Abb. 38) von 0,1% (Gruppe Polyhart: 2%).

In ROI B stellten sich erhebliche prozentuale Unterschiede zwischen den beiden Gruppen bezüglich der einzelnen Parameter heraus. Der prozentuale Anteil an mineralisierten Knochen war in der Gruppe Polyweich mit 7% geringgradig niedriger als mit 10% bei den Polyhart zum selben Zeitpunkt (Abb. 40). Die Gruppe Polyweich wies höhere prozentuale Gewebeanteile für die Parameter: Bindegewebe (Abb. 41) mit 61% (Gruppe Polyhart: 56%) und Knorpelgewebe (Abb. 42) mit 1% (Gruppe Polyhart: 0,1%) auf. Der Anteil an nicht degradierten Scaffold (Abb. 43) belief sich in der Gruppe Polyweich auf 3% verglichen mit der Gruppe Polyhart mit 4%.

Auf Grund der geringen interindividuellen Variabilitäten bei den unversorgten Defekten innerhalb der drei Monatspräparate war es auch in diesem Fall möglich, diese zusammenzufassen. Die Analyse der unversorgten Defekte zeigte Parallelen hinsichtlich der prozentualen Gewebeauffüllung verglichen mit den versorgten Defekten. Nach einem Zeitraum von drei Monaten war der ursprüngliche Defekt zu 80% aufgefüllt (Abb. 39). Die einzelnen prozentualen Gewebeanteile der ROI A verteilten sich wie folgt; es konnte ein Anteil an mineralisierten Knochen (Abb. 35) von 24% beobachtet werden, der Bindegewebsanteil (Abb. 36) betrug 32% und 7% entfielen auf den Parameter Knorpel (Abb. 37). Dabei lag der prozentuale Flächenanteil für Knochen geringfügig über den Werten der gefüllten Defekte, allerdings lag der ermittelte Flächenanteil des Knorpels deutlich unter denen der gefüllten Defekte.

Parallel dazu konnte in ROI B ein ähnliches Auffüllungsverhalten gesehen werden. Der Anteil des Knochens (Abb. 40) belief sich auf 28%, der des Bindegewebes (Abb. 41) auf 26% und der des Knorpels (Abb. 42) auf 0,3%.

Der prozentuale Anteil an mineralisiertem Knochen glich annähernd den nativen Werten und war denen der gefüllten Defekte deutlich überlegen. Im Gegensatz dazu war die bindegewebige Auffüllung wesentlich geringer ausgefallen, der prozentuale Flächenanteil für Knorpel entsprach eher den Werten der gefüllten Defekte, als denen der nativen Werte.

Die histomorphometrisch ermittelten Ergebnisse der nativen Präparate mit einer Standzeit von sechs Monaten zeigten Parallelen zu den drei-Monatswerten. Die Aufschlüsselung der einzelnen Gewebeanteile belief sich in ROI A wie folgt: mineralisierter Knochen 49%, Bindegewebe 0,1% und Knorpelgewebe 13% (Abb. 35; Abb. 36; Abb. 37). ROI B verzeichnete einen knöchernen Anteil von 39% und einem bindegewebigen Anteil von 0,1% (Abb. 40; Abb. 41).

Zum Zeitpunkt von sechs Monaten waren die mit einem biodegradierbaren Implantat versorgten Defekte mit 93% fast vollständig aufgefüllt (Abb. 39). Während sich für beide mit einem biodegradierbaren Implantat versorgten Gruppen zum Zeitpunkt von drei Monaten ein tendenziell ähnliches Auffüllverhalten abzeichnete, spiegelte sich dieses nach sechs Monaten nicht wider. Nachfolgende Ausführungen beziehen sich ausschließlich auf die Gruppe Polyweich. In dieser Gruppe war ein deutlicher prozentualer Anstieg der knöchernen Fläche auf 54% in ROI A festzustellen (Abb. 35). Der Parameter mineralisierte Knochen glich damit annähernd den nativen Werten für diesen Parameter. Der Defektbereich wies eine höhere Knochendichte in direkter Umgebung zum nicht degradierten Scaffold auf, verglichen mit der Gruppe Polyhart. Ein konträrer Verlauf der prozentualen Flächenanteile konnte für die bindegewebige Fläche beobachtet werden. Sie verzeichnete eine deutliche Reduktion mit nunmehr einem Anteil von 10% im Vergleich zu dem drei-Monatswert von 34%. Tendenziell konnte eine grobe Angleichung an die nativen Werte für diesen Parameter erzielt werden.

In der Gruppe Polyhart war ein konträres Auffüllungsverhalten hinsichtlich der Parameter Knochen und Bindegewebe verglichen mit der Gruppe Polyweich zum selben Zeitpunkt zu beobachten. Hervorzuheben sei, dass die vorherrschenden Gewebe mineralisierter Knochen mit einem Anteil von 31% und Bindegewebe mit einem Anteil von 25% fast zu gleichen Teilen vertreten waren (Abb.35; Abb.36). Sie entsprachen somit eher den drei-Monatswerten als den nativen Präparaten. Im Weiteren schlägt der Knorpelanteil der Gruppe Polyweich mit 9% im Vergleich zu 8% bei der Gruppe Polyhart zu Buche und blieb somit hinter den ermittelten Werten der drei-Monatswerte und auch hinter den der nativen Präparate zurück (Abb. 37). Zusätzlich konnte ein differentes Degradationsverhalten der Implantate zwischen beiden Gruppen beobachtet werden. Während in der Gruppe Polyweich ein Anteil von 1,2% noch nicht degradiertem Scaffold detektierbar war, belief es sich in der anderen Gruppe auf 2,4% (Abb. 38). Diese Tendenz konnte bemerkenswerter Weise auch in der ROI B nachvollzogen werden. Dabei stellte sich der weiche Scaffold mit 12% dar, während der harte Scaffold einen noch nicht degradierten Anteil von 19% aufwies. Diese Beobachtung verdeutlicht in ergänzender Weise die langsamere Degeneration des harten Scaffolds (Abb. 43).

In ROI B war der Anteil des mineralisierten Knochens 28% in der Gruppe Polyweich und sogar nur 15% bei den Polyharten feststellbar (Abb. 40). Auffällig war jedoch, dass in beiden Gruppen die bindegewebige Auffüllung in der ROI B (Polyweich: 37% und Polyhart: 34%) deutlich stärker ausgeprägt war als in ROI A (Abb. 41). Der Knorpelanteil als letzte zu betrachtende Komponente war in beiden Gruppen verschwindend gering (Polyweich: 0,1% und Polyhart: 0%) (Abb. 42). Die erhobenen Werte waren in keiner Weise mit den Werten der nativen Präparate vergleichbar.

Auch nach einem Zeitraum von sechs Monaten war bei den unversorgten Defekten nur eine Auffüllung von 93% wahrnehmbar. Die Gewebeverteilung des Parameters mineralisierter Knochen mit 47% entsprach in der ROI A (Abb. 35) tendenziell dem der nativen Werte bzw. dem der Gruppe Polyweich. Die prozentualen Anteile für den Parameter Bindegewebe und Knorpel waren eher im Bereich der beiden Füllungen anzusiedeln und lagen bei 11% und 10%. Nur der Anteil des Knorpels konnte tendenziell die nativen Werte erreichen. In der ROI B dominierte ebenfalls der knöcherne Anteil mit 35%, hingegen wies das Bindegewebe einen Anteil von 8% auf (Abb. 40, Abb. 41). Nur in Bezug auf den knöchernen Anteil entsprachen die ermittelten Werte annähernd den Werten der nativen Präparate. Der Anteil an Bindegewebe lag deutlich über den Werten der nativen Präparate.

Zusammenfassend ließ sich folgendes feststellen: im Laufe der Zeit nahm der knöcherne und knorpelige Anteil im Defektbereich zu, während der bindegewebige Anteil sich verringerte. Diese Tendenz ließ sich in der Gruppe Polyweich parallel zur Degradation der Implantate ableiten. Im Gegensatz dazu war nach sechs Monaten bei den harten Scaffolds kaum eine Zunahme des knöchernen Anteils bei gleichzeitiger Reduktion des Bindegewebes feststellbar. Zudem war noch eine nicht unerhebliche Menge an nicht degradiertem Scaffoldmaterial im Defektbereich lokalisierbar.

Die folgenden Grafiken skizzieren mit Hilfe von Boxplots die histomorphometrisch ermittelten Gewebekomponenten zu drei und sechs Monaten Standzeit, jeweils für ROI A und ROI B getrennt. Ausreißer- bzw. Extremwerte sind ausgeblendet. Eine Tabelle mit den Medianen sowie den Minimal- und Maximalwerten der jeweiligen Parameter für die untersuchten Gruppen findet sich im Anhang (Tab. 10; Tab. 11).

Abb. 35 Darstellung des mineralisierte Knochens in % an der Gewebefläche in ROI A für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

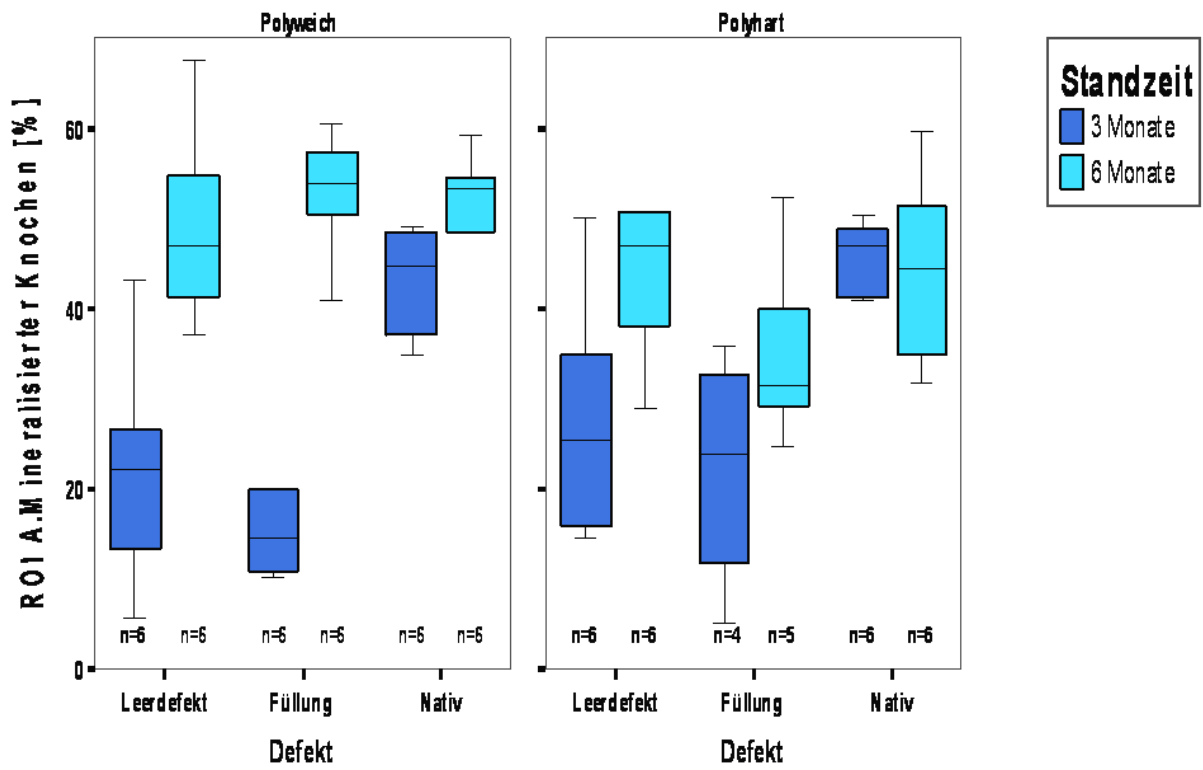


Abb. 36: Darstellung des Bindegewebsanteils in % an der Gewebefläche in ROI A für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

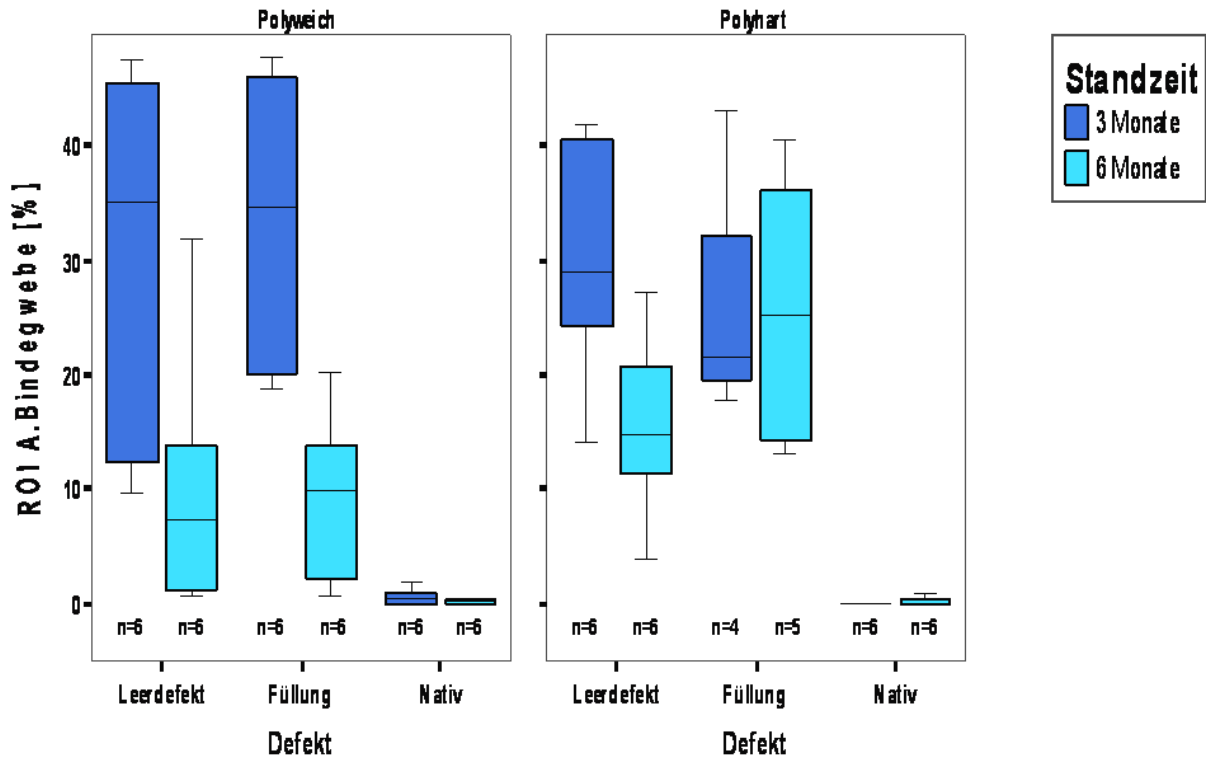


Abb. 37: Darstellung des Knorpelanteils in % an der Gewebefläche in ROI A für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

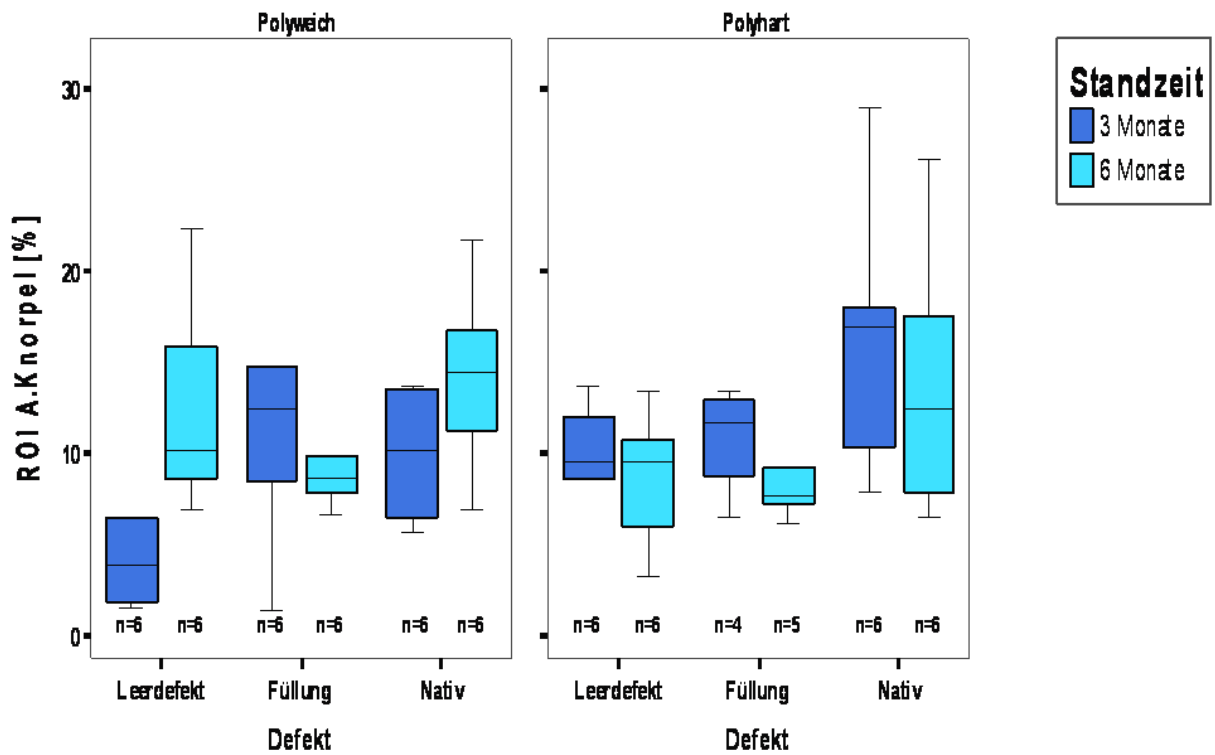


Abb. 38: Darstellung des Anteils nicht degradiertes Scaffold in % an der Gewebefläche in ROI A für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

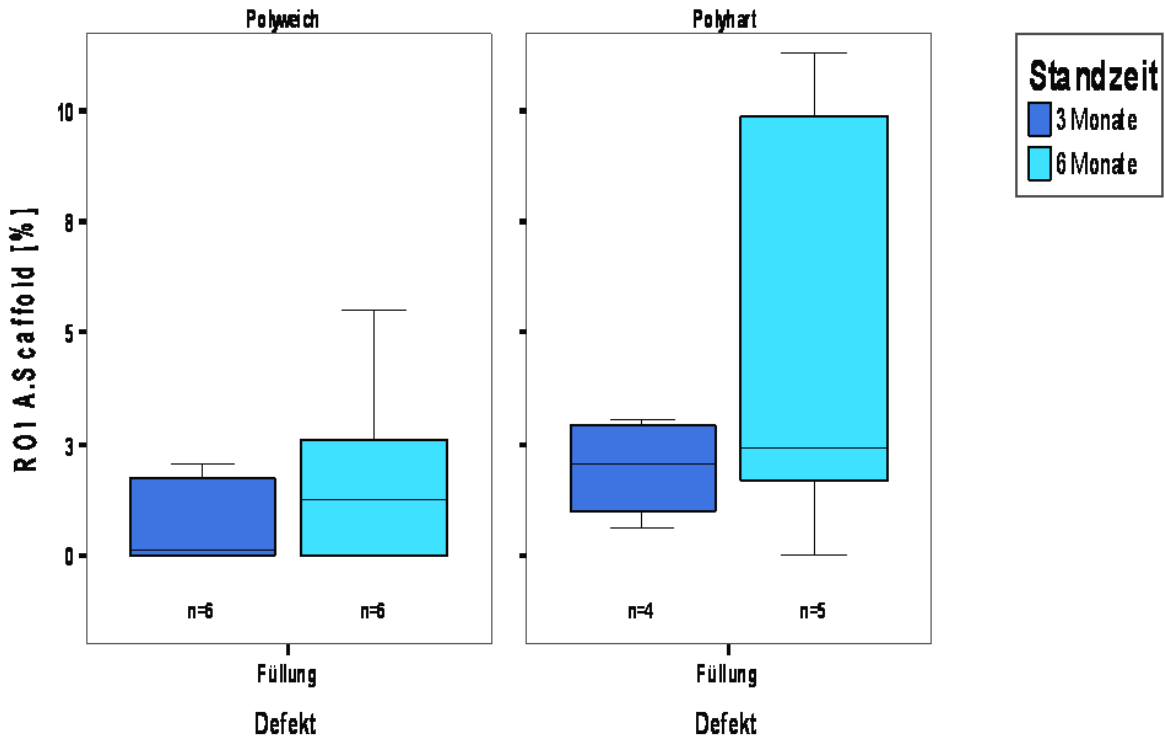


Abb. 39: Darstellung des Leerflächeanteils in % an der Gewebefläche in ROI A für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

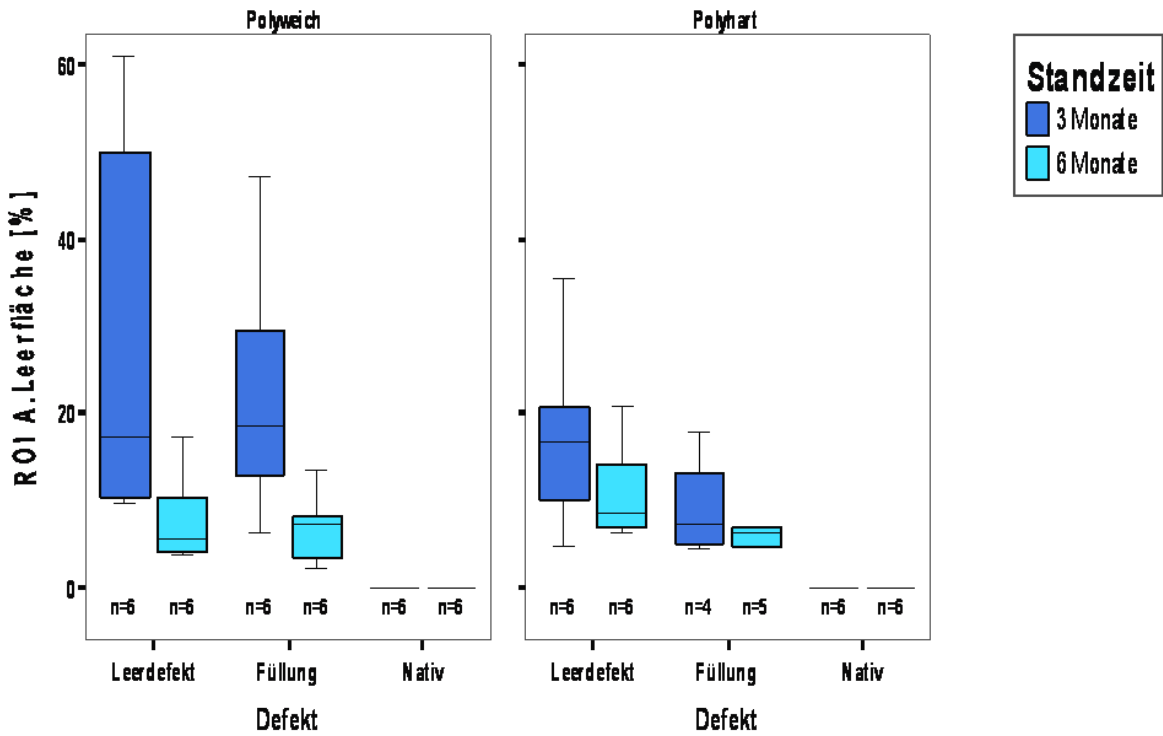


Abb. 40: Darstellung des mineralisierten Knochens in % an der Gewebefläche in ROI B für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

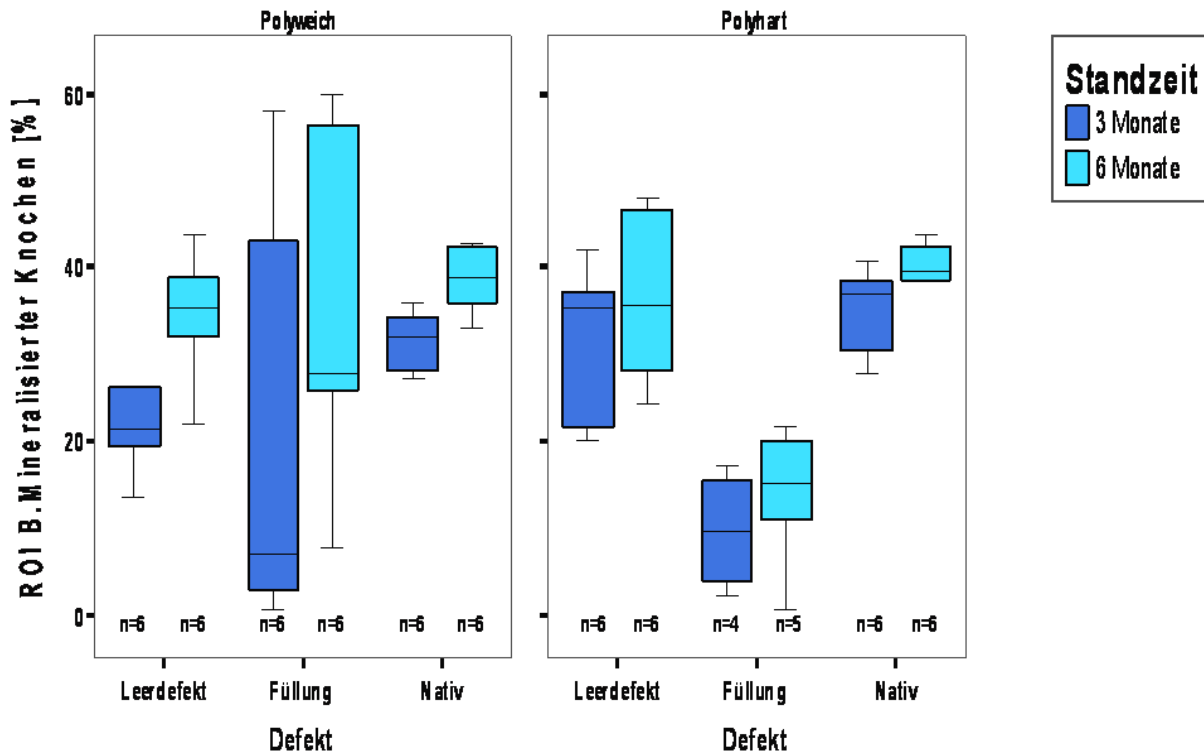


Abb. 41: Darstellung des Bindegewebsanteil in % an der Gewebefläche in ROI B für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

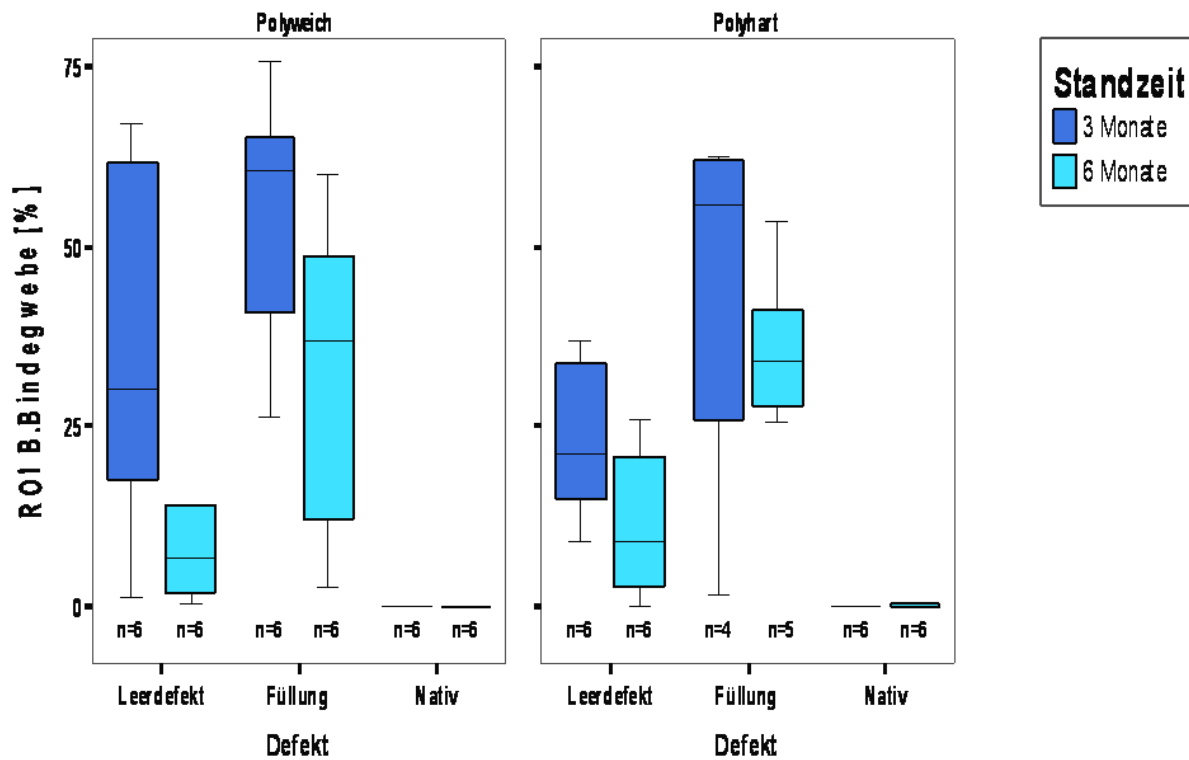


Abb. 42: Darstellung des Knorpelanteils in % an der Gewebefläche in ROI B für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.

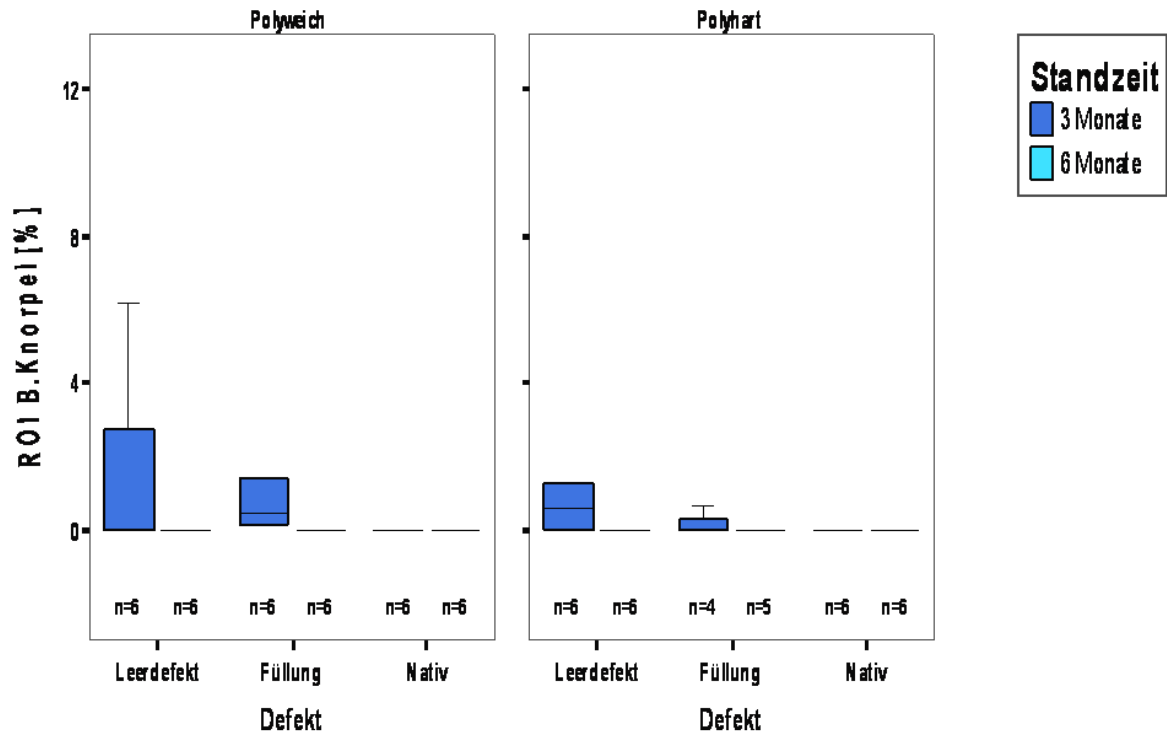
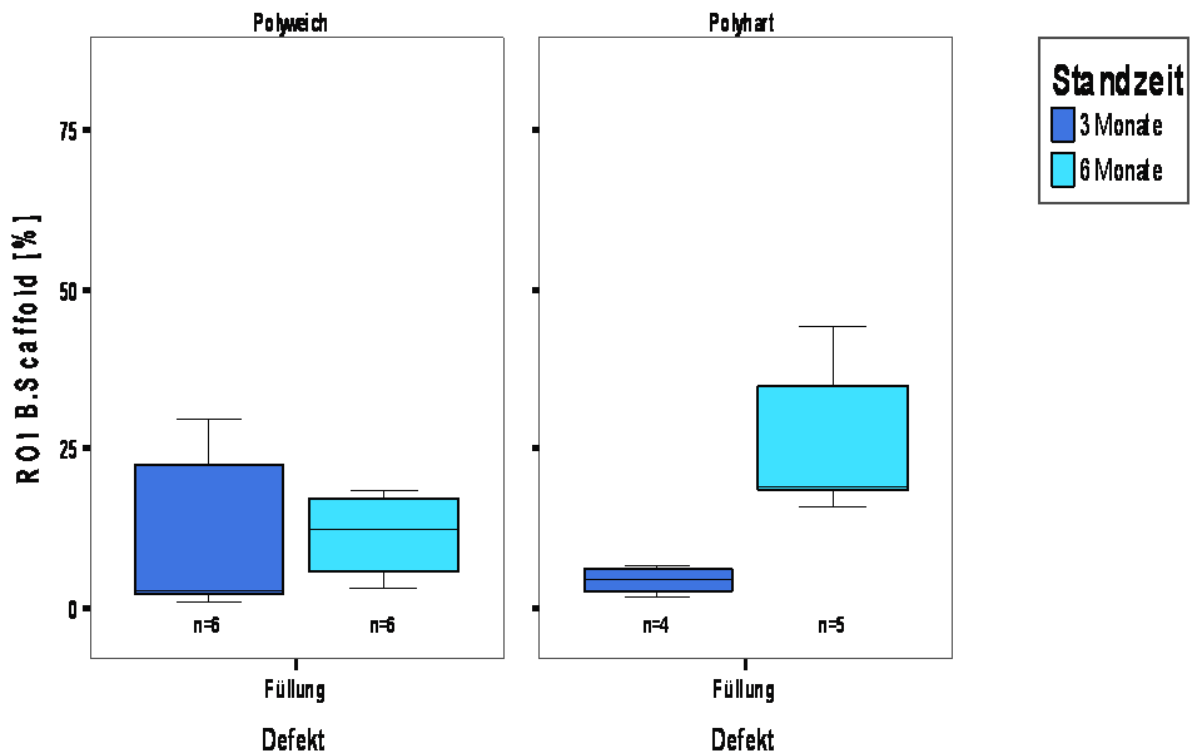


Abb. 43: Darstellung des Anteils nicht degradiertes Scaffold in % an der Gewebefläche in ROI B für alle Gruppen zu drei und sechs Monaten Standzeit. Boxplots skizzieren den Median.



4.6 Statistische Auswertung mit Hilfe des Mann-Whitney-Tests

Zur statistischen Auswertung wurde der nichtparametrische Mann-Whitney-Test, der keine normal verteilte Grundgesamtheit voraussetzt, zu Grunde gelegt. Die Zielsetzung dieses Testverfahrens dient dazu, aus den Beobachtungen einer Stichprobe Rückschlüsse auf bestimmte Zusammenhänge oder Variableneigenschaften in der Grundgesamtheit zu ziehen. Der Mann-Whitney-Test basiert auf der Betrachtung von Rangzahlen und überprüft die Hypothese, ob die beiden unabhängigen Stichproben derselben Grundgesamtheit entstammen. Die Anwendung dieses Testverfahrens auf die gewonnenen histomorphometrischen Daten diente einerseits der Untersuchung bezüglich des Einflusses der Standzeit innerhalb der Gruppen, andererseits wurde der Einfluss der Therapie zu beiden Zeitpunkten analysiert. Die Signifikanz wurde mit einem p-Wert von $p < 0,05$ zu Grunde gelegt. Die analytische Betrachtung erfolgte für ROI A und ROI B getrennt und befindet sich in tabellarischer Form im Anhang (Tab. 12; Tab. 13).

4.6.1 Vergleiche des Einflusses der Standzeiten innerhalb der Gruppen

In diesem Fall wurde als Gruppenvariable die Standzeit eingesetzt und dadurch analysiert, ob die Standzeit einen signifikanten Einfluss innerhalb der Gruppen ausübt. Die Betrachtung der Gruppenvariable Standzeit lieferte für die Tiere der Gruppe Polyweich mit einer Standzeit von drei Monaten einen signifikant höheren Anteil an Bindegewebe ($p=0,01$) in ROI A auf als die Tiere nach sechs Monaten Standzeit. Ähnlich verhielt es sich mit dem Anteil an Knorpel bezüglich ROI B ($p=0,02$). In der gleichen Gruppe konnte nach sechs Monaten ein signifikanter höherer Anteil an mineralisiertem Knochen ($p=0,06$) in ROI A vorgefunden werden.

Ansonsten waren noch signifikante Unterschiede in der Gruppe Polyweich bezüglich der Leerdefekte in Abhängigkeit der Standzeiten dokumentierbar. Nach drei Monaten Standzeit wiesen diese Präparate signifikant höhere Anteile an Bindegewebe ($p=0,037$) in ROI A auf als nach sechs Monaten Standzeit. Für die Parameter mineralisierter Knochen ($p=0,01$) und Knorpel ($p=0,037$) derselben ROI wurden nach sechs Monaten Standzeit signifikant höhere Anteile gemessen.

Die nachfolgenden statistischen Aussagen beziehen sich ausschließlich auf die Gruppe Polyhart. Der Mann-Whitney-Test zeigte nach sechs Monaten Standzeit in ROI B für den Anteil an nicht degradierbaren Scaffold mit einem p-Wert von $p=0,011$ einen signifikant höheren Anteil als nach drei Monaten. Weiterhin ließen sich signifikante Unterschiede für die Leerdefekte der Gruppe Polyhart feststellen. Die Leerdefekte dieser Gruppe zeichneten sich nach

drei Monaten durch signifikant höhere Bindegewebsanteile in ROI A aus verglichen zum Zeitpunkt von sechs Monaten ($p=0,028$). Bei allen anderen Gewebekomponenten war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Standzeiten feststellbar.

In den Nativpräparaten konnte kein signifikanter Unterschied der Gewebeanteile in Bezug auf die Standzeit festgestellt werden.

4.6.2 Vergleiche des Einflusses der Therapie innerhalb der Gruppen

In diesem Fall wurde als Gruppenvariable die Therapie eingesetzt. In diesem Falle zielte die Analyse darauf ab, den Einfluss der Therapie innerhalb der Gruppen herauszustellen, und auf Signifikanzen zu überprüfen. Die beiden Therapieformen unterschieden sich nach drei Monaten in keiner der aufgeführten Gewebekomponenten signifikant voneinander. Die Betrachtung nach sechs Monaten lieferte signifikante Unterschiede zwischen den beiden Therapieformen im Hinblick auf die Parameter mineralisierten Knochen und nicht degradiertes Scaffold.

Nach sechs Monaten Standzeit wurde in der Gruppe Polyweich sowohl in ROI A ($p=0,025$) als auch in ROI B ($p=0,025$) ein signifikant höherer Anteil an mineralisiertem Knochen festgestellt als in der anderen Gruppe. Zudem ließ sich ein signifikant höherer Anteil an nicht degradiertem Scaffoldmaterial in der Gruppe Polyhart zum Zeitpunkt von sechs Monaten verzeichnen ($p=0,025$). Es konnte zwischen den beiden Therapieformen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Anteils an hyalinen Knorpel festgestellt werden. Nach einem Beobachtungszeitraum von sechs Monaten kristallisierten sich im Hinblick auf die Leerdefekte keine nennenswerten signifikanten Unterschiede hinsichtlich der einzelnen Gewebekomponenten heraus, unabhängig von der Therapieform.

In den Nativpräparaten konnte kein signifikanter Unterschied der Gewebeanteile zwischen den Gruppen festgestellt werden.

4.7 Statistische Auswertung mit Hilfe des Wilcoxon-Tests

Der Wilcoxon-Test findet üblicher Weise Anwendung bei einem nicht parametrischen Vergleich zweier abhängiger Stichproben. Er basiert auf einer Rangreihe der absoluten Wertepaar-Differenzen und berechnet fallweise zu jedem Wertepaar die Differenzen. Dieser Test vergleicht die einzelnen Gewebekomponenten zwischen den Leerdefekten und den gefüllten Defekten aller Gruppen bezogen auf die ROI A und ROI B. Die analytische Betrachtung befindet sich in tabellarischer Form im Anhang (Tab. 14). Die Auswertung ergab in der Gruppe

Polyhart zu einem Zeitpunkt von sechs Monaten signifikante höhere Anteile für die Parameter mineralisierten Knochen ($p=0,028$) und Bindegewebe ($p=0,046$) in der ROI B, sowie die Gruppe Polyweich betreffend für den Parameter Bindegewebe ($p=0,046$) verglichen mit den Leerdefekten.

4.8 Ergebnisse des Scores

Anhand eines modifizierten semiquantitativen Scores nach dem Vorbild Wakitanis, modifiziert von Pineda (Wakitani et al., 1994) und nach O'Driscoll (O'Driscoll et al., 1988) wurden die mit Safranin-Orange / von Kossa, Safranin-Orange / Lichtgrün und Masson-Goldner gefärbten Präparate im Hinblick auf die Defekte, dies impliziert den gefüllten Defekt und den Leerdefekt, beurteilt und klassifiziert. Für jedes untersuchte Präparat wurde gemäß der Punkteverteilung des Auswertungsschemas ein Punktwert berechnet. Die nachfolgenden Ergebnisse wurden pro Präparat und Scorekriterium gemittelt und ausgewertet. Der Score, definiert in Kapitel 3.9, ist unterteilt in die beiden Abschnitte A (Punkte 1-7) und B (Punkte 8-12). Der Score A befasst sich mit der Bewertung und Quantifizierung des neu entstandenen Gewebes innerhalb des Defektbereichs, der sich daran anschließende zweite Abschnitt B mit der Integration des Implantats im umliegenden Gewebe. Dies ermöglichte eine umfassende Beurteilung des neu synthetisierten Gewebes. Die maximal erreichbare Gesamtpunktzahl beträgt 27 Punkte bei Score A und 12 Punkte bei Score B. Die nativen Präparate als Optimum erhalten die jeweilige Höchstpunktzahl. Anschließend wurden die Ergebnisse beider Versuchsgruppen unter Verwendung des Mann-Whitney-Tests und des Wilcoxon-Tests auf statistisch signifikante Unterschiede ($p<0,05$) hin untersucht.

Die Kriterien des Scores A umfassten den prozentualen Anteil hyalinen Knorpels an der Gelenkfläche, die Oberflächenbeschaffenheit, die strukturelle Integrität, die Knorpeldicke und die Verbindung zum umliegenden gesunden Knorpel sowie degenerative zelluläre Veränderungen im Bereich des Implantates und degenerative Veränderungen im umliegenden gesunden Knorpel. Weiterhin fand die Rekonstruktion des subchondralen Knochens, die Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und neuem subchondralen Knochen sowie die Safranin-Orange-Anfärbung Berücksichtigung.

In Score B erfolgte die Bewertung der Integration des Implantats im umliegenden Gewebe. Bewertungskriterien in diesem Fall waren die Defektauffüllung, die laterale und basale knöchernen Integration sowie die Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen.

4.8.1 Beschreibung der einzelnen Scoreparameter

Nach einer Heilungsdauer von drei Monaten bestand das den Defekt ausfüllende Gewebe zu meist aus Bindegewebe und neu gebildeten Knochen. Hin und wieder waren einzelne Knorpelinseln feststellbar. Die mit einem Implantat versorgten Defekte wiesen zusätzlich noch nicht degradiertes Scaffoldmaterial auf. Insgesamt zeichnete sich in den verschiedenen Gruppen kein einheitliches Bild hinsichtlich des Regenerationsverlaufes ab. Das erste Scorekriterium des Scores A beurteilt den prozentualen Anteil an neu gebildeten hyalinen Knorpel im Bereich der Gelenkoberfläche. Während der Median in den Gruppen der Leerdefekte bei 0 (Polyweich) und 2 (Polyhart) lag, fanden sich in den gefüllten Defekten Mediane von 2 (Polyweich) und 4 (Polyhart) nach einer Behandlungsdauer von drei Monaten. Nach einem Zeitraum von sechs Monaten waren bei den Leerdefekten mit einem Median von 2 keine Unterschiede erkennbar. Im Vergleich dazu nahm der prozentuale Anteil hyalinen Knorpels in beiden Gruppen Polyweich (Median von 3) und Polyhart (Median von 4) deutlich zu. Die strukturelle Bewertung des Defektbereiches unter Berücksichtigung der Oberflächenbeschaffenheit, der strukturellen Integrität, der Knorpeldicke und der Verbindung zum umliegenden Knorpel vereinen sich in dem zweiten Kriterium. Eine Regelmäßigkeit der Regeneratoberfläche war bei den Leerdefekten sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten mit einem Median von 1 nicht vorhanden. Die mit einem biodegradierbaren Implantat versorgten Defekte erreichten nach drei Monaten jeweils einen Median von 1 (Polyweich) und 2 (Polyhart) und entsprachen somit den Leerdefekten. Parallelen hinsichtlich dieser Beobachtungen ließen sich auch nach einem Beobachtungszeitraum von sechs Monaten ablesen, wobei die Gruppe Polyweich die höchsten Punktzahlen erhielt mit einem Median von 2 (Polyhart: Median von 1). Bei der Beurteilung der strukturellen Integrität hatten die unaufgefüllten Defekte im Durchschnitt mit einem Median von 0 die niedrigsten Punktzahlen, vergleichend dazu die versorgten Gruppen, welche mit einem Median von 1 geringgradig besser waren. Eine Angleichung der Punktzahlen mit einem Median von 1 nach sechs Monaten konnte in allen Gruppen gesehen werden. Eine strukturelle Integrität wie sie im intakten gesunden Knorpel vorherrschend ist, war nur in vereinzelt Präparaten erkennbar. Die Höhe des Regenerats nahm mit der Standzeit kontinuierlich zu. In den unbehandelten Defekten war zu beiden Beobachtungszeiträumen teilweise nur eine sehr dünne Knorpelschicht, nämlich weniger als 50% des normalen Knorpels, gebildet worden. Ein ähnlich schlechtes Ergebnis war lediglich bei der Versorgung mit einem weichem Poly-D,L-Lactid-Implantat nach drei Monaten erkennbar (Median von 0). Durch die Verwendung eines harten Poly-D,L-Lactid-Implantats konnte im Regenerat eine

Knorpeldicke zwischen 50% und 100% erreicht werden (Median von 1). Dieses Erscheinungsbild war hinsichtlich der Knorpeldicke von 50% bis 100% in allen Gruppen nach sechs Monaten feststellbar. Eine Verbindung des Regenerats zum umliegenden Knorpel zu beiden Seiten konnte lediglich in der Gruppe Polyhart zum frühen Zeitpunkt vorgefunden werden. Nach sechs Monaten wurden die mit einem Implantat versorgten Defekte (Median von 2) gegenüber den Leerdefekten (Median von 1) besser bewertet, gekennzeichnet durch einen nahtlosen Übergang zum angrenzenden Knorpel. Das dritte Kriterium beschäftigte sich mit den Anzeichen degenerativer Veränderungen im Defektbereich. Nach einem Zeitraum von drei Monaten erreichten die Mediane der Leerdefekte eine Punktzahl von 0 (Polyweich) und 1 (Polyhart), welche sich auch nach sechs Monaten nicht veränderten. Dem entsprechend waren sie durch das Auftreten von Chondrozytenclustern und Hyperzellularität charakterisiert. Die Mediane beider Implantatgruppen lagen bei einem Median von 1. Das synthetisierte Gewebe war von wenigen Chondrozytenclustern durchsetzt und von leichter Hypozellularität. Zum späteren Zeitpunkt war nur in der Gruppe Polyhart eine Veränderung auf einen Median von 0,5 zu verzeichnen. Das Erscheinungsbild des neusynthetisierten Knorples war geprägt von Chondrozytenclustern (>25%) und moderater Hypozellularität. Degenerative Erscheinungen im anliegenden intakten Knorpel waren in der Gruppe Polyhart mit einem Median von 2,5 bzw. in der Gruppe Polyweich mit einem Median von 3 nach drei Monaten zu beobachten. Die Leerdefekte wiesen einen Median von 3 zum frühen Zeitpunkt auf, nach sechs Monaten war in der Gruppe Polyweich ein Median von 2 (Polyhart: Median von 3) zu beobachten. Vereinzelt stellten sich degenerierte Chondrozyten dar, desgleichen einige Cluster bei normaler Zellularität. Im weiteren Verlauf wurde auf die Rekonstruktion der subchondralen Lamelle und auf die Verbindung zwischen regenerierten Knorpel und Knochenlamelle Bezug genommen. Eine vollständige Rekonstruktion der subchondralen Knochenlamelle nach drei Monate war in keiner einzigen Versuchsgruppe zu beobachten. Vor allem zum früheren Zeitpunkt fielen die Leerdefekte durch ihre unzureichende Rekonstruktion der subchondralen Lamelle negativ auf. Diese wurde zu weniger als 50% rekonstruiert. Wurden die Gruppen zu einem späteren Zeitpunkt miteinander verglichen so imponierten die mit einem Implantat versorgten Gruppen durch eine fast vollständige Rekonstruktion des subchondralen Knochens, ableitbar an einem Median von 1 in der Gruppe Polyweich und einem Median von 1,5 in der Gruppe Polyhart. Parallel dazu ließ sich vor diesem Hintergrund eine innige Verbindung zwischen regenerierten Knorpel und neu gebildeten subchondralen Knochen von mehr als 50% in allen Gruppen mit einem Median von 1 nachweisen. Die Ausnahmen bildeten die beiden Leerde-

fekte zu drei Monaten Standzeit (Median von 0), hier war die Verbindung zu weniger als 50% hergestellt. Als letztes Kriterium des Scores A wurde der Anfärbungsgrad der Knorpelmatrix mittels Safranin-Orange und damit die Beurteilung der Proteoglykankonzentration bewertet. Größtenteils wurde eine graduelle Zunahme der Farbintensität über die Zeit gesehen, die eine positive homogene Färbung von 40% bis 80% aufwies. Die Mediane der Leerdefekte lagen sowohl nach drei Monaten als auch nach sechs Monaten bei einem Wert von 1. Die Mediane für die gefüllten Defekte (Polyweich) lagen zum früheren Zeitpunkt bei 1 und zum späteren bei 1,5. Auffallend positiv war der Median von 2 in der Versuchsgruppe Polyhart zu beiden Standzeiten. Dieser erreichte als einziger die volle Punktzahl und zeichnete sich durch seine intensive Anfärbbarkeit (>80% positive homogene Anfärbung) respektive Proteoglykangehalt, ähnlich dem intakten gesunden Knorpel, aus.

Score B beschäftigte sich in seinem ersten Kriterium mit der Auffüllung im Defektbereich unabhängig von den einzelnen Gewebetypen. Der Vergleich zu drei Monaten zwischen den unversorgten und den versorgten Defekten erbrachte tendenziell ähnliche Ergebnisse. Die Leerdefekte und die Gruppe Polyweich wiesen eine durchschnittliche Auffüllung von 51% bis 75% auf (Median von 2). Höhere Punktwerte und Auffüllungsgrade (75% bis 90%) erzielte dabei die Gruppe Polyhart (Median von 3). Natürlich wirkte sich auch der zeitliche Verlauf positiv auf die Auffüllung aus, so dass nach sechs Monaten durchschnittlich eine Auffüllung von 90% bis 100% erreicht werden konnte unabhängig von der Versorgung. In der Bewertung der nächsten beiden Scorekriterien ging es um die basale und laterale knöchernen Integration. Im Laufe der Zeit kam es insgesamt in allen Gruppen zu einer kontinuierlichen Steigerung bezüglich der knöchernen Integrität. Die Gruppe Polyweich wies einen Median von 1 nach drei Monaten auf. Im Vergleich dazu war eine leichte Verbesserung nach sechs Monaten zu verbuchen mit einem Median von 2, die zu einer teilweisen Verbindung der lateralen Randbereiche geführt hatte. Ähnliche Tendenzen zeichneten sich auch in der Gruppe Polyhart ab. Die basale knöchernen Integration war im Bereich der Implantate wesentlich schlechter ausgebildet (<50%). Im Laufe der Zeit kam es auch bezüglich der basalen knöchernen Integration in allen Gruppen zu einer kontinuierlichen Steigerung. Die letzten beiden Scorekriterien befassten sich mit dem Auftreten von Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen. Das Regenerationsverhalten in Anbetracht dieser Bewertungskriterien differierte erheblich zwischen den Leerdefekten und den Implantaten. In den unbehandelten Defekten waren zum Teil mit einem Median von 1 nur sehr geringfügige Entzündungs- und so gut wie keine Fremdkörperreaktionen (Median von 1) feststellbar. Im Gegensatz dazu war in den mit Implantaten versorgten Defek-

ten nach drei Monaten eine geringe in der Gruppe Polyweich mit einem Median von 1 bis starke Entzündungsreaktion in der Gruppe Polyhart mit einem Median von 0,5 detektierbar, die im Laufe der Zeit in beiden Gruppen langsam abnahm (Median von 1). Begleitend dazu fand man in fast allen Präparaten die mit einem Implantat versorgt worden waren zu beiden Zeitpunkten Fremdkörperreaktionen (Median von 0).

Die anhand des Scores ermittelten Punktwerte der einzelnen Kriterien für Minimal- und Maximalwerte sowie der Medianen der jeweiligen Gruppen Polyweich und Polyhart zu den Standzeiten drei und sechs Monaten findet sich in tabellarischer Form im Anhang (Tab. 15; Tab. 16).

Es folgt die Darstellung der Gesamtsummen beider Scores einzeln als Mediane (Abb. 44; Abb. 45) sowie der Mediane aus den Summen beider Scores (Abb. 46) als Balkendiagramme. Die Erwähnung, dass keine Gruppe die maximalen Punktzahlen erreichen konnte, sollte vorweg getätigt werden. Die Analysen der Gesamtsummen für Score A ließ folgende Tendenz erkennen (Abb. 44): die mit einem Implantat versorgten Defekte wiesen zu allen Zeitpunkten den Erwartungen entsprechend im Mittel höhere Punktwerte auf als die unbehandelten Kontrollen. Die Gruppe Polyhart (Median von 17) erzielte im Vergleich zu der Gruppe Polyweich (Median von 10) zu drei Monaten höhere Punktzahlen. Vielversprechend gestalteten sich auch die Ergebnisse nach sechs Monaten. Die Leerdefekte verbesserten sich tendenziell auf einen Mediane von 13, blieben jedoch hinter den gefüllten Defekten zurück, welche einen Median von 17 (Polyweich) und 15 (Polyhart) erreichten. Diese Ergebnisse entsprachen mehr als der Hälfte der maximal möglichen Punktzahlen des Scores. Im Score B imponierten durchweg die Leerdefekte mit höheren Punktzahlen zu beiden Standzeiten (Abb. 45). Die Summe beider Scores, im Folgenden als Score Gesamt (Abb. 46) bezeichnet, wies zu drei Monaten Parallelen hinsichtlich des Regenerationsvermögens zwischen den Leerdefekten und der Gruppe Polyweich auf. Die Mediane der Leerdefekte lagen bei 14 (Polyweich) und 15 (Polyhart), die der Gruppe Polyweich ebenfalls bei 15. Positiv sei in diesem Zusammenhang die Gruppe Polyhart mit einem Median von 23 zu erwähnen. Auffällig erschien, dass die Beurteilung mit Hilfe des Scores Gesamt nach sechs Monaten kaum Unterschiede zwischen den Leerdefekten (Median Polyweich von 22,5 und Polyhart von 21) und der Gruppe Polyhart (Median von 22) ergab. Die Gruppe Polyweich erwies sich als positive Ausnahme mit einem Median von 25.

Abb. 44: Vergleich der Scoreergebnisse (Score A) zwischen Leerdefekt und gefülltem Defekt zu beiden Standzeiten; die Referenzlinie gibt die maximal zu erreichende Punktzahl an.

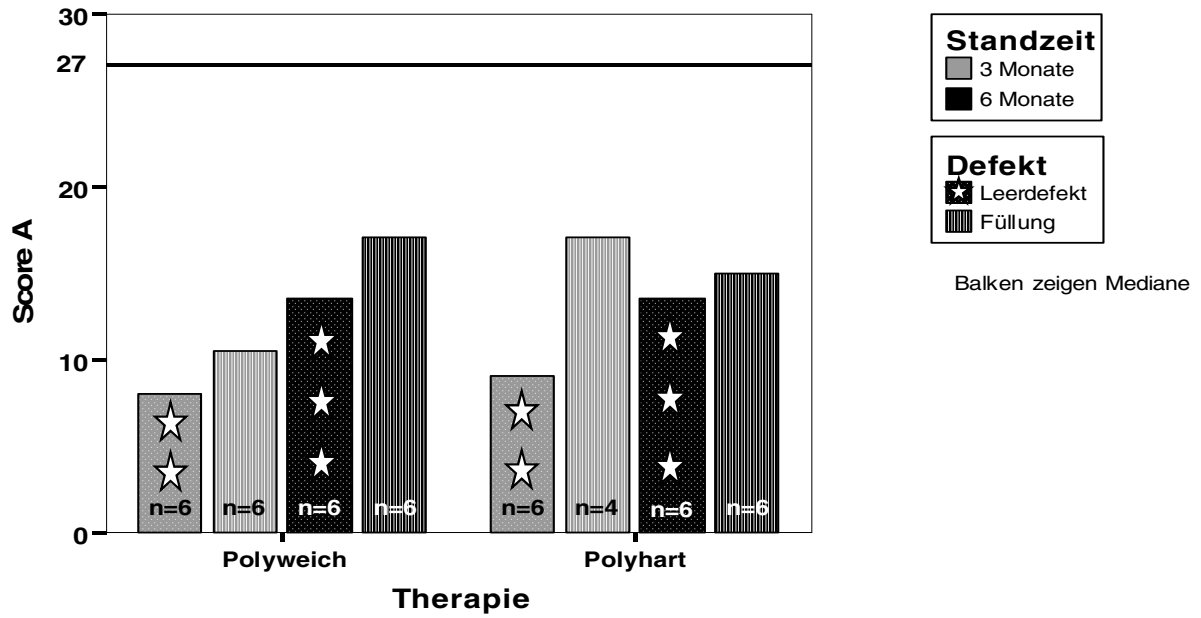


Abb. 45: Vergleich der Scoreergebnisse (Score B) zwischen Leerdefekt und gefülltem Defekt zu beiden Standzeiten; die Referenzlinie gibt die maximal zu erreichende Punktzahl an.

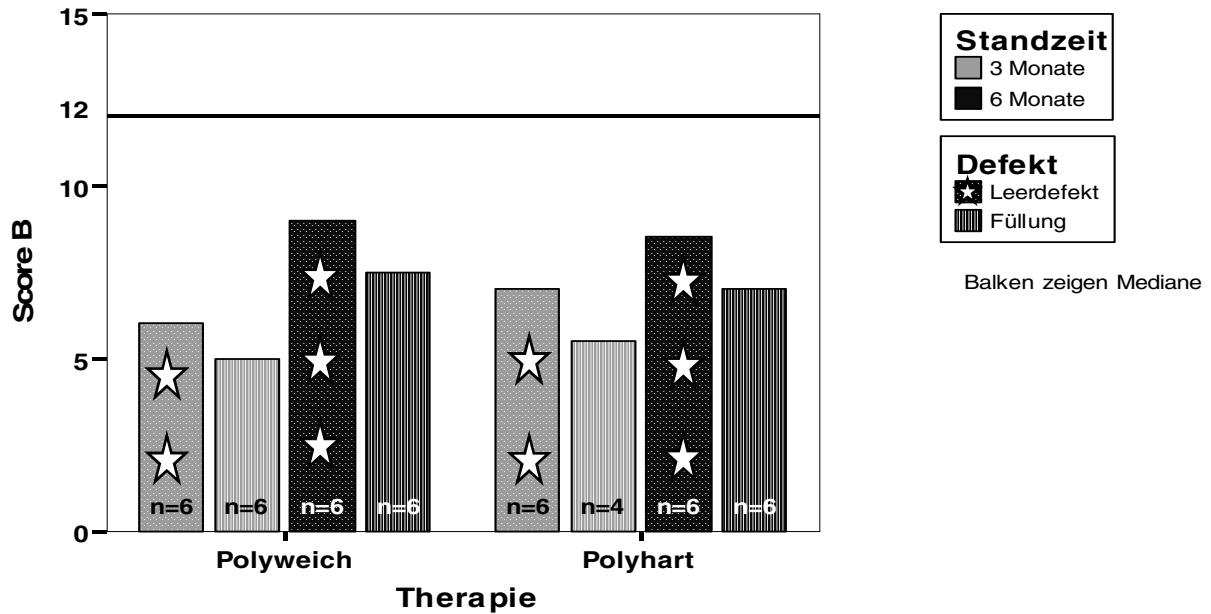
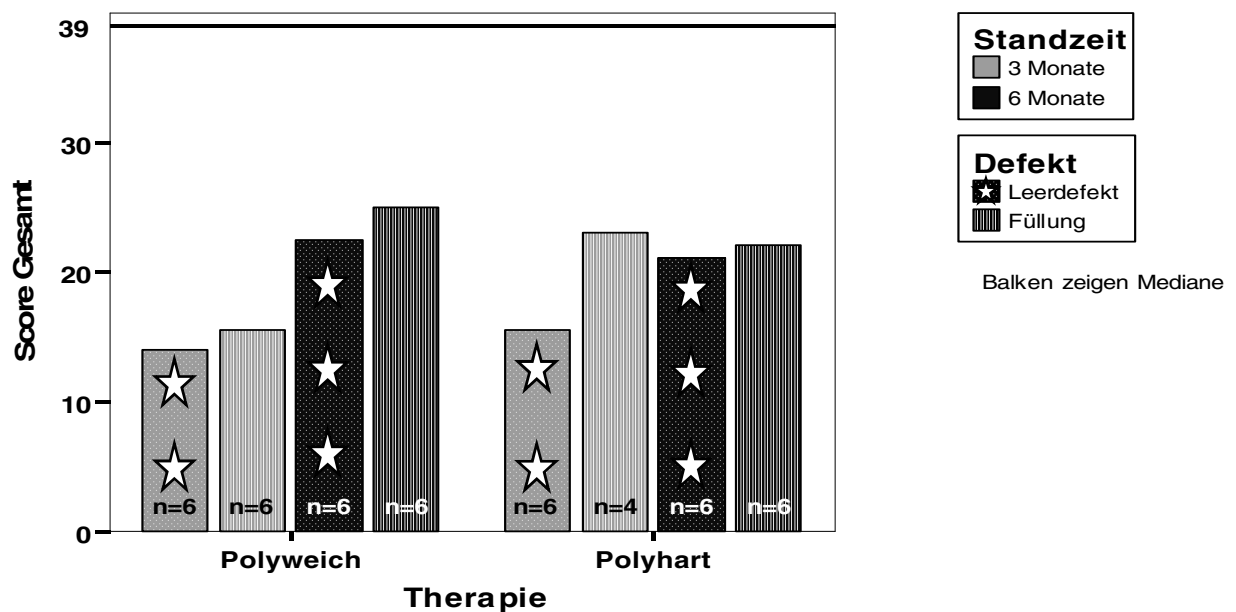


Abb. 46: Vergleich der Scoreergebnisse (Score Gesamt), bestehend aus Score A und Score B zwischen Leerdefekt und gefülltem Defekt zu beiden Standzeiten; die Referenzlinie gibt die maximal zu erreichende Punktzahl an.



4.8.2 Statistische Analyse

Die statistische Analyse stützte sich auf die Bildung der Differenzen zwischen den jeweils ermittelten Punktwerten für die Implantate und den unversorgten Defekten zum jeweiligen Zeitpunkt (Implantat minus Leerdefekt). Hierdurch sollten die Unterschiede zwischen den einzelnen Versorgungen präzise zum Ausdruck kommen. Aus einem deutlichen Übergewicht an positiven Differenzen kann man schließen, dass der weit überwiegende Punktwert der Implantate größer ist als derjenige der Leerdefekte. Somit übte er einen positiven Effekt im Hinblick auf die Regeneration aus. Differenzen wurden von Score A, Score B und der Summe beider Scores berechnet. Zuerst konzentriert sich die Betrachtung auf die Differenz der in Score A ermittelten Mediane. Hier dominierten ausnahmslos, abzuleiten an den positiven Werten der Mediane, die mit einem Implantat versorgten Defekte gegenüber den unversorgten Defekten zu allen Zeitpunkten. In der Gruppe Polyhart zu drei Monaten war mit einem Median von 8 ein eindeutiger, aber nicht signifikanter Unterschied feststellbar (Polyweich Median von 3). Nach sechs Monaten erzielten die Präparate der Gruppe Polyweich höhere Punktwerte mit einem Median von 3,5 verglichen mit der Gruppe Polyhart mit einem Median von 1,5. Ein vollkommen konträrer Verlauf zeichnete sich in den Differenzen des Scores B zu allen Zeitpunkten ab. In diesem Fall ließ sich eine höhere Punkteverteilung in Abhängigkeit des Auswertungsschemas für die unversorgten Defekte dokumentieren, die sich in negativen Differenzen niederschlugen. Allerdings zu keinen statistischen signifikanten Unterschieden führten. Bemerkenswert war wiederum ein bei der Betrachtung der Differenzen des Scores Gesamt deutlicher Unterschied zu Gunsten der Implantate. Tatsächlich spiegelte sich auch im Score Gesamt ein dominierender Median von 7,5 in der Gruppe Polyhart zu drei Monaten wieder (Polyweich Median von 1). Nach sechs Monaten wiesen beide mit einem Implantat versorgten Gruppen einen Median von 1,5 auf.

Eine Tabelle mit den Medianen sowie den Minimal- und Maximalwerten der jeweiligen Differenzen findet sich im Anhang (Tab. 17).

Eine Vervollständigung der statistischen Analyse wurde durch die Anwendung des nicht parametrischen Mann-Whitney - und des Wilcoxon-Tests erzielt. Die Anwendung dieses Mann-Whitney-Testverfahrens auf die gewonnenen Daten dienten der Untersuchung zur Darstellung von Unterschieden zwischen den Implantaten und den Leerdefekten zu den verschiedenen Zeiten. Die ermittelten Differenzen der einzelnen Scores wiesen zu keinem Zeitpunkt einen signifikanten Unterschied auf (Tab. 3). Die Signifikanz wurde mit einem p-Wert von $p < 0,05$ zu Grunde gelegt.

Der Wilcoxon-Test findet üblicherweise Anwendung bei einem nichtparametrischen Vergleich zweier abhängiger Stichproben. Er basiert auf einer Rangreihe der absoluten Wertepaardifferenzen und berechnet fallweise zu jedem Wertepaar die Differenzen. Die Auswertung (Tab. 4) ergab in der Gruppe Polyweich zu einem Zeitpunkt von sechs Monaten signifikante höhere Punktwerte bezüglich Score A ($p=0,043$) und Score Gesamt ($p=0,041$) verglichen mit der anderen Gruppe.

Tab. 3: Statistische Auswertung: Mann-Whitney-Test bezogen auf die ermittelten Differenzen aller Scores

Standzeit		Dif. Score A	Dif. Score B	Dif. Score Gesamt
3 Monate	Mann-Whitney-U	6,00	10,50	6,50
	Wilcoxon-W	27,00	20,50	27,50
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,193	0,746	0,237
6 Monate	Mann-Whitney-U	13,00	15,50	17,00
	Wilcoxon-W	34,00	36,50	34,00
	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,421	0,684	0,871

Tab. 4: Statistische Auswertung: Wilcoxon-Test bezogen auf die ermittelten Ergebnisse aller Scores

Standzeit	Therapie		Score A	Score B	Score Gesamt
3 Monate	Polyweich	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,111	0,257	0,458
	Polyhart	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,077	0,496	0,136
6 Monate	Polyweich	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,043	0,066	0,041
	Polyhart	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,072	0,414	0,463

5 Diskussion

5.1 Einleitung

Für die Entstehung von osteochondralen Defekten kommen zahlreiche Ursachen, hauptsächlich traumatische Schädigungen mit Beteiligung des Knorpels und des subchondralen Knochens infrage. Größtenteils sind davon junge, sportlich aktive Personen betroffen. Die sozioökonomische Bedeutung dieses Problems verdeutlicht sich einerseits in der steigenden Inzidenz von Knorpelschäden (Steinwachs et al., 1999) und andererseits in der Tatsache, dass kleinere Läsionen unterschiedlicher Genese in den meisten Fällen progressiv verlaufen und letztlich Gelenksarthrosen induzieren können (Hunziker, 2002; Buckwalter und Brown, 2004; Peterson, 1996; Hangody und Füles, 2003; Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998a). Jährlich führt die hohe Inzidenz der Gelenkknorpelläsionen zu erheblichen volkswirtschaftlichen Einbußen. Verletzungen des hyalinen Gelenkknorpels, vor allem im Kniegelenk, stellen schwer zu behandelnde Präarthrosen dar und erfordern gerade bei jüngeren Patienten spezielle Anforderungen an die therapeutischen Maßnahmen. Die in den vergangenen Jahren erzielten therapeutischen Fortschritte liefern heutzutage immer noch keine optimalen Heilungsergebnisse im Sinne einer *restitutio ad integrum*. Zudem wird nach traumatischer Schädigung eine immer schnellere Rehabilitation ohne Funktionsverlust verlangt. Auch aus der heutigen Sicht rechtfertigt diese Tatsache die intensive unfallchirurgische Forschung zur Verbesserung der osteochondralen Defektheilung.

Ziel der vorliegenden Studie ist der histologische und histomorphometrische Vergleich standardisierter osteochondraler Defekte im Hinblick auf den initialen Heilungserfolg unter der Therapie mit Poly-D,L-Lactid-Implantaten unterschiedlicher Steifigkeiten zu zwei ausgewählten Zeitpunkten. Mit dieser Studie soll der Einfluss der mechanischen Rahmenbedingungen von Poly-D,L-Lactid-Implantaten auf die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und die Regeneration des Knorpels aufgezeigt werden. Zusätzlich wurde die Belastung aller Gliedmaßen über den gesamten Beobachtungszeitraum durch Messung der Bodenreaktionskräfte ermittelt.

Die Überprüfung erfolgte anhand der eingangs aufgestellten Hypothesen:

1. Die Nachahmung sowohl der nativen Steifigkeit als auch der strukturellen und mechanischen Stabilität des Knochens durch die Füllung führt zu einer optimalen Regeneration osteochondraler Defekte hinsichtlich der Implantatintegration und Rekonstruktion der Gelenkoberfläche.
2. Wesentliche Voraussetzung für eine schnelle und komplikationsarme Heilung osteochondraler Defekte ist die hinreichende Rekonstruktion des subchondralen Knochens.
3. Die Regenerationsergebnisse sowohl der versorgten als auch der unversorgten Defekte sind nach einer Standzeit von sechs Monaten wesentlich besser als nach drei Monaten.

5.2 Diskussion der Methoden

5.2.1 Diskussion des Tiermodells

Die Studie basiert auf einem Tierversuchsprojekt, in dem der Einfluss von Poly-D,L-Lactid-Implantaten bezüglich ihrer Fähigkeit, die Regeneration osteochondraler Defekte positiv zu beeinflussen, evaluiert werden sollte. Der Einsatz diverser Tiermodelle in experimentellen Studien bietet einerseits den Vorteil, standardisierte Rahmenbedingungen zu bieten, andererseits die Möglichkeit der Reproduzierbarkeit.

In der Knorpelforschung finden eine weite Spanne verschiedener Tiermodelle Verwendung, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse untereinander beeinträchtigt (Breinan et al., 2001; Hunziker, 1999; Roach et al., 1989; Dustmann und Puhl, 1976). Es gibt zahlreiche wissenschaftliche Untersuchungen an Ratten, Kaninchen (Nam et al., 2004; Bergsma et al., 1995; Hunziker, 1999; Hunziker und Rosenberg, 1996; Wakitani et al., 1994; Shapiro et al., 1993; Caplan et al., 1997; Gao et al., 2004; Cheung et al., 1978; Meachim und Roberts, 1971; Ghadially et al., 1977; Ghadially und Ghadially, 1975; Roughley und Lee, 1994; Braun et al., 1983; Günther et al., 1998), Hunden (van Dyk et al., 1998; Eyre et al., 1980; Calandruccio und Gilmer, 1962; DePalma et al., 1966; Breinan et al., 2001), Ziegen (Niederauer et al., 2000; Butnariu-Ephrat et al., 1996), Pferden (Convery et al., 1972), Rindern (Chen et al., 2004; Kurz et al., 2001; Lind et al., 2008), Schweinen (Ameer et al., 2002; Hunziker und Rosenberg, 1996) oder Schafen (Allen et al., 1998; Siebert et al., 2003; Siebert et al., 2001; Russlies et al., 2003; Homminga et al., 1991; Weiler et al., 1996; Leniz et al., 2004; Appleyard et al., 2003; Guo et al., 2004; Akens et al., 2001; Pilar et al., 2007; Bruns et al.,

1997a; Bruns et al., 1997b). Während das Regenerationsverhalten von Ratten, Kaninchen und Schafen im Vergleich zum Menschen gut dokumentiert ist, ist dies bei den anderen genannten Spezies nicht der Fall. Kleinere Versuchstiere wie Ratten oder Kaninchen weisen einen höheren metabolischen Umsatz und damit einhergehend auch eine kürzere Regenerationszeit bzw. ein schnelleres Heilungsverhalten auf (Frankenburg et al., 1998; Coulson, 1983). Aus diesem Grund kann ein Vergleich der einzelnen Zeitpunkte bezüglich der Regenerationszeit zwischen verschiedenen Spezies nicht ohne weiteres vorgenommen werden. Zudem lassen sich Interpretationsprobleme in unterschiedlich gewählten Tiermodellen trotz ähnlichem Versuchsdesign (Belastungssituation, Lokalisation und Dimension der Defekte) ableiten (Rudert, 2002).

Das Schaf ist für das vorliegende Projekt als Versuchstier besonders geeignet, weil die biomechanischen und knöchernen Dimensionen dem humanen Kniegelenk sehr ähnlich sind (Russlies et al., 2003; Bruns et al., 1997a). Im Hinblick auf Wachstum und Regeneration des Knorpels sind Ähnlichkeiten zwischen Schafen und Menschen erkennbar (Jansson et al., 2000). Vor diesem Hintergrund bietet das Versuchstier Schaf in der Forschung ein ideales Modell für die Etablierung verschiedener orthopädischer Therapiemethoden zur Behandlung von Knorpeldefekten (Allen et al., 1998; Homminga et al., 1991; Siebert et al., 2001; Russlies et al., 2003).

Die in diese Studie eingehenden adulten Merino-Mix-Schafe bildeten eine homogene Gruppe hinsichtlich Rasse, Alter, Geschlecht und Gewicht. Die Voraussetzungen, dass alle Tiere ausgewachsen und vollständig geschlossene Epiphysenfugen aufweisen mussten, war notwendig, da das Regenerationspotential von nicht ausgewachsenen Tieren als höher angesehen wird als das von adulten Tieren (Calandruccio und Gilmer, 1962; Bobic und Noble, 2000; Ekholm und Ingelmark, 1952; Buckwalter et al., 1994b; Dustmann und Puhl, 1976; Frenkel et al., 1997; Wei et al., 1997). Die ausgewählten Schafe, welche ein durchschnittliches Körpergewicht von 70 (± 8) kg aufwiesen, entsprachen dem durchschnittlichen Gewicht eines adulten Menschen (Breinan et al., 2001). Die in verschiedenen Studien verwendeten Hunde wiegen oft nur zwischen 15 und 30 kg (Calandruccio und Gilmer, 1962; DePalma et al., 1966; Breinan et al., 2001) und erschweren somit die Vergleichbarkeit.

Einschränkungen hinsichtlich der gewonnenen Ergebnisse der vorliegenden Studie ergeben sich dennoch bei der Interpretation und Übertragung auf den Menschen bzw. auf andere Spezies, da es trotz der zahlreichen Übereinstimmungen zwischen dem Menschen und dem Versuchstier Schaf Abweichungen in Bezug auf die anatomischen und biomechanischen Ver-

hältnisse gibt (Breinan et al., 2001; Hunziker, 1999; Roach et al., 1989). Die Knorpeldicke im menschlichen Kniegelenk beträgt etwa 2-3 mm, hingegen weist das Kaninchen physiologischer Weise eine Knorpeldicke von 400 µm auf (Rudert, 2002; Hunziker, 1999). Das Schaf liegt mit 0,8 bis 1,5 mm etwa zwischen den beiden genannten Spezies. Auch der Vergleich der Defekttiefe bereitet Schwierigkeiten, denn ein 2 mm tiefer Defekt im humanen Knorpel würde sich als partieller Gelenkknorpeldefekt ohne Einbeziehung der subchondralen Knochenplatte darstellen, beim Kaninchen jedoch ein tiefer Gelenkknorpeldefekt unter Einbeziehung des subchondralen Knochens sein (Hunziker, 1999).

Ein weiterer Aspekt, der vor der Frage der Übertragbarkeit der Ergebnisse zu erwähnen ist, sind die geringen Fallzahlen von sechs Tieren pro Gruppe. Vor diesem Hintergrund muss vor einer vorbehaltlosen Übertragung der Ergebnisse abgesehen werden. Anhand der vorliegenden Studie können ausschließlich Aussagen über die initiale Heilung zu den beiden ausgewählten Zeitpunkten getroffen werden. Die erzielten Erkenntnisse können in Folgestudien durch eine größere Gruppenanzahl und einen längeren Beobachtungszeitraum verifiziert oder auch falsifiziert werden. Zudem muss den Versuchstieren eine gewisse Individualität zugestanden werden, die auch in der Versuchsauswertung berücksichtigt werden muss.

Langzeitstudien über mehrere Jahre wären nötig, um den weiteren Verlauf der Regenerate hinsichtlich Knorpelqualität oder Degenerationsanzeichen zu verfolgen. Diese Kriterien sind für den späteren humanen Einsatz ausschlaggebend. Aus diesem Grund besteht der dringende Bedarf an weiterführenden tierexperimentellen Studien, um neue Therapiemethoden und eine Optimierung des experimentellen Designs zur Heilung von osteochondralen Defekten zu etablieren (Hunziker, 1999). Zudem ermöglicht die Untersuchung großer Tiergruppen unter Einsatz invasiver Methoden einen großen Vorteil im Vergleich zu den Untersuchungen am Menschen. Die Erkenntnisse der histologischen Reparatursmechanismen im Tiermodell erlauben ein besseres Verständnis der humanen Situation (Roach et al., 1989).

5.2.2 Operation und postoperativer Beobachtungszeitraum

Wie schon erwähnt, stellte das Schaf ein ideales Versuchsmodell für verschiedene orthopädische Behandlungsmethoden dar und war chirurgisch gut zugänglich (Russlies et al., 2003; Allen et al., 1998). Das zu Grunde gelegte Versuchsdesign gewährleistete die Möglichkeit, standardisierte osteochondrale Defekte im linken Kniegelenk zu kreieren. Eine Standardisierung des Defektmodells wurde durch einen identischen operativen Zugang und Durchführung erreicht, welche sich an etablierten Operationsmethoden orientierte. Dieses

Versuchsdesign gewährte einerseits die Möglichkeit, den Einfluss der mechanischen Belastung auf die Transplantate im Kniegelenk während der physiologischen Be- und Entlastung, andererseits die Reaktion des Organismus auf die Implantate bzw. auf die Regeneration osteochondraler Defekte zu evaluieren. Die Defekte wurden jeweils im lasttragenden Bereich der beiden Femurkondylen des linken Kniegelenkes platziert. Auf Grund der anatomischen Variation war es nicht immer möglich, den Bohrkanaal orthograd in der Hauptbelastungszone zu platzieren. Die kreierten osteochondralen Defekte unterschieden sich nur in ihrem Durchmesser (Füllung \varnothing 7,4 mm und Leerdefekt \varnothing 8,4 mm). Die Defekttiefe war mit 10 mm festgelegt. Frühere Studien bewiesen, dass im Tierversuch gesetzte osteochondrale Defekte ab einer Größe von 6-7 mm im Durchmesser (Leerdefekt) keine spontane Heilung erfahren haben (Bruns et al., 1997a; Shahgaldi et al., 1991; Convery et al., 1972; Lind et al., 2008). Die in diesem Projekt verwendete Defektgröße ist demnach kritisch. Sie wurde bewusst im kritischen Bereich gewählt, um möglichst kliniknahe Bedingungen zu schaffen. Auf Grund der Defektgröße konnte eine spontane Heilung der Defekte ausgeschlossen werden. Die Defekttiefe gewährleistete zum einen eine gute Verankerung der Implantate mit Hilfe der press-fit-Technik (Outerbridge et al., 1995; Martinek, 2003; Burkart et al., 2001), zum anderen wurde somit die Eröffnung des Knochenmarkraumes sichergestellt. Die Leerdefekte dienten als Kontrolle des Selbstheilungspotenzials. Dadurch konnte eine Aussage über die Effektivität der Implantate, die Regeneration osteochondraler Defekte positiv zu beeinflussen getroffen und zugleich ein Vergleich der beiden Implantate untereinander ermöglicht werden. Inwiefern sich die gleichzeitige chirurgische Manipulation an beiden Femurkondylen auf die gewonnenen Ergebnisse auswirkte, bleibt unklar. Einen weiteren ungeklärten Faktor bildete der Einfluss der Defektlokalisation. Dieser erfolgte entsprechend abwechselnd auf der medialen und lateralen Kondyle. Geringe individuelle anatomische Varianten der Kniegelenke erschwerten in einigen Fällen den chirurgischen Zugang und bedingten geringfügige Unterschiede in der Positionierung der Defekte. Die eingebrachten Poly-D,L-Lactid-Implantate sollten auf Höhe der subchondralen Knochenlamelle abschließen. Die synthetischen Implantate wirken als Fremdkörper, die eine Fremdkörperreaktion mit einhergehender Entzündung provozierten, die den Heilungsverlauf möglicherweise nachträglich beeinflussten.

Die postoperativen Haltungs- und Nachsorgebedingungen waren für alle Tiere identisch. Aus diesem Grund dürften die genannten Faktoren auch keinen Einfluss auf das Heilungsergebnis ausüben.

Die Wahl der beiden Standzeiten zu drei und sechs Monaten zielte auf die Evaluation des Heilungsverlaufes ab. Die Aussagekraft über das endgültige Heilungsverhalten osteochondraler Defekte bei Tieren mit einer Standzeit von drei Monaten war nur bedingt geeignet, eine Aussage unter der Versorgung mit Poly-D,L-Lactid-Implantaten zu treffen. Eine vollständige Heilung war zu diesem Zeitpunkt, weder bei den versorgten noch bei den unversorgten Defekten eingetreten. Auch nach einer Standzeit von sechs Monaten konnte eine vollständige Abheilung der osteochondralen Defekte unabhängig von der Versorgung nicht beobachtet werden. In dieser Studie wurden nur zwei ausgewählte Zeitpunkte bezüglich der Knorpeldefektheilung beschrieben. Auf Grund der ähnlich gewählten Standzeiten boten die in dieser Studie ausgewählten Zeitpunkte gute Vergleichsmöglichkeiten mit den Ergebnissen anderer Studien. Von primärem Interesse für den Einsatz der Operationsmethode in der Humanmedizin sind vor allem Langzeiterfolge hinsichtlich Schmerzfreiheit, Funktionalität und biologischer Qualität der Regenerate. Aus diesem Grunde sind Folgestudien über einen Zeitraum von mehreren Jahren sinnvoll und unumgänglich (Gross et al., 2005). Vor diesem Hintergrund kann die vorliegende Arbeit keine Aussagen über spätere Komplikationen bzw. Langzeiterfolge liefern.

5.2.3 Einfluss der Bewegung postoperationem

Während des Heilungsverlaufes sollte der Knorpeldefekt einer physiologischen Be- und Entlastung unterliegen, um die Heilung effektiv beurteilen zu können (Buckwalter, 1995a; Buckwalter, 1995b; Salter et al., 1980). Vor diesem Hintergrund sollte der Aspekt der unkontrollierten Bewegung bei den Versuchstieren im Vergleich zu der absoluten Schonung bzw. kontrollierten Belastung und Bewegung der humanen Patienten ebenfalls Berücksichtigung finden (Rudert, 2002; Lind et al., 2008). Die Schafe belasteten die operierte Gliedmaße post operationem sofort wieder. Da das Schaf der Gruppe der Fluchtiere zugehörig ist, kann es innerhalb der Herde zu panikartigen Fluchtversuchen kommen, die eine übermäßig starke Belastung induzieren können. Diese könnte sich nachteilig auf die Defektheilung auswirken. Laut Buckwalter stellte eine kurzfristige Schonung der operierten Gliedmaße die Grundvoraussetzung für die initiale Heilung dar. Dieser Umstand erlaubte die Formation eines Reparaturgewebes. Daran sollte sich eine individuelle kontrollierte Bewegungstherapie anschließen, um den Heilungserfolg zu sichern (Buckwalter, 1995a; Buckwalter, 1995b). Slater und

O'Driscoll untersuchten den positiven Einfluss von kontinuierlicher passiver Bewegung (O'Driscoll et al., 1988; Salter et al., 1980). Die mechanische Kompression förderte durch dynamische Flüssigkeitsbewegungen die Ernährung der Chondrozyten und dadurch die Knorpelregeneration (O'Driscoll et al., 1988). Es ist bekannt, dass die mechanischen Rahmenbedingungen die phänotypische Expression der Chondrozyten und ihre metabolische Aktivität beeinflussten (Boyan et al., 1999; Caplan et al., 1997; O'Driscoll, 1999; Gray et al., 1988). De Palma postulierte, dass die kontrollierte Belastung und Bewegung die Heilung osteochondraler Defekte förderten. Statische Kompression reduzierte die Chondrozytensynthese, hingegen variierte die zelluläre Antwort bei zyklischer Kompression in Abhängigkeit von der applizierten Frequenz und Amplitude (DePalma et al., 1966; Kurz et al., 2001). Intaktes Knorpelgewebe reagierte auf dynamische Kompression mit gesteigerter Biosynthese, allerdings reagierten traumatisierte Chondrozyten in der Regel abweichend mit Reduktion ihrer metabolischen Aktivität.

Eine Differenzierung, ob die zu verzeichnenden Degenerationserscheinungen in der vorliegenden Studie auf Grund der unkontrollierten Bewegung entstanden sind oder durch das Versuchsdesign bedingt waren, ist nicht möglich.

5.2.4 Gewinnung und Aufbereitung der Proben

Die Gewinnung einiger Präparate bereitete Schwierigkeiten, da der Bohrkanal von außen nicht immer eindeutig identifizierbar war und die longitudinale Ausdehnung des Defektes und die damit verbundene Sägerichtung nur geschätzt werden konnte. Vor allem nach einer Standzeit von sechs Monaten waren in einigen Fällen makroskopisch fließende Übergänge zwischen der Defektoberfläche und dem umliegende nativen Knorpel erkennbar, die eine exakte Lokalisation der Defektmitte während des Sägevorganges erschwerten. Daher wurden einige Präparate nicht genau in der Defektmitte gesägt. Damit ließen sich auch die möglicherweise leichten Abweichungen der Defektdurchmesser bzw. des geweblichen Auffüllungsverhaltens erklären.

Das in dieser Studie verwendete etablierte Einbettmedium auf Methylmethacrylatbasis diente zur Erstellung von Hartschnitten für die histologische Untersuchung von mineralisiertem Gewebe. Jedoch konnte in der Mehrzahl der Präparate keine homogene Infiltration mit dem Einbettmedium erzielt werden, so dass wiederholte Auflösung und ein erneutes Einbetten nötig waren. Diese zusätzliche unumgängliche Bearbeitung der Präparate könnte sich nachteilig auf die Darstellung der einzelnen Gewebekomponenten ausgewirkt haben, vor allem in Bezug auf

die Detektion der Quantität der Poly-D,L-Lactid-Implantate. Das differente Einbettverhalten könnte auch als mögliche Ursache für ein unterschiedliches Farbverhalten angesehen werden. Das vereinzelt Auftreten von Färbeartefakte und Faltenbildung in einigen Präparaten führte zu falsch positiven Ergebnissen in der histomorphometrischen Analyse bezüglich einiger Gewebekomponenten. Weiterhin konnte durch die Manipulation beim Aufziehen der Präparate auf die Objektträger eine leichte Verzerrung der einzelnen Gewebekomponenten und/oder des Gewebeverbandes nicht ausgeschlossen werden. In wiefern die genannten Faktoren in dieser Studie die Auswertungen beeinflusst haben, ließ sich abschließend nicht klären. Aus Gründen der Vollständigkeit sei an dieser Stelle lediglich darauf hingewiesen. Die histologischen Schnitte gewährten abhängig von der gewählten Sägeebe einen zweidimensionalen Einblick. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse der repräsentativen Querschnitte wurden für den gesamten Defektbereich zu Grunde gelegt.

Zu diskutieren bleibt, inwiefern die aufwendige Anfertigung multipler Serienschnitte eventuell die Aussage hinsichtlich einer gleichmäßigen Defektregeneration erhöhen würde. Zudem könnte dadurch ein besseres Verständnis bezüglich der histologischen Qualität erzielt und ansatzweise die vorherrschenden dreidimensionalen Verhältnisse dargestellt werden. Dies könnte in Folgestudien evaluiert werden.

Neben den zwei Standardfärbungen Safranin-Orange / von Kossa und Safranin-Orange / Lichtgrün floss noch die Trichromfärbung nach Masson und Goldner in die histologische Beurteilung des Defektbereiches mit ein. Diese spezifischen Färbemethoden eignen sich besonders zur Darstellung von Knorpelgewebe, mineralisiertem und nicht mineralisiertem Gewebe sowie verschiedener Zell- und Gewebeanteile. Diese etablierten Färbeprotokolle werden häufig zur Beurteilung der Regeneratqualität eingesetzt und gelten bedingt durch ihre gute Reproduzierbarkeit und Selektivität als standardisierte Methoden (Niederauer et al., 2000; O'Driscoll et al., 1986; Shapiro et al., 1993). Die Safranin-Orange Färbung findet häufig in der Knorpelhistologie Anwendung. Der Gehalt an Proteoglykanen lässt sich anhand seiner Intensität der Anfärbung schätzen und ermöglicht somit einen Vergleich verschiedener Präparate miteinander.

5.2.5 Histomorphometrie

Von jedem Tier gingen je zwei Präparate aus den versorgten und den unversorgten Defekten sowie den nativen Kondylen in die Auswertung ein, welche nach Safranin-Orange / von Kossa und nach Safranin-Orange / Lichtgrün gefärbt wurden. Die Identifizierung der spezifischen Gewebekomponenten erfolgte histomorphometrisch auf Grund der unterschiedlichen Anfärbung und Intensität. Mit Hilfe des computergestützten Auswertungsverfahrens war die Möglichkeit einer objektiven quantitativen und standardisierten Analyse der verschiedenen Gewebekomponenten (mineralisierter Knochen, Bindegewebe, Knorpel und Scaffoldmaterial) gegeben, bezogen auf ihre Farbcodierung und Farbintensität. Der entscheidende Vorteil dieser computergestützten Auswertung lag in der vom Untersucher objektiven unabhängigen Auswertung, die somit eine Vergleichbarkeit gewährleistete. Erschwerend kam hinzu, dass dieses Verfahren mit verschiedenen Fehlerquellen bezüglich der Durchführung behaftet war. Die Fehlerquellen traten gehäuft dort auf, wo subjektive Entscheidungen des Untersuchers getroffen werden mussten. Zu den vielfältigen Fehlerquellen zählten das manuelle Anlegen der ROI, die nachträgliche Anfärbung bzw. Änderung in der Intensität sowie die nachträgliche Markierung einzelner Knorpelinseln oder deren Tilgung auf Grund von Färbeartefakten. Das Positionieren der rechteckigen ROI auf der konvexen Gelenkoberfläche führte zu einer Verkleinerung der ursprünglichen ROI. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse wurde gewährleistet durch den relativen Bezug der Messergebnisse zur Gesamtgröße der ursprünglichen ROI.

Die nachträglichen manuellen Korrekturen könnten zu einer Verfälschung der tatsächlich vorliegenden Gewebekomponenten führen. Eine weitere Fehlerquelle ergab sich aus der subjektiven Beurteilung des Untersuchers hinsichtlich der zum Teil fließenden Grenzen zwischen Bindegewebe und Knochenmarksraum bzw. subchondraler Lamelle und Knorpelgewebe. Aus diesem Grund könnten die so ermittelten quantitativen Werte geringgradig von den tatsächlichen abweichen.

Die histomorphometrische Auswertung bezog sich nur auf den Bereich der ROI welche den ursprünglichen Defektbereich umfasste. Die gewonnenen Schnitte könnten aus unterschiedlichen Ebenen des Präparatblockes stammen und zu differenten histomorphometrischen Analysen führen. Vereinzelt in direkter Umgebung zur ROI beobachteten Prozesse fanden keine Berücksichtigung. Dazu zählten eingebrochene Defektränder, zu tiefe Bohrungen, aufgelockerte oder kompaktere Knochenstrukturen, verdickte subchondrale Lamellen sowie die variablen Ausdehnungen von vorherrschenden Zysten. Im Zuge der Aufbereitung konnte häufig eine Ablösung des Knorpels von dem darunter gelegenen subchondralen Knochen

beobachtet werden, die hauptsächlich bei den nativen Präparaten vorgefunden wurde. Dieses Phänomen musste entsprechend bearbeitet und berücksichtigt werden. Trotz sorgfältigen Markierens sind leichte Ungenauigkeiten hier nicht auszuschließen.

Problematischer gestaltete sich die Markierung des synthetischen porösen Scaffoldmaterials da dieses im Rahmen der Aufbereitung aus dem Präparat herausgelöst worden war und sich nur noch als unterschiedlich große Leerräume darstellte. Auch das anschließende ausschließlich manuelle Markieren des Untersuchers erwies sich rückblickend als erheblich unsicherer Faktor. Das ausschließlich subjektive Entscheiden des Untersuchers, ob es sich bei den nicht angefärbten Leerräumen um Scaffoldmaterial, Fettzellen, angrenzenden Knochenlakunen oder Artefakte handelte, erschwerte wesentlich die Aussage im Hinblick auf die ermittelte Gewebekomponente des noch vorhandenen Scaffoldmaterials. Zudem war es auf Grund des Versuchsdesigns nicht möglich den zeitlichen Verlauf der Polymerdegradation zu beiden Standzeiten für jedes einzelne Schaf zu beobachten. Die gewonnenen Präparate ließen nur Rückschlüsse auf einen einzigen Zeitpunkt zu, entweder zu drei oder sechs Monaten. In diesem Kontext müssten allerdings auch individuelle Unterschiede in Bezug auf die Degradationskinetik des Einzeltiers Berücksichtigung finden. Einige Tiere wiesen einen schnelleren Abbau des Scaffoldmaterials auf als andere. Diese genannten Faktoren führten zur Ermittlung eines deutlich höheren Anteils an nicht degradiertem Scaffoldmaterial nach sechs Monaten. Obwohl es auf Grund der Degradationskinetik zu einer Reduktion des Polymermaterials im Laufe der Zeit kommen musste. Vor diesem Hintergrund müssten die histomorphometrisch ermittelten absoluten Zahlen bezüglich des dedektierten Scaffoldmaterials zum Zeitpunkt von sechs Monaten kritisch bewertet werden bzw. geringer Beachtung beigemessen werden.

5.2.6 Histologischer Score

Neben den zwei Standardfärbungen Safranin-Orange / von Kossa und Safranin-Orange / Lichtgrün flossen zudem noch die Trichromfärbung nach Masson und Goldner in die histologische Beurteilung des Defektbereiches mit ein. Die gewählten Färbungen waren prädestiniert, die biologische Qualität der versorgten und unversorgten Defekte zu beiden Standzeiten widerzuspiegeln. Zu bedenken war, dass die gewonnenen Schnitte aus unterschiedlichen Ebenen des Präparatblockes stammen könnten, welche zu differierenden Aussagen hinsichtlich der Defektregeneration führen könnten. Weiterhin konnte eine asymmetrische Defektregeneration und Auffüllung nicht ausgeschlossen werden. Dies war bei der Interpretation der Scoreergebnisse zu berücksichtigen. Ein Nachteil bei der Verwendung semiquantitativer Scores

bestand in ihrer Ungenauigkeit. Sie entstand, wenn biologische Zustände durch ein starres System beschrieben wurden. Die limitierte Anzahl möglicher Abstufungen konnte zu Ungenauigkeiten in der Bewertung führen. Einige Fälle, die gerade noch ein bestimmtes Kriterium erfüllten, könnten nicht mehr von Befunden exakt unterschieden werden, die die nächst bessere Bewertung lediglich knapp verfehlt hatten. Trotzdem hatte sich die Verwendung semiquantitativer Scores zur Beurteilung und zum Vergleich biologischer Sachverhalte in der Forschung durchgesetzt.

Für die deskriptive Histologie wurden die versorgten Defekte aller vier Gruppen mit den Leerdefekten sowie untereinander verglichen. Die Auswertung des semiquantitativen Scores, nach dem Vorbild Wakitanis, welcher von Pineda (Wakitani et al., 1994) und O'Driscoll (O'Driscoll et al., 1988) modifiziert wurde, beruhte vor allem auf den subjektiven Entscheidungen des Untersuchers, da es sich hauptsächlich auf optische Merkmale beruhende Vergleiche handelt. Diese Subjektivität gilt als Grundlage für mannigfaltige Fehlerquellen (Breinan et al., 2001). Besonders die Einschätzung von Auffüllungsgrad und Gewebeanteilen stellen mögliche Fehlerquellen dar. Trotzdem war es erforderlich, beide Scores zu verwenden, um möglichst viele Kriterien der Knorpel- und Knochenheilung zu erfassen und eine umfassende Beurteilung des neu gebildeten Regenerats hinsichtlich Gewebequalität und Transplantateinheilung zu ermöglichen. Die Beurteilung der Wiederherstellung der Gelenkflächen war eines der wesentlichen Ziele des Scores. Deshalb fand der gebildete prozentuale Anteil hyalinen Knorpels nur im Bereich der Gelenkoberfläche Berücksichtigung. Aus diesem Grund erhielten einige Präparate eine schlechtere Bewertung, obwohl die Bildung von hyalinem Knorpel im Defektbereich beobachtet werden konnte. Allerdings bildete dieser Knorpel keinen Teil der Gelenkfläche und trug daher nicht zur Gelenkfunktion bei. Das Kriterium der Defektauffüllung bezog sich ausschließlich auf die Quantität des neu synthetisierten Gewebes unabhängig von der Qualität. Das Ausbleiben einer Differenzierung der Gewebeanteile ermöglichte einigen nur bindegewebig aufgefüllten Präparaten, hohe Punktzahlen zu erreichen. Dies war vorallem in der Gruppe der Leerdefekte zu beobachten. Die eine durchschnittliche Auffüllung von 51% bis 75% nach drei Monaten aufwiesen, ähnlich der Gruppe Polyweich. Der zeitliche Verlauf wirkte sich positiv auf die Auffüllung im Defektbereich aus, so dass nach sechs Monaten eine durchschnittliche Auffüllung von 90% bis 100% erreicht werden konnte unabhängig von der Versorgung der Defekte. Allerdings galt dies nur für eines von zwölf Kriterien und blieb somit die Ausnahme.

Alle Präparate der Leerdefekte waren nach drei Monaten noch nicht bis auf das Niveau der Gelenkoberfläche aufgefüllt und konnten so nur eine Integration entsprechend ihres Auffüllungsgrades aufweisen. Dieser Umstand spiegelte sich im Histoscore in einer niedrigeren Punktevergabe wieder, im Vergleich zu den aufgefüllten Defekten. Zahlreiche minder aufgefüllte Defekte, häufig bei den Leerdefekten zu sehen, waren mit den Defekträndern verbunden und erhielten recht hohe Punktwerte für das Kriterium „Verbindung zum umliegenden Knorpel“. Hierbei sollte berücksichtigt werden, dass nur die Verbindung des Knorpels im Randbereich beurteilt wurde. Dieses Kriterium wurde dabei unabhängig von der Rekonstruktion der Gelenkoberfläche betrachtet. Auch bei der Beurteilung der knöchernen Integration der Implantate muss die unterschiedliche Degradationszeit Berücksichtigung finden. Die Gruppe Polyweich wies, verglichen mit der Gruppe Polyhart, eine schnellere Degradationskinetik auf und somit eine bessere knöcherne Integration bzw. auch einen höheren Punktwert. Es wäre empfehlenswert, die reinen Scoreergebnisse unter Berücksichtigung der geringen Gruppengröße und der erheblichen interindividuellen Variabilitäten nur im Zusammenhang mit den histomorphometrischen und histologischen Ergebnissen zu beurteilen. Anhand der erreichten Punktzahlen im Histoscore lässt sich rückwirkend nur schwer nachvollziehen, wie das entsprechende Tier in den Einzelkriterien bewertet wurde. Allerdings war es möglich an Hand dieses Scores ein Gesamtbild der Defektheilung darzustellen und einen Vergleich der verschiedenen Gruppen unter als auch miteinander anzustreben.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Diskussion der Bodenreaktionskräfte

Literaturangaben über die Messungen von Bodenreaktionskräften beim Schaf waren begrenzt verfügbar und beschränkten sich auf Untersuchungen am hiesigen Institut (Kleemann et al., 2007). Ähnliche Untersuchungen an Yucatan Minischweinen mit osteochondralen Läsionen im Kniegelenk wurden ebenfalls am hiesigen Institut durchgeführt (<http://www.diss.fu-berlin.de/2002/301>). Angesichts der geringen verfügbaren Literatur sollten die Ergebnisse dieser am Schaf gewonnenen Untersuchung nicht uneingeschränkt auf andere Tiermodelle bzw. die humane Situation übertragen werden.

Die Messungen der Bodenreaktionskräfte dienten zur Evaluation der dynamischen Druckverteilungen der jeweiligen Gliedmaße während eines Gangzyklus. In die Auswertung gingen jeweils sechs Tiere aus den Gruppen III und IV mit einer Standzeit von sechs Monaten ein. Die Auswahl dieser Tiere für diesen speziellen Versuchsaufbau fand vor Beginn der Studie statt. Es musste sichergestellt werden, dass die Tiere trotz postoperativer Schmerzen die Messzyklen absolvieren würden. Die in diese Studie integrierten Schafe unterschieden sich nicht in Größe, Gewicht, Geschlecht oder Alter und wurden randomisiert den beiden Versuchsgruppen zugeteilt. Trotzdem sollte die Individualität der Versuchstiere in der Auswertung Berücksichtigung finden. Die Durchführung des Versuches hinsichtlich der Operationsdurchführung, der postoperativen Nachsorge, der Ganganalysen und der Standzeit war für beide Gruppen identisch. Die Auswertung der erhobenen Messwerte ließ eine starke Streuung erkennen, zurückzuführen einerseits auf die interindividuellen Variabilitäten, andererseits auf die geringe Gruppengröße (n=6) gegenüber der Vielzahl von Messzeitpunkten. Aus diesem Grund wurde auf eine statistische Auswertung verzichtet und beide Gruppen deskriptiv verglichen. Deshalb ist eine Subjektivität der Autorin bei der Auswertung nicht völlig auszuschließen. Daher müssen die gewonnenen Erkenntnisse kritisch beurteilt werden. Vermutlich wäre durch größer gewählte Fallzahlen ein statistischer Vergleich auf signifikante Unterschiede eher möglich.

Die Analyse ergab für beide Versuchsgruppen postoperativ eine deutliche Reduktion der maximalen Bodenreaktionskraft (86% Gruppe Polyweich und 83% Gruppe Polyhart) im Sinne einer Entlastung der operierten Gliedmaße. Die Maximalkraft kehrte in Gruppe III schon nach vier Wochen und damit wesentlich früher zum präoperativen gemessenen Wert zurück als in Gruppe IV. Die parallel zu beobachtende Mehrbelastung der kontralateralen gesunden rechten Hintergliedmaße ist durch Kompensationsmechanismen erklärbar. Auf Grund der Schonung kam es zu einer Verlagerung des Körpergewichtes auf die gesunde Gegenseite. Ähnliche Ergebnisse in Hinsicht auf die Schonung der operierten Hintergliedmaße bei gleichzeitiger kompensatorischer Mehrbelastung der kontralateralen Gliedmaße wurden bei einer Studie im Rahmen der Frakturheilung beobachtet (Seebeck et al., 2005). Da aber auch nach korrespondierender Kraftzunahme der operierten Gliedmaße ab der achten Woche eine Mehrbelastung sowohl der ursprünglich operierten, als auch der kontralateralen Gliedmaße über den präoperativen Ausgangswerten lag, lässt sich ein gewisser Lern- oder Trainingseffekt nicht ausschließen.

Im Wesentlichen verhielten sich die Kurvenverläufe beider Gruppen für den Parameter Kontaktzeit in Bezug auf die operierte Gliedmaße gleich. Aus der in der Anfangsphase zu registrierenden Teilentlastung resultierte auch eine Reduktion der Kontaktzeit. Schmerzen und eine eingeschränkte motorische Funktion könnten hierfür verantwortlich sein. Auffälliger Weise war während des Beobachtungszeitraumes keine Rückkehr zum präoperativen Ausgangswert feststellbar.

In beiden Gruppen kam es zu einer geringfügigen Verringerung der Kontaktfläche in der ersten Woche post operationem. Auch in diesem Fall war das veränderte Gangbild in der vorhandenen Schonung begründet und resultierte aus einer Fußung auf der Klauenspitze. Zudem ließen sich Ähnlichkeiten hinsichtlich eines stetigen Kurvenanstiegs in beiden Gruppen ab der achten Woche über das präoperative Niveau verzeichnen. Trainingseffekte sowie Änderungen im Gangbild können hiermit in Zusammenhang stehen.

Alle Parameter zeigten zumeist nach acht Wochen eine Angleichung an die präoperativen Ausgangswerte und komplikationslose Heilungsverläufe, zu ähnlichen Erkenntnissen kam Seebeck in ihrer Studie (Seebeck et.al, 2005). Diese Beobachtungen lassen Rückschlüsse auf eine vollständige Ausheilung zu, die letztlich noch mit den histologischen und den histomorphometrischen Ergebnissen zu diskutieren wären. Eine vollständige histologische Regeneration der osteochondralen Defekte lag selbst zum Zeitpunkt von sechs Monaten in keiner der vorliegenden Gruppen vor. Ein kausaler Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der Bodenreaktionsmessungen und den histologischen Regenerationsergebnissen scheint grundsätzlich nicht gegeben. In der vorliegenden Studie war es anhand der Bodenreaktionskraftmessungen unmöglich, einen Unterschied zwischen den beiden Therapieformen abzuleiten. Durch die gleichzeitige chirurgische Manipulation in der Hauptbelastungszone beider Femurkondylen eines Knies ließ sich nachträglich nicht mit Sicherheit feststellen, welchen Einfluss der jeweils gesetzte Defekt (Füllung oder Leerdefekt) auf die Belastungssituation des linken Kniegelenkes ausgeübt hat. In wie weit die postoperative initial erfolgte Analgesie die Messergebnisse verfälscht, kann nicht beurteilt werden. Ob die postoperative motorische Belastung einen positiven Einfluss auf die Regeneration osteochondraler Defekte ausübt, ließ sich mit diesem Versuchsaufbau nicht abschließend beurteilen. Da bei der Analyse der Vordergliedmaßen im Hinblick auf das Belastungsmuster keine Unterschiede zu verzeichnen waren, blieb dieser Parameter in der Auswertung unberücksichtigt.

5.3.2 Makroskopische Beurteilung der Defektsituation

Die Regeneration osteochondraler Defekte unter Verwendung Poly-D,L-Lactid-Implantate ist makroskopisch den Leerdefekten zu beiden Standzeiten überlegen. Die Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen Polyweich und Polyhart zu beiden Standzeiten waren in der makroskopischen Bewertung gering ausgeprägt. Die alleinige Bewertung der Defekte anhand der Makroskopie kann daher kein ausreichendes Kriterium für eine Einschätzung der Regeneration osteochondraler Defekte sein. Sie vermag lediglich eine limitierte Aussage über die tatsächliche Qualität des Regenerationsgewebes zu treffen.

5.3.3 Diskussion der deskriptiven Histologie

Das Konzept des Tissue engineering scheint bei der Therapie osteochondraler Läsionen eine völlig neue Dimension therapeutischer Möglichkeiten zu eröffnen. Besonderes Augenmerk bei den in diesem Projekt eingesetzten Poly-D,L-Lactid-Implantaten unterschiedlicher Steifigkeit und ihre damit verbundene mechanische Kompetenz lag auf der Regenerationsfähigkeit osteochondraler Defekte bzw. auf der Rekonstruktion der subchondralen Lamelle. Die Steifigkeit des Scaffolds übte einen entscheidenden Einfluss auf die Formation des subchondralen Knochens und damit einhergehend auf die Regeneration des Knorpels aus (Schlichting et al., 2008).

Die zu Grunde liegende Überlegung fokussiert sich auf die Rekrutierung undifferenzierter mesenchymaler Stammzellen durch die Eröffnung des gut vaskularisierten subchondralen Knochens. Die dort entsprechend einwirkenden mechanischen Rahmenbedingungen (Caplan et al., 1997; Jansson et al., 2000; Chen et al., 2004; Kummer, 1995) und das vorherrschende physiologische Milieu (Boyan et al., 1999; Kim und Han, 2000) wirken sich ebenfalls modulierend auf das Differenzierungspotenzial der Knochenmarkstammzellen aus. Hervorzuheben ist ihre leichte Gewinnung und ihre hohe biosynthetische Aktivität (Kim und Han, 2000).

Porosität

Allgemein anerkannt ist, dass die Porosität der Implantate einen entscheidenden Einfluss auf die Ansiedelung und Interaktion der Zellen hat (Rudert und Wirth, 1998; Hunziker, 1999; Woodfield et al., 2002; Jansson et al., 2000; Sherwood et al., 2002; Freed et al., 1994; Hunziker, 2002; Günther et al., 1998; Karageorgiou und Kaplan, 2005; Liu und Ma, 2004; Jones et al., 2006). Die Poren sollten möglichst offen und zu einem interkonnektierten System verbunden sein, um eine optimale Ernährung und Abtransport von Stoffwechselprodukten

gewährleisten zu können (Sherwood et al., 2002; Jones et al., 2006).

In diesem Zusammenhang sei auch die Porengröße als eine wesentliche Einflussgröße erwähnt, die die Anhaftung, die Penetration und die Proliferation der einsprossenden Zellen gewährleistet. Die bestehenden Poren sollten den einwachsenden Zellen ein ungehindertes Einsprossen ermöglichen, um so die Regeneration des Defektes und eine schnelle Verankerung des Implantats im umliegenden Knochen zu erreichen (Boyan et al., 1999; Gelinsky et al., 2004). Auch die Qualität des generierten Gewebes ist maßgeblich von der Porengröße abhängig. Bindegewebige Strukturen benötigen Porendurchmesser von 5-15 μm , mineralisierter Knochen von 100 μm und osteonähnliche Strukturen Durchmesser von mehr als 200 μm , um sich in der porösen Matrix anzusiedeln (Schenk, 1991; Gelinsky et al., 2004; Pineda et al., 1996; Guo et al., 2004; Boyan et al., 1999; Hollinger et al., 2005). Eine hohe Porosität des Implantates fördert den Knocheneinbau, gleichzeitig limitiert dies wiederum die mechanische Stabilität (Karageorgiou und Kaplan, 2005; Hollinger et al., 2005).

Zusätzlich beeinflusst die Porengröße funktional die Steifigkeit und den internen Zusammenhalt (Kim und Han, 2000; Karageorgiou und Kaplan, 2005; Byrne et al., 2007). Dieser Zusammenhang spiegelte sich in den verwendeten Implantaten wider. Die weichen Scaffolds wiesen eine höhere Porosität bei geringerer Steifigkeit (55% der nativen Steifigkeit) auf, verglichen mit den harten Scaffolds die sich durch eine geringere Porosität dafür aber höhere Steifigkeit (85% der nativen Steifigkeit) auszeichneten. Die Porengröße der verwendeten Scaffolds wurde aus firmenpolitischen Gründen nicht preisgegeben, war aber makroskopisch sichtbar und entsprach somit den Anforderungen hinsichtlich hoher Porosität und geeigneter Porengröße, da sie den angesiedelten Zellen Anhaftung, Penetration und Proliferation ermöglichte, die sich in der Generierung einzelner Gewebekomponenten widerspiegelt. Die hier verwendete poröse dreidimensionale Konstruktion ermöglicht die Penetration und das Einwachsen mesenchymaler Stammzellen aus dem Knochenmarksraum und deren Differenzierung ähnlich den Beobachtungen von Jansson (Jansson et al., 2000). Dadurch wird den einwandernden Zellen mit chondrogenem Potenzial die Etablierung einer knorpelähnlichen Matrix ermöglicht (Kim und Han, 2000; Dorotka et al., 2005; Chen et al., 2004; Fan et al., 2006).

Osteoinduktion

Während die Initialphase der knöchernen Integration im Wesentlichen von der Oberflächenbeschaffenheit des Implantates bzw. von der Osteoblastenaktivität bestimmt wird, hängt die knöcherne Integration und Fixation poröser biodegradierbarer Implantate (Knochenersatzstoffe) laut Günther maßgeblich von der Fähigkeit der Osteokonduktion ab (Günther et al., 1998). Dabei dient die dreidimensionale trabekuläre Struktur einsprossenden Gefäßen und Osteoprogenitorzellen als Leitgerüst (Günther et al., 1998; Boyan et al., 1999; Schenk, 1991; Karageorgiou und Kaplan, 2005; Liu und Ma, 2004; Hutmacher, 2000). Hinsichtlich der Architektur stellt hierbei die Spongiosa eine Idealstruktur dar, bei der die Verbindungen der intertrabekulären Räume ausgezeichnete Voraussetzungen für das Einsprossen von Blutgefäßen und Begleitzellen schaffen (Günther et al., 1998). Die in dieser Studie eingesetzten porösen Scaffolds besitzen auf Grund ihrer architektonischen Struktur osteokonduktive Fähigkeiten. Die in der Peripherie beginnende Knochenneubildung verdeutlichte die osteoinduktive Wirkung der Implantate. Diese Beobachtung konnte in allen Präparaten vor allem im dorsalen Bereich der Defektränder gemacht werden, die eine beginnende Rekonstruktion der subchondralen Lamelle und eine laterale knöcherne Integration erkennen ließen. Dies spiegelte sich in höheren Punktwerten im Histoscore wider verglichen mit den Leerdefekten.

Steifigkeit

Biodegradierbare Implantate unterschiedlicher Steifigkeiten kommen häufig in der orthopädischen Chirurgie zur Therapie von osteochondralen Defekten zur Rekonstruktion des subchondralen Knochens zum Einsatz. Die ideale Steifigkeit eines Implantates ist bis heute unklar. Allerdings ist bekannt, dass die mechanischen Einflüsse eine bedeutende Rolle in der Regeneration der subchondralen Lamelle spielen (Duda et al., 2005).

Die hier verwendeten Poly-D,L-Lactid-Implantate zur Versorgung osteochondraler Defekte hatten eine Steifigkeit von 55% (Polyweich) und 85% (Polyhart) bezogen auf den gesunden nativen ovinen subchondralen Knochen. Dabei impliziert eine größere Steifigkeit gekoppelt an eine geringe Porosität eine höhere mechanische Stabilität (Byrne et al., 2007). Die Regeneration des subchondralen Knochens wird durch eine höhere Steifigkeit des Poly-D,L-Lactid-Implantates positiv beeinflusst (Schlichting et al., 2008). Ähnliche Beobachtungen konnten auch in der vorliegenden Studie gesehen werden. Die Regeneration des subchondralen Knochens wurde von den harten Scaffolds zum Zeitpunkt von drei Monaten positiv beeinflusst. Diese Ergebnisse spiegeln sich in höheren Punktzahlen des Histoscores bezüglich der Regene-

ration der subchondralen Lamelle, der Oberflächenbeschaffenheit und der Defektauffüllung wider sowie in einem höheren prozentual ermittelten Wert in der Histomorphometrie für den Parameter mineralisierten Knochen.

Die Unterschiede in der Steifigkeit der resorbierbaren Polymere und des Degradationsverhaltens wurden durch Variationen des Anteils der beiden Hauptkomponenten PLA und PGA erreicht. Die Ausgangsstoffe stellen lineare Polyester der Milch- und Glykolsäuren (Polylactid bzw. Polyglykolid) dar (Gerlach, 2000). Die Mikrostruktur kann sowohl amorphe als auch kristalline Bereiche aufweisen und hat entscheidenden Einfluss auf die Festigkeit des Polymers. Eine amorphe Struktur bedingt eine niedrigere Festigkeit auf Grund ihrer ungerichteten Verzweigung der Polymerketten (Gerlach, 2000). Kristalline Regionen sind durch eine parallel geordnete Anordnung der Polymerketten unter Ausnutzung der intramolekularen Kräfte charakterisiert und zeichnen sich durch höhere Festigkeitswerte und langsame Degradation aus (Claes et al., 1998; Helling und Weiler, 1998; Boyan et al., 1999).

Eine detaillierte Aufschlüsselung bezüglich der Zusammensetzung der reinen Polymere der verwendeten Scaffolds wurde aus firmenpolitischen Gründen nicht preisgegeben. Auf Grund der verschiedenen Eigenschaften der reinen Polymere kann in Bezug auf die Zusammensetzung nur spekuliert werden. Die Implantate der Gruppe Polyweich mit einer Steifigkeit von 55% weisen vermutlich einen höheren Anteil an Polyglykolid mit amorpher Struktur auf verglichen mit der Gruppe Polyhart, während in dieser Gruppe wahrscheinlich der Anteil an Polylactid dominiert und dadurch eine höhere Steifigkeit erreicht wird. Die Mikrostruktur des Polylactids mit seinen kristallinen Regionen ist verantwortlich für die höhere Festigkeit und die langsame Degradation.

Jansson prüfte in seinen Studien den Einsatz verschiedener Poly-D,L-Lactid-Implantate in Bezug auf die Regeneration osteochondraler Defekte. Dabei sollte das Implantat eine dem umliegenden Knochen angepasste ähnlich harte Struktur aufweisen und mit einem Elastizitätsmodul unterhalb des spongiösen Knochens ausgestattet sein (Jansson et al., 2000; Pineda et al., 1996). Auf Grund der größeren Steifigkeit des neu gebildeten Knochens wird nach Einwachsen des Knochens in das synthetische Konstrukt die mechanische Last von diesem getragen (Jansson et al., 2000; Schenk, 1991; Byrne et al., 2007; Swieszkowski et al., 2007). Studien von Sherwood und Bergsma bestätigten die Ergebnisse von Jansson, dass langfristig die mechanische Stabilität durch das neue synthetisierte Gewebe getragen wird (Jansson et al., 2000; Sherwood et al., 2002; Bergsma et al., 1995). Diesen Anforderungen werden in der vor-

liegenden Studie eher die harten Scaffolds gerecht. Während der Degradation des Implantates hypertrophiert der Knochen in den Implantatporen, um den Verlust an Stabilität auszugleichen (Jansson et al., 2000; Günther et al., 1998). Für den Heilungsfortschritt ist es unumgänglich, mit zunehmender Differenzierung des regenerierenden Gewebes wachsende mechanische Beanspruchung auf das Heilungsgebiet zu übertragen, um den Heilungsprozess zu dynamisieren (Claes, 2002; Rehm et al., 1997; Bergsma et al., 1995; Woodfield et al., 2002). Ähnliche Ergebnisse ließen sich auch in der vorliegenden Studie dokumentieren. Der neu synthetisierte Knochen von kompakter Struktur stabilisierte den Defektbereich und erhöhte dadurch die Integrität des Implantates. Der neugebildete Knochen wies in der Regel eine innige Verbindung zum umliegenden knöchernen Gewebe auf. Der ursprüngliche Defekt wurde knöchern aufgefüllt bis maximal zur subchondralen Lamelle, andere Studien berichten von ähnlichen Ergebnissen (Convery et al., 1972; Wakitani et al., 1994). Die vollständige Ausbildung der subchondralen Lamelle zum frühen Zeitpunkt, beobachtet in einzelnen Präparaten der Gruppe Polyhart, erzielte qualitativ bessere Ergebnisse. Strukturell dominierte die Sklerosierung der subchondralen Lamelle, doch gelang dadurch die Rekonstruktion einer lasttragenden Gelenkoberfläche.

Der subchondrale Knochen übernimmt nicht nur eine entscheidende Rolle als effektiver Druckabsorber, sondern bildet auch ein verstärktes Widerlager, welches die auf den Knorpel einwirkenden Scherkräfte minimiert (Radin und Rose, 1986). Sowohl der Knorpel als auch der subchondrale Knochen unterliegen während der Be- und Entlastung einer Deformation, welche eine notwendige Voraussetzung für die Ernährung des Gewebes darstellt und zudem noch die Syntheserate der Proteoglykane, der Kollagenfibrillen und der Knochentrabekel fördert (Imhof et al., 2000; Sah et al., 1989). Die mechanischen Eigenschaften des subchondralen Knochens sind entscheidend für die Gesundheit des Knorpels (Radin und Rose, 1986). Aus diesem Grund ist die Rekonstruktion der subchondralen Knochenlamelle eine entscheidende Voraussetzung für die Ausbildung einer lasttragenden Gelenkoberfläche bei der Regeneration osteochondraler Defekte (Braun et al., 1983; Schlichting et al., 2008; Shao et al., 2006). Gleichzeitig kann die Steifigkeit der subchondralen Knochenlamelle nachhaltig Einfluss auf die Gelenkkonformation nehmen. Diese Voraussetzungen erfüllen die in dieser Studie verwendeten harten Scaffolds. In ihren Studien dokumentierten Radin und Rose 1986 ein gehäuftes Auftreten von Scherkräften innerhalb des artikulären Knorpels, die primär in Verbindung mit Diskontinuität oder Veränderung in der Steifigkeit der subchondralen Knochenlamelle standen (Radin und Rose, 1986). Diese Aussage ließ sich auch in der vorliegenden Studie

bestätigen. Der Einsatz weicher Scaffolds mit einer sehr viel geringeren Steifigkeit als das umliegende Knochengewebe war zum frühen Zeitpunkt nicht in der Lage, die notwendige Stabilität zu liefern um die subchondrale Knochenlamelle vollständig zu rekonstruieren und eine glatte Knorpeloberfläche zu generieren. Bei Überbelastung des subchondralen Knochens und des hyalinen Knorpels lassen sich weitreichende strukturelle Veränderungen verzeichnen. Konsequenz der fehlenden Stabilität war eine deutliche Sklerosierung des umliegenden Knochengewebes und eine erhöhte Knochendichte. Die Folge bestehender Überbelastung des Knorpels sind Risse und Fibrillationen an der Oberfläche (Kummer, 1995). Diese Umstände finden vor allem im Histoscore A Berücksichtigung und spiegeln sich in deutlich niedrigeren Punktwerten wider.

In wiefern sich die Heilungsergebnisse in der vorliegenden Studie in Abhängigkeit von der unterschiedlichen Porosität, Porengröße oder Steifigkeit widerspiegeln, lässt sich im Rahmen dieser Studie abschließend nicht klären, da sich die genannten Faktoren in den Scaffolds vereinen und in einem Zusammenhang stehen. Letztlich kann nicht unterschieden werden, welcher Faktor oder welche Faktoren die Regeneration zu welchen Anteilen beeinflusst haben. Die verwendeten harten Poly-D,L-Lactid-Scaffold vereinten die von der Literatur geforderten positiven Eigenschaften hinsichtlich Osteokonduktion, Penetration, Differenzierung und Proliferation einwandernder Zellen. Die verwendeten biodegradierbaren Implantate eigneten sich auf Grund ihrer ausreichenden strukturellen und mechanischen Stabilität zur Auffüllung des subchondralen Knochens.

Degradation

Die mechanische Festigkeit, die Mikroarchitektur und die Degradationskinetik wurden maßgeblich von der Zusammensetzung der einzelnen Polymere bestimmt. Solange die Polymere nicht degradieren weisen sie eine ausgezeichnete Gewebeverträglichkeit auf. Das hydrophobe PLA weist einen langsameren hydrolytischen Abbau auf. Dieser ist ab dem sechsten Monat dokumentierbar und kann unter Umständen bis zu fünf Jahren andauern (Hoffmann et al., 1997; Bergsma et al., 1995; Claes et al., 1998; Weiler et al., 2000; Weiler et al., 1997). Im Zuge der langsamen Degradation ermöglichte die allmähliche protrahierte Freisetzung eine adäquate Entfernung aus dem Implantatlager, ohne die Phagozytosekapazität der ansässigen Makrophagen und Granulozyten zu überfordern (Hoffmann et al., 1997; Pistner et al., 1993). Im Gegensatz dazu beginnt die Degradation des hydrophilen PGA bereits nach 1-2 Wochen (Gerlach, 2000). Bezeichnend für Polyglykolid ist seine hohe initiale Festigkeit auf Grund

seiner kristallinen Struktur (Weiler et al. 1997), jedoch verliert das Material nach 6-8 Wochen vollständig seine Festigkeit (Claes et al., 1998; Helling und Weiler, 1998). Durch die Kombination verschiedener Polymere wie z.B. Polylactid und Polyglykolid wird eine optimale Steuerung des Degradationsverhaltens vor allem im Hinblick auf Steifigkeitsabfall und Volumenabbau erzielt (Claes, 2002; Rehm et al., 1997; Claes et al., 1998; Freed et al., 1994; Byrne et al., 2007). Die unterschiedlichen Versuchsergebnisse in der Literatur bezüglich des zeitlichen Abbaus können auf Unterschiede in der Zusammensetzung und Struktur zurückgeführt werden sowie auf differente Implantationsstellen oder Tiermodelle (Günther et al., 1998).

Die Scaffolds der Gruppe Polyhart vereinen eine höhere Steifigkeit und eine langsamere Degradation bzw. Volumenabbau. Die schnellere Degeneration der weichen Scaffolds ist vermutlich auf ihre geringere Polylactidglykolid- Masse und ihre hohe Porosität zurückzuführen. Analog zu ihrem Degradationsverhalten erfahren die Implantate einen Steifigkeitsabfall, dieser Umstand wird einerseits maßgeblich gesteuert von dem vorherrschenden biologischen Millieu, andererseits von der einwirkenden Belastungssituation (Weiler et al., 2000; Byrne et al., 2007).

Die erzeugten osteochondralen Defekte wurden unter Verwendung synthetischen Poly-D,L-Lactid-Implantate unterschiedlicher Steifigkeit nur bis zur subchondralen Lamelle aufgefüllt. Die dorsalen Abschnitte der Scaffolds befanden sich von Anfang an in direktem Kontakt zur Synovia. Diese Tatsache legt die Vermutung nahe, dass dorsale Scaffoldpartikel von der umgebenden Synovia herausgelöst bzw. resorbiert wurden. In der Gruppe Polyweich waren nach drei Monaten die dorsalen Bereiche der Implantate nicht mehr zu erkennen. Die hohe Porosität bedingt eine große Materialoberfläche. Diese Gegebenheiten beschleunigten die hydrolytische Spaltung und förderten den zügigen Abbau in diesem Bereich (Lu et al., 1999). Dieser schnelle und massive Substanz- und Stabilitätsverlust der weichen Scaffolds konnte vermutlich durch das neugebildete Knochengewebe nicht kompensiert werden. Der Verlust der mechanischen Kompetenz könnte sich nachhaltig auf die Regeneration des Knorpels ausgewirkt haben. Das neugebildete knöcherne Gewebe war nicht in der Lage, die Anforderungen hinsichtlich mechanischer Stabilität, adäquater Lastaufnahme, Verteilung und Weiterleitung zu erfüllen, folglich konnten die auf den neu gebildeten Knorpel einwirkenden Scherkräfte nicht in adäquater Weisen minimiert werden.

Auf Grund der langsameren Degradation und der höheren mechanischen Kompetenz stabilisierten die harten Scaffolds die Defektsituation effektiver und erzielten dadurch eine kontinuierliche knöcherne Durchbauung. Zusätzlich erzielten die harten Scaffolds eine bessere Defektauffüllung mit fast 90%. Für einen optimalen Heilungserfolg ist nicht die initiale Steifigkeit von Bedeutung, sondern die vorherrschende Steifigkeit während der gesamten Heilungsperiode (Schlichting et al., 2008).

Fremdkörperreaktionen

In der Literatur wird ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Auftreten entzündlicher Reaktionen und den spezifischen Eigenschaften synthetischer Scaffolds gesehen. Entzündungsreaktionen sind häufig mit der Verwendung von reinem PGA und ihrer schnell fortschreitender Degradation und lokaler Akkumulation von niedermolekularen Polymerpartikeln vergesellschaftet (Hoffmann et al., 1997; Weiler et al. 1997; Gerlach, 2000; Bergsma et al., 1993; Böstman, 1992; Shao et al., 2006). Begünstigend wirken sich eine große Materialoberfläche, eine hohe Molekularstruktur und eine Hydrophilie aus sowie ein deutlicher Abfall des pH-Wertes (Daniels et al., 1992), eine hohe Kristallinität und eine schlechte Gefäßversorgung (Claes, 2002).

Die hydrolytische Spaltung von PLA setzt saure Abbauprodukte frei, die einen Abfall des physiologischen pH-Wertes induzieren (Jager et al., 2002; Boyan et al., 1999; Daniels et al., 1992; Bergsma et al., 1993; Weiler et al., 1996; Gerlach, 2000; Böstman, 1991) und dadurch ein zelltoxisches Milieu generieren (Weihe et al., 2001). Dieses zelltoxische Milieu legt den Grundstein für die häufig beobachteten Fremdkörperreaktionen während der Degradation (Jager et al., 2002). Die Inkorporation der Polymerpartikel führt zur Aktivierung von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen und leitet dadurch Entzündungsreaktionen ein (Helling und Weiler, 1998; Böstman et al., 1990). Auch in dieser Studie traten milde bis moderate Entzündungsreaktionen in direkter Umgebung zu den noch nicht degradierten Scaffoldpartikeln in beiden Gruppen auf. Diese manifestierten sich in einer diffusen Akkumulation von aktivierten Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Fremdkörperriesenzellen. Diesen Sachverhalt beschrieben und belegten auch andere Studien (Hoffmann et al., 1997; Weiler et al., 1996; Gogolewski, 2000; Bergsma et al., 1995; Bergsma et al., 1993; Heidemann et al., 2001; Böstman et al., 1990). Teilweise gelang der Nachweis von inkorperierten Polymerpartikeln in den zur Phagozytose befähigten Zellen. Studien von Lahm und Helling beweisen, dass die phagozytierten Polymerpartikel den Zelltod der Makrophagen induzieren und dadurch

Entzündungsreaktionen einleiten (Helling und Weiler, 1998). Allgemein war nach einem Zeitraum von sechs Monaten eine Reduktion der Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen zu vermerken, parallel zur fortschreitenden Resorption des Scaffoldmaterials. Die kristallinen Degradationsprodukte der harten Scaffolds persistierten lange am Ort ihrer Entstehung, so dass die ansässigen Makrophagen nicht in der Lage waren, diese weiter abzubauen. Vor diesem Hintergrund lassen sich die moderaten Entzündungsreaktionen in der Gruppe Polyhart erklären. In einigen Fällen reagierte der Organismus auf diese Situation mit bindegewebiger Abkapselung. Darin könnte auch die Ursache für das gelegentliche Auftreten von Zysten in der Gruppe Polyhart nach einem Zeitraum von sechs Monaten zu suchen sein. Die Inzidenz lokaler Fremdkörperreaktionen wird durch die pro Zeiteinheit freigesetzten Degradationsprodukte bestimmt, welche zu einer Überbelastung der zellulären Klärkapazität führen (Weiler und Hoffmann, 1998). Vermutlich liegt in ihrer zu schnellen Degradationskinetik die Ursache für die in der Gruppe Polyweich vorgefundenen Fremdkörperreaktionen begründet.

Entzündung

Der kreierte osteochondrale Defekt löst eine traumatische Schädigung des Gewebes aus, der eine inflammatorische Reaktion initiiert (Buckwalter and Mankin, 1998a; Mankin, 1982). Der in den Defekt implantierte Scaffold wird durch die Eröffnung des vaskularisierten subchondralen Knochens in die Formierung und Stabilisierung eines Hämatoms mit einbezogen (Boyan et al., 1999), ermöglicht eine größere Ausdehnung und erhöht die Adhäsion der eingewanderten Zellen (Hunziker, 2002; Hunziker, 1999). Entzündungszellen, freigesetzte Wachstumsfaktoren sowie spezielle Mediatoren fördern die Migration der mesenchymalen Stammzellen (Mankin, 1982) und ihre Differenzierung. Andererseits stimulieren sie die Angiogenese und somit die Reparatur (Cunningham et al., 1992; Buckwalter, 2002; Mow et al., 1991). Eine adäquate Vaskularisation ist die Voraussetzung für die Ernährung der angesiedelten Zellen und liefert die Grundlage für die Remodelingprozesse des Knochens (Boyan et al., 1999; Swieszkowski et al., 2007). Gleichzeitig ermöglicht in der Region des subchondralen Knochens der direkte Kontakt der Gefäße zum Knorpel einerseits eine Versorgung des umliegenden Knorpels und andererseits den Abtransport von Stoffwechselendprodukten (Imhof et al., 2000). Die beiden in dieser Studie verwendeten Scaffolds wiesen eine adäquate Vaskularisation mit ähnlicher Vaskularisationsverteilung auf. In direkten Zusammenhang stehen Gefäßantwort und Etablierung einer Entzündung. Dieses geschieht in Abhängigkeit vom Degradationsverhalten der synthetischen Scaffolds. PLA/PGA-Copolymere werden von mehreren

Autoren als relativ verträglich, nicht toxisch und nicht inflammatorisch beschrieben (Hofman, 1995; Bergsma et al., 1993). Börstmann berichtet über intraartikuläre und synoviale Weichteilreaktionen provoziert durch direkten Kontakt der kristallinen Abbauprodukte mit der Synovialis (Böstman, 1990). Zu keiner Zeit wies in dieser Studie eines der operierten Kniegelenke Anzeichen einer entzündlichen Schwellung, Synovialitis oder aseptischer Fisteln auf. Dies legt die Vermutung nahe, dass die Degradation der synthetischen Scaffolds in Abhängigkeit ihrer verschiedenen Degradationskinetiken komplikationsarm verlief. Jedoch konnten inflammatorische Reaktionen und Fremdkörperreaktionen in direkter Umgebung zu den Scaffoldpartikeln beobachtet werden. Dieser Umstand verdeutlicht sich in geringeren Punktzahlen im Histoscore B verglichen mit den Leerdefekten.

Resorbierbarkeit

Jegliche Traumatisierung des Knochengewebes, auch die Defektbohrung, löst eine lokale Aktivierung der Knochenneubildung aus. Diese erreicht ihren Höhepunkt ein bis zwei Monate im Anschluss an das Trauma, sei es durch experimentell induzierte osteochondrale Defekte, Frakturen oder Implantate (Schenk, 1991).

Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen, die direkt die Oberfläche der Scaffoldpartikel angreifen, phagozytieren einzelne Degradationprodukte. Die Inkorporation von Scaffoldpartikeln aktiviert diese Zellen und befähigt sie zur Ausschüttung von Mediatoren, die Osteoklasten rekrutieren bzw. die Osteoklastenaktivität erhöhen und somit die Knochenresorption einleiten (Hoffmann et al., 1998; Cohn, 1978; Mankin and Shapiro, 1986; Böstman, 1992; Helling und Weiler, 1998; Weiler et al., 1998). Osteoblasten erfüllen ihre Aufgabe nur in räumlicher Nähe zu kleineren Gefäßen. Diese Beobachtung wurde in der vorliegenden Studie bestätigt: im Zuge der Regeneration bildeten sich in der Tiefe des Defektes Gefäße. Die Resorbierbarkeit der Polymere ist maßgeblich für eine knöcherne Durchbauung des Defektbereichs. Die Durchbauung sollte primär durch Osteoblasten bewerkstelligt werden und dem zeitlichen Verlauf der Knochenresorption entsprechen. Der Abbau des Scaffolds erfolgte von außen nach innen, dabei erweiterten Osteoklasten bestehende Poren und durchdrangen poröse Septen. Vor diesem Hintergrund sollte der Resorptionsvorgang zeitlich parallel zu der durch den operativen Eingriff induzierten Knochenbildung ablaufen.

Die knöcherne Integration poröser Knochenersatzstoffe bzw. synthetischer Implantate hängt maßgeblich von ihrer osteokonduktiven Fähigkeit ab, dem umliegenden Gewebe als Leitgerüst zu dienen (Günther et al., 1998; Boyan et al., 1999; Schenk, 1991). Schenk ist der Auf-

fassung, dass die Substitution von Knochenersatzstoffen nach dem gleichen Prinzip wie der physiologische Knochenumbau erfolgt (Schenk, 1991). Abweichungen davon stellen das sensible Gleichgewicht zwischen den knöchernen Auf- und Abbauvorgängen in Frage. Einerseits führt eine zu schnelle Resorption der Scaffolds zum Einbruch des Leitgerüsts (Byrne et al., 2007), andererseits beeinträchtigt eine übermäßig lange Persistenz den Aufbau einer physiologischen Knochenstruktur (Schenk, 1991). Dies bestätigte auch die vorliegende Studie. Die von Schenk aufgestellte These, dass sich die Knochenbildung anfänglich auf die Auffüllung der Poren beschränkt und erst im Anschluss daran die knöcherne Integration von der Resorbierbarkeit der Poly-D,L-Lactid-Implantate abhängt (Schenk, 1991), fand auch in der vorliegenden Studie Bestätigung. Nur in Regionen, in denen zuvor Scaffoldmaterial resorbiert wurde, hatte sich neuer mineralisierter Knochen gebildet. In Bereichen, in denen das Implantat noch nicht resorbiert wurde, erfuhren die Implantatporen eine knöcherne Auffüllung. Die initiierte Knochenneubildung beginnend in der Peripherie des Scaffolds verläuft parallel zu dem Abbau des synthetischen Materials, in Abhängigkeit von der Degradationskinetik (Shao et al., 2006). Zu keinem Zeitpunkt war eine vollständige Resorption des Scaffoldmaterials zu beobachten, unabhängig von der Degradationskinetik. Die Gruppe Polyhart wies makroskopisch nach sechs Monaten wie zu erwarten einen größeren Anteil an nicht resorbierten Scaffoldpartikeln auf. In diesen Zusammenhang fügte sich dementsprechend die gering zu detektierende Knochenbildung und bestätigte die von Schenk aufgestellte These, dass der Erfolg der knöchernen Durchbauung von der Resorbierbarkeit der Knochenersatzstoffe abhängt.

Laut Gogolewski kann die Formation neu synthetisierter Knochen in direktem Kontakt zum Scaffold als Indikator für eine gute Biokompatibilität gesehen werden (Gogolewski, 2000). Voraussetzungen für eine komplikationslose Einheilung sind eine angemessene Biodegradation und Biokompatibilität. Endgültige Aussagen bezüglich der Heilung können auch nach sechs Monaten nicht getroffen werden da, eine vollständige Degradation der Implantate nicht eingetreten ist.

Einige Autoren beschreiben die Anwesenheit bindegewebiger oder knöcherner Manschetten um die Implantate als charakteristisch (Claes, 2002; Helling und Weiler, 1998; Heidemann et al., 2001; Suganuma und Alexander, 1993). Während der Degradation entstehen innere und oberflächliche Risse, in die Bindegewebszellen eindringen können. Sie werden später durch Knochengewebe ersetzt (Helling und Weiler, 1998; Pineda et al., 1996; Suganuma und Alexander, 1993). Diese Beobachtung konnte auch in dieser Studie nachvollzogen werden. Die häufig zur Kenntnis genommene dünne bindegewebige Membran, gebildet aus

Fibroblasten und Histiozyten, formierte sich direkt um die Implantate und durchzog diese zum Teil. Gleichzeitig ließen sich auch Abschnitte erkennen mit direktem Kontakt zwischen dem Poly-D,L-Lactid-Implantat und den neu gebildeten angrenzenden mineralisierten Knochen. Diese knöcherne Einrahmung war mit verantwortlich für die Begünstigung einer lokalen Akkumulation durch einen nicht ausreichend schnellen Abtransport bzw. eine Persistenz der Degradationsprodukte (Helling und Weiler, 1998). Autoren wie Claes und Hoffmann sehen in dieser Tatsache eine der Ursachen für die Etablierung einer entzündlichen Gewebereaktion (Claes, 2002; Hoffmann et al., 1997). Dieser Ansatz fand in der vorliegenden Studie vor allem in Bezug auf die Gruppe Polyhart Bestätigung. Die bindegewebige und knöcherne Einrahmung der Implantate führte zu einer längeren Persistenz der Degradationsprodukte, ablesbar an dem nicht unerheblichen Anteil noch nicht degradierten Scaffold nach sechs Monaten, gekoppelt an lokale Fremdkörperreaktionen und einer geringen Knochenbildung.

Anforderungen an biodegradierbare Implantate

Die Anforderungen an biodegradierbare Implantate sind vielfältig. Gefordert werden Biokompatibilität, Sterilität, minimale Diffusionsbarriere, ausreichende Adhärenzeigenschaft, steuerbare Degradation sowie eine gute reproduzierbare dreidimensionale Struktur und temporäre Stabilität (Rudert und Wirth, 1998; Sherwood et al., 2002; Chen et al., 2004; Woodfield et al., 2002; Freed et al., 1994; Hunziker, 2002; Guo et al., 2004; Günther et al., 1998; Weihe et al., 2001). Einen weiteren wichtigen Aspekt neben den oben genannten stellt die Biomechanik dar: gefordert werden genügend Gestaltfestigkeit (Formschluss) und mechanische Belastbarkeit (Primärstabilität) sowie einfache Bearbeitung unter Operationsbedingungen (Günther et al., 1998; Swieszkowski et al., 2007; Uematsu et al. 2005). Alle genannten Eigenschaften vereinen beide hier verwendeten Implantate.

Die in dieser Studie eingesetzten Implantate entsprachen in unterschiedlicher Weise den Anforderungen. Mechanische Stabilität und eine stabile Fixation der hier verwendeten Scaffolds ermöglichten Lastaufnahme und Lastübertragung auf das umliegende Gewebe (Gogolewski, 1992). Der Scaffold agierte nicht nur als Platzhalter, sondern ermöglichte die knöcherne Durchbauung des Defektbereichs und stellte nach der Heilung im Idealfall den Zustand vor der Schädigung wieder her (Weihe et al., 2001). Eine feste Impaktierung mittels der press-fit-Technik und mechanische Ruhe des Scaffolds im Defektbereich ist die Voraussetzung für eine komplikationsarme und schnelle Regeneration. Relativbewegungen würden die Ossifikationsvorgänge stören, denn nur bei mechanischer Stabilität können sich mesenchymale

Stammzellen direkt in Osteoblasten differenzieren (Caplan, 1990). Sämtliche Defekte die mit einem Scaffold versorgt wurden wiesen eine sekundäre Knochenheilung (enchondrale Ossifikation) im Bereich der Defektränder auf. Vermutlich war dieses Erscheinungsbild auf die mechanische Instabilität im Implantationsbett zurückzuführen. Mesenchymale Stammzellen differenzierten sich auf Grund mechanischer Instabilität zu Chondrozyten und generieren Knorpel. Im Folgenden hypertrophierten und degenerierten die Chondrozyten, die Knorpelmatrix verkalkte. Der vormals vorhandene Knorpel wurde vollständig abgebaut und durch Knochengewebe ersetzt (Caplan et al., 1997). Vereinzelt Vorkommen kleinerer Knorpelinseln im Defektbereich ließen sich vor allem in der Gruppe Polyweich zum frühen Zeitpunkt verzeichnen. Diese Beobachtung untermauerte die geringe mechanische Stabilität der weichen Poly-D,L-Lactid- Scaffolds.

Die fortschreitende knöcherne Durchbauung gewährleistet langfristig mechanische Stabilität im Implantatbett und fördert die Heilung (Caplan et al., 1997). Studien von Gogolewski und Suganuma beweisen, dass mechanische Instabilität Entzündungsreaktionen induzieren können (Gogolewski, 2000; Suganuma und Alexander, 1993). Dieser Aspekt kann als weiterer Faktor in dem Themenkomplex; „Generierung entzündlicher Reaktionen“ angesehen werden. Verdeutlicht wurde diese Tatsache, da mit fortschreitender mechanischer Stabilität respektive Heilung im Implantatlager eine Minimierung der Entzündungsreaktionen eintrat.

Formstabilität

Die harten Scaffolds erzielten zum frühen Zeitpunkt die besseren Ergebnisse hinsichtlich Knorpelbildung, Oberflächenbeschaffenheit und Verbindung zum umliegenden intakten Knorpel. Die höhere Steifigkeit und eine gute Formstabilität halfen die Defektsituation zu stabilisieren. Gleichzeitig vermittelten und übertrugen sie in adäquater Weise die einwirkenden intermittierenden Druckbelastungen auf die eingewanderten mesenchymalen Zellen und förderten ihre Differenzierung und Proliferation zu Chondrozyten. Gelenkbewegung induzierte neben mechanischer Belastung des Gewebes auch elektrische und physiochemische Signale, die direkten Einfluss auf die synthetisierenden und degradierenden Aktivitäten der Chondrozyten nahmen (Mitchell und Shephard, 1980). Studien von Gray beweisen, dass die Biosynthese der Chondrozyten durch applizierte mechanische Stimuli beeinflussbar ist (Gray et al., 1988). Die charakteristischen, funktionellen Eigenschaften des Knorpels sind an die spezifische Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix gekoppelt (Buckwalter, 1988). Die Chondrozyten wiederum sind verantwortlich für die Synthese bzw. den turnover der Extrazel-

lulärenmatrix und modulieren dadurch die mechanischen Eigenschaften (Gray et al., 1988). Auf Grund ihrer geringen Zelldichte und Syntheserate sind sie nur bedingt in der Lage, auf variierende Änderungen des Belastungsmusters mit entsprechender angepasster synthetischer Aktivität zu reagieren (Buckwalter and Mankin, 1998a; Buckwalter, 1988; Martinek, 2003; Marlovits und Véscei, 2000a; Mankin, 1982).

In diesem Kontext waren die Gründe für die schlechteren Ergebnisse bezüglich der Knorpelbildung der weichen Scaffolds zum Zeitpunkt von drei Monaten zu suchen. Die vorherrschenden Druckbelastungen führten auf Grund der geringen Steifigkeit zu einer Deformierung des Scaffolds und der in ihn eingewanderten Zellen. Die Applikation dieser unphysiologischen Belastung in Form von statischer Belastung schränkte einerseits die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen zu Chondrozyten ein, andererseits wurde dadurch die Biosynthese der ansässigen Chondrozyten reduziert (Gray et al., 1988).

Knorpelmetabolismus

Das initiale Trauma und die sich daraus entwickelnden unterschiedlichen Druckbelastungen führten zu degenerativen Veränderungen im Knorpelbereich. Der Abschluss des Implantates auf Höhe der subchondralen Lamelle gewährleistete keine optimale Kongruenz der Gelenkoberfläche. Dieser Umstand führte zu einer steigenden Belastung des angrenzenden hyalinen Knorpels und des darunter liegenden subchondralen Knochens. Morphologisch konnten Desintegration der Kollagenultrastruktur mit Verlust der Proteoglykane (Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998a; Buckwalter, 1983; Meachim, 2001), Deformation und Verlust der Chondrozyten (Ulrich-Vinther et al., 2003), Fissurenbildung oder Erosionen oberflächlichen Knorpels sowie Verdickung der subchondralen Lamelle erfasst werden. Lokale Veränderungen im Chondrozytenmetabolismus führten zu struktureller Desintegrität (Meachim, 2001). Damit verbunden waren Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften wie Reduktion der Steifigkeit, Zunahme in der Permeabilität (Gray et al., 1988), die letztlich zum Untergang weiterer Chondrozyten führten (Buckwalter et al., 1994a) und Degenerationszeichen induzierten. Caplan beobachtete in seinen Studien, dass Defekte mit Eröffnung des subchondralen Knochens im basalen Bereich eine knöcherne und eine knorpelähnliche Auffüllung an der Gelenkoberfläche zeigten (Caplan et al., 1997). Der direkte Kontakt der Osteoprogenitorzellen mit der Synovialis veranlasste diese Zellen, sich zu Chondrozyten zu differenzieren mit dem Versuch, eine artikuläre Oberfläche zu bilden (Caplan et al., 1997). Ähnliche Beobachtungen lieferte die durchgeführte Studie.

Die Oberfläche der mit einem harten Scaffold versorgten Defekte war nach drei Monaten größtenteils glatt und intakt. Für einen guten Gelenkknorpelersatz ist eine regelmäßige Oberfläche essentiell (Marlovits und Véscei, 2000a). Allerdings waren auch einige Bereiche, in denen primär Faserknorpel charakterisiert durch Rauheiten und Fibrillationen vorherrschte, erkennbar. Eine unregelmäßige Oberfläche kann zu Irritationen im Gelenk und somit zu einer frühzeitigen Degeneration des gesunden Knorpels führen (Martinek und Imfof, 2003). Des Weiteren enthielt das neugebildete Regenerat sowohl bindegewebige als auch faserknorpelige Areale, die teilweise auch von Bereichen mit unreifen Chondrozyten, Chondrozytenclustern und einer leichten Hypozellularität geprägt waren. Die Formation von Chondrozytenclustern ist laut Brittberg ein Anzeichen einer erhöhten mitotischen Aktivität (Brittberg et al. 1996) und steht in unserer Studie in direktem Zusammenhang mit den vorherrschenden Reparaturvorgängen. Eine vollständige restitutio ad integrum konnte in keinem Präparat zu keinem Zeitpunkt festgestellt werden, zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch andere Arbeitsgruppen (Buckwalter and Mankin, 1998a; Buckwalter, 1998; Buckwalter, 2002; Marlovits and Véscei, 2000a). Hingegen zeichnete sich die generierte Oberfläche der Gruppe Polyweich hauptsächlich durch faserknorpelige Qualität aus und war charakterisiert durch Rauheiten und Fibrillationen. Laut Kim können die während der Bewegung auftretenden Druckbelastungen und einwirkende Scherkräfte bei Diskontinuitäten in der Oberfläche nicht optimal kompensiert werden. Das Resultat ist die Etablierung spezifischer Stresszonen sowie die Schädigung des Knorpelgewebes (Kim und Han, 2000). Dies war zu beiden Zeitpunkten abzulesen an einer geringeren positiven Safranin-Orange Anfärbung, die als ein Indikator für den Proteoglykangehalt angesehen wird. Eine glatte Oberfläche hingegen minimiert den Reibungswiderstand und stellt einen nicht zu unterschätzenden positiven Faktor bei der Verhinderung der Abnutzung des Transplantats und dem erneuten Auftreten von degenerativen Veränderungen nach erfolgter Reparatur dar. Im Defektbereich kann nun bevorzugt die Ausbildung von Faserknorpel und Bindegewebe beobachtet werden (Mankin, 1974; Campbell, 1969), der bezüglich der stoßdämpfenden und reibungsarmen Eigenschaften denen des hyalinen Knorpels deutlich unterlegen ist. Langfristig vermag Faserknorpel den im Gelenk herrschenden Spitzenbelastungen nicht Stand zu halten (Buckwalter, 1998; Buckwalter, 1983; Bobic und Noble, 2000; Shapiro et al., 1993). Aus diesem Grund ließen sich bereits erste degenerative Anzeichen am knorpeligen Regenerat verzeichnen. Diese Tatsache begründete das schlechtere Ergebnis dieser Gruppe verglichen mit der Gruppe Polyhart zum Zeitpunkt von drei Monaten. Aber auch nach sechs Monaten ließen sich Degenerationsanzeichen wahrnehmen, die die Langzeitprog-

nose des regenerierten Knorpels verschlechterte.

Laut Brittberg liegt die Hauptaufgabe der Knorpelreparatur darin, dass der neu gebildete hyalinähnliche Knorpel die umliegenden intakten Chondrozyten vor weiterer Schädigung bewahrt. Gefordert werden eine ebene Oberfläche und eine Verschmelzung mit dem umliegenden Gewebe, um die einwirkenden Druckbelastungen adäquat zu verteilen (Brittberg et al. 1996). Auch im angrenzenden Randbereich des ehemals intakten hyalinen Knorpels ließen sich bereits nach drei Monaten vereinzelt Anzeichen beginnender Degeneration in Form von Chondrozytenclustern nachweisen (Buckwalter et al., 1994a). Neben den Clustern und dem Verlust der hyalinspezifischen Anordnung konnte auch eine verminderte Anfärbung der Proteoglykane beobachtet werden, welche einen Verlust an Proteoglykanen anzeigte (O’Driscoll et al., 1986). Die Immobilität der Knorpelzellen verhinderte die notwendige Migration zu den geschädigten Arealen (Burkart und Imhof, 1999). Die metabolische und mitotische Aktivität der angrenzenden Chondrozyten ist begrenzt. Sie sind nur in limitierter Weise zur Reparatur befähigt (Campbell, 1969; Mankin, 1982; Buckwalter, 1983; Hunziker, 2002; Bobic und Noble, 2000; Buckwalter, 2002; Rudert und Wirth, 1998; Caplan et al., 1997). Vermutlich konnte deswegen nur ein teilweiser Verbund zwischen neu synthetisierten Knorpel und dem umliegenden gesunden Knorpel entstehen. Diese beginnenden Degenerationsanzeichen könnten langfristig die biologische und mechanische Kompetenz des hyalinen Knorpels nachhaltig beeinträchtigen. Zuletzt sollte der Aspekt der negativen thermischen Energie Berücksichtigung finden, die bei der Bohrung des Defektes frei wurde. Hitzenekrosen und die intraoperative Impaktierung könnten ebenfalls zu Degenerationszeichen im Randbereich führen.

Reaktion des Knochens auf Belastung

Die anatomische Architektur des spongiösen Knochens wandelt sich bei Änderung der funktionellen Beanspruchung in charakteristischer Weise um. Der mineralisierte Knochen wird auch im adulten Skelett permanent durch kontinuierliche Umbauvorgänge (Remodeling) in Abhängigkeit von der vorherrschenden mechanischen Beanspruchung erneuert (Schenk, 1991). Sowohl Druck- als auch Zugspannung regen die Knochenbildung an und erhöhen die Einlagerung von Mineralsalzen (Gray et al., 1988).

Dieser Zusammenhang wurde von Pauwels durch seine Theorie der kausalen Histiogenese der Stützgewebe beschrieben (Pauwels, 1973). Er postulierte, dass Zellen verschiedene, auf sie einwirkende mechanische Situationen wahrnehmen können und darauf gezielt reagieren. Die mechanischen Rahmenbedingungen die auf eine mesenchymale Stammzelle einwirken deter-

minieren ihre Differenzierung. So führen Dehnungsreize zur Bildung von faserreichem Bindegewebe, hydrostatischer Druck dagegen zur Entstehung von Knorpelgewebe. Knochen ist ein sekundäres Stützgewebe, welches sich nur auf der Grundlage eines bereits vorhandenen Stützgewebes aus Bindegewebe oder Knorpel entwickelt und dessen Bildung von der Größe der bei mechanischer Beanspruchung auftretenden Mikrodeformation abhängt (Kummer, 1995; Pauwels, 1973).

Die Regeneration der osteochondralen Defekte war zum frühen Zeitpunkt noch nicht vollständig abgeschlossen und die wechselnden Belastungssituationen spiegeln sich an den vorherrschenden Remodelingprozessen wider. Charakteristisch hierfür war die Anwesenheit von Osteoblasten und Osteoklasten, die sich mit ihrer Syntheseleistung an die jeweilige Belastungssituation adaptierten. Frühzeitig angepasste Belastung wirkt durch ihre osteoinduktive Wirkung stimulierend auf die Regeneration osteochondraler Defekte. Meachim postulierte, dass destruktive Knorpelläsionen das Resultat von Imbalancen des Remodelingprozesses sein könnten und zur Zerstörung der artikulierenden Oberfläche führen (Meachim, 2001).

Die lokale Belastungssituation übt Einfluss auf die Entwicklung des Regenerats aus. Die Ausrichtung der trabekulären Strukturen wurde der jeweiligen lokalen mechanischen Belastung angepasst und im Laufe der Zeit neu ausgerichtet. Die neu synthetisierten knöchernen Strukturen im Defektbereich erschienen nach drei Monaten vor allem die Gruppe Polyweich betreffend eher ungeordnet und kompakt mit klein lumigen Lakunen. Die trabekulären Strukturen wirkten unorientiert und in ihrer Ausrichtung verdickt. Die subchondrale Lamelle erschien sklerosiert. Die Remodelingprozesse waren auch nach sechs Monaten in beiden Gruppen noch nicht vollständig abgeschlossen und die Heilung osteochondraler Defekte noch nicht endgültig eingetreten.

5.3.4 Diskussion der unversorgten Defekte

Das Versuchsdesign ermöglichte, eine Aussage über das Regenerationspotenzial unbehandelter osteochondraler Defekte zu treffen. Die ursprüngliche Hypothese, dass die unversorgten Defekte im Vergleich zu den versorgten Defekten eine verzögerte und komplikationsbehaftete Heilung mit einem Regeneratgewebe von minderwertiger Qualität zeigen, hat sich bewahrheitet. Diese Vermutung begründet sich in dem limitierten Regenerationspotenzial. Die statistische Analyse der Ergebnisse in Bezug auf die unversorgten Defekte bestätigt die Annahme, dass sich die Heilung der unversorgten Defekte zwischen den Gruppen nicht unterscheidet. Allerdings waren erhebliche interindividuelle Variabilitäten sowohl in-

nerhalb der Gruppe als auch zwischen den einzelnen Gruppen in Bezug auf die Regeneration der unversorgten osteochondralen Defekte zu verzeichnen. Die Ursache hierfür könnte in Zusammenhang mit den verschiedenen Degradationsprodukten der Scaffold stehen.

Die spontane Heilung osteochondraler Defekte wurde in diversen tierexperimentellen Studien belegt (Shapiro et al., 1993; Convery et al., 1972; Jackson et al., 2001; Wakitani et al., 1994; Nam et al., 2004). Die Reaktion des Gelenkknorpels hängt entscheidend von der Tiefe und Ausdehnung des Defektes ab und verdeutlicht sich in der Qualität des Regeneratgewebes (Buckwalter, 2002; DePalma et al., 1966; Convery et al., 1972; Campbell, 1969; Alford und Cole, 2005; Calandruccio und Gilmer, 1962). Bedingt durch das limitierte Selbstheilungspotenzial osteochondraler Defekte können Defekte oberhalb der kritischen Defektgröße keine Spontanheilung im Sinne einer *restituito ad integrum* erfahren (Convery et al., 1972; DePalma et al., 1966; Jackson et al., 2001; Shahgaldi et al., 1991).

Die intrinsische Reparatursfähigkeit des hyalinen Knorpels ist nach traumatischen Läsionen limitiert (Buckwalter, 2002; Rudert und Wirth, 1998; Bobic und Noble, 2000; Campbell, 1969; Caplan et al., 1997; Wie und Messner, 1999). Calandruccio beobachtete die Bildung hyalinen Knorpels im Defektbereich (Calandruccio und Gilmer, 1962). Andere Autoren berichten über eine unvollständige Heilung unbehandelter osteochondraler Defekte (Campbell, 1969; DePalma et al., 1966; Convery et al., 1972; Buckwalter, 1998; Buckwalter, 2002; Marlovits und Véscei, 2000a). In diesem Zusammenhang sei die häufig von der Literatur beschriebene unregelmäßige, inhomogene, von Fibrillationen und tiefen Rissen durchzogene Regeneratoberfläche erwähnt. Diese fand sich auch in der vorliegenden Studie.

Eine vollständige Auffüllung bis zum Niveau der Gelenkoberfläche zeigen zum frühen Zeitpunkt nur wenige Präparate. Die anfänglich überwiegend bindegewebigen Auffüllungen wurden im Zuge der Regeneration durch vermehrte knöcherne und knorpelige Anteile verdrängt. Eine vollständige Regeneration des Defektbereichs war zu keinem Zeitpunkt in dieser Studie zu beobachten. Allerdings konnte im Laufe der Zeit eine Angleichung an die versorgten Defekte sowohl in den Ergebnissen der Histomorphometrie als auch im Histoscore gesehen werden.

Der kreierte osteochondrale Defekt löst eine traumatische Schädigung des Gewebes aus, der eine inflammatorische Reaktion initiiert (Buckwalter and Mankin, 1998a; Mankin, 1982). Die Beteiligung des gut vaskularisierten Knochens ermöglicht den klassischen Ablauf der Wundheilungskaskade (Buckwalter und Mankin, 1998a; Mankin, 1982). Dieser Umstand ermög-

licht die Formierung und Stabilisierung eines dichten Fibrinnetzes mit darin enthaltenen pluripotenten Stammzellen (Buckwalter, 2002; Mankin, 1982; Boyan et al., 1999; Hunziker und Rosenberg, 1996; Martinek, 2003; Campbell, 1969; Caplan et al., 1997; Wakitani et al., 1994). Entzündungszellen, freigesetzte Wachstumsfaktoren sowie spezielle Mediatoren fördern die Migration der mesenchymalen Stammzellen (Mankin, 1982) und ihre Differenzierung. Andererseits stimulieren sie die Angiogenese und somit die Reparatur (Cunningham et al., 1992; Buckwalter, 2002; Mow et al., 1991). Mesenchymalen Stammzellen wird die Fähigkeit zugesprochen, sich unter bestimmten mechanischen Einflussfaktoren in Chondrozyten, Osteoblasten und Fibrozyten zu differenzieren (Jansson et al., 2000). Der Fibrinpfropf agiert dabei als Leitgerüst für die eingewanderten Zellen (Hunziker und Rosenberg, 1996). Shapiro beobachtete eine innige Verbindung des Fibrinpfropfes mit den Wundrändern im Bereich des Knochens, jedoch nicht im Knorpelbereich (Shapiro et al., 1993). Defekte im Bereich des subchondralen Knochens werden von mesenchymalen Stammzellen, die letztlich zu Osteoblastenvorläufern proliferieren, ausgeglichen (Caplan et al., 1997). Die knöcherne Regeneration beginnt an der Defektbasis und den Defekträndern (Shapiro et al., 1993; Hunziker und Rosenberg, 1996; Pineda et al., 1996). In allen Präparaten war ein aufeinanderwachsen der Defektränder zu beobachten, jedoch ragte in keinem Präparat der neusynthetisierte Knochen über das Niveau des umliegenden Knochens hinaus. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen (Mankin, 1982; Jackson et al., 2001).

Allgemein war nach einem Zeitraum von sechs Monaten eine Reduktion der Entzündungsreaktionen zu vermerken, die geringer ausfiel als bei den gefüllten Defekten. Fremdkörperreaktionen auf Grund von kristallinen Degradationsprodukten wie sie bei der Versorgung mit einem Poly-D,L-lactid-Implantat gesehen wurden waren bei den Leerdefekten zu keiner Zeit festzustellen. Diese Tatsache ließ sich in höheren Punktwerten im Histoscore B ablesen.

Der direkte Kontakt zwischen Synovia und den osteochondralen Progenitorzellen beeinflusst ihre Differenzierung in Chondrozyten und befähigt sie zur Knorpelbildung (Caplan et al., 1997; Caplan, 1991). Auf diesem Wege wird schließlich der Defektbereich langsam mit Reparaturgewebe aufgefüllt (Cheung et al., 1978). Diese in der Literatur häufig beschriebenen Reparationsprozesse waren auch in der vorliegenden Studie nachvollziehbar. Shapiro wies in tierexperimentellen Studien am Kaninchen reproduzierbare physiologische Reparaturreaktionen nach (Shapiro et al., 1993). Seiner Meinung nach ist der limitierende Faktor für eine spontane Reparatur osteochondraler Defekte in der geringen Anzahl mesenchymaler Stammzellen und Blutgefäße des subchondralen Knochens zu suchen (Shapiro et al., 1993). Vermut-

lich führt der direkte Kontakt zwischen Synovia und Fibrinpfropf zum Herauslösen der ansässigen Zellen. Im Defektbereich bildet sich vorwiegend fibrocartilaginäres Gewebe mit vereinzelt hyalinen Inseln, dessen mechanische und biologische Qualität denen des hyalinen Knorpels deutlich unterlegen ist (Shapiro et al., 1993; Jansson et al., 2000; Buckwalter, 1998; Buckwalter, 1983; Bobic und Noble, 2000). Nach einem Zeitraum von sechs Monaten waren auch in dieser Studie Degenerationserscheinungen am knorpeligen Regenerat nachweisbar. Hierzu zählen: das gehäufte Auftreten von Chondrozytenclustern, Hyperzellularität, Fibrillationen, Inhomogenitäten und Regeneratoberflächen mit fibroidem Charakter (Convery et al., 1972; Buckwalter et al., 1994a). Im Defektbereich kann bevorzugt die Ausbildung von Faserknorpel, geprägt von Fibrillationen und Inhomogenitäten, beobachtet werden (Mankin, 1974; Campbell, 1969). Diese Beobachtungen bestätigten sich auch in der vorliegenden Studie und verdeutlichten sich in geringeren Punktzahlen des Histoscores A. Die Vermutung liegt nahe, dass der regenerierte Ersatzknorpel langfristig die einwirkenden Scher- und Druckbelastungen nicht erträgt (Buckwalter, 1998; Buckwalter, 1983; Bobic und Noble, 2000; Shapiro et al., 1993; Ghadially et al., 1977; O'Driscoll et al., 1988; Frenkel und Di Cesare, 1999) und dieses als Ursache für die Degenerationserscheinungen zu sehen ist. Parallel dazu ließ sich der Verlust an Proteoglykanen verzeichnen, charakterisiert durch eine geringe Intensität der Safranin-Orange Färbung. Eine unregelmäßige Oberfläche kann zu Irritationen im Gelenk und somit zu einer frühzeitigen Degeneration des neugebildeten Knorpels führen (Martinek und Imhof, 2003).

Anhand seiner Studien am Kaninchenkniegelenk konnte Wei bereits nach zwölf Wochen degenerative Veränderungen im Bereich des umliegenden Knorpels aufzeigen. Dieses Ergebnis ist vermutlich auf die dort einwirkende Mehrbelastung zurückzuführen (Wei et al., 1997). Diese Erscheinungen, auch in der vorliegenden Studie gesehen, waren geprägt von Rauheiten, einer dünnen Knorpelschicht, Chondrozytenclustern und cartilage flow im Randbereich (Wei et al., 1997; Jackson et al., 2001; Wie und Messner, 1999). Das Phänomen des cartilage flow ist wahrscheinlich auf eine Kombination von proliferierende Zellen an der Gelenkoberfläche und auftretenden Druck- und Scherkräften bei Belastung zurückzuführen (Calandruccio und Gilmer, 1962; Fuller und Ghadially, 1972). Zudem befinden sich hyaline Areale zumeist im Defekt und nicht an der Oberfläche. Dort konnte er die an ihn gestellten Anforderungen nicht erfüllen und trug nicht zur Rekonstruktion der Gelenkfläche bei, sondern wurde im Zuge der enchondralen Ossifikation zu Knochengewebe umgewandelt. Das Auftreten von hyalinem Knorpel im Defektbereich stellt ein Indiz für mechanische Unruhe im Defektbereich dar. Die

fehlende Stabilität fördert die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen zu Chondrozyten, die sich im Anschluss daran in Osteoblasten umwandeln (Caplan, 1990).

Die unterschiedlichen Auffüllungsgrade sind wahrscheinlich zurückzuführen auf die direkt post operationem einwirkende Belastungssituation. Mechanische Ruhe im Defektbereich ist die Voraussetzung für eine komplikationsarme und schnelle Regeneration. Die vorherrschenden intermittierenden Druckbelastungen führten zu einer Deformierung des Fibrinpfropfes und seiner Zellen. Die Applikation dieser unphysiologischen Belastung in Form von statischer Belastung schränkte einerseits die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen in Chondrozyten ein, andererseits wurde dadurch die Biosynthese der ansässigen Chondrozyten reduziert (Gray et al., 1988) und schlägt sich in einer geringen Knorpelbildung. Die Defektbohrung zerstörte ansässige Zellen, Grundsubstanz und Gefäße im Randbereich. Von einem ähnlichen Erscheinungsbild berichtet auch Calandruccio (Calandruccio und Gilmer, 1962). Die daraus resultierende Minderversorgung der Osteozyten und Osteoblasten und deren Schädigung lockt Osteoklasten an. Die von den Osteoklasten eingeleitete Knochenresorption kann vermutlich vereinzelt zum Auftreten zystoider Defekte in der Defektmitte führen. Die Aktivierung der Knochenbildung erlangt ihren Höhepunkt in den ersten zwei Monaten nach der Traumatisierung (Schenk, 1991). Weitreichende strukturelle Veränderungen folgen bei Überbelastung des subchondralen Knochens. Die lokale Belastungssituation übt nachhaltig Einfluss auf die Entwicklung des Regenerats aus. Der neu synthetisierte Knorpel reagiert verglichen mit dem nativen hyalinen Knorpel auf die applizierte Belastung in unterschiedlicher Weise und vermag diese nicht zu kompensieren. Darin kann die Ursache des beobachteten Unterganges des Gewebes liegen (Boyan et al., 1999).

Die Ausrichtung der einzelnen Knochenbälkchen orientiert sich an der vorherrschenden Belastung und wird anhand dieser im Laufe der Zeit neu ausgerichtet (Kummer, 1995). Diese noch nicht abgeschlossenen Remodelingprozesse spiegeln sich in Sklerosierungen der subchondrale Knochenlamelle wider sowie in verdickten und unorientierten trabekulären Strukturen im neu gebildeten Knochen. Einen vollständigen Schluss der subchondralen Lamelle erreichten nur vier Präparate nach sechs Monaten. Ähnliche Ergebnisse bezüglich der Rekonstruktion der subchondralen Lamelle erzielte Shapiro in seinen Untersuchungen an Kaninchenkniegelenken. Die im Durchmesser 3 mm großen Defekte zeigten in einem Zeitraum von drei bis sechs Monaten nur vereinzelt eine unvollständige Rekonstruktion der Knochenlamelle (Shapiro et al., 1993). Hingegen konnte Wei bei gleicher Defektgeometrie keine Wiederherstellung der Knochenlamelle in seinem Kaninchenmodell beobachten (Wei et al., 1997).

Verschiedene Studien beschäftigen sich mit dem Erscheinungsbild der Osteoarthrose. Aus diesen Forschungsergebnissen geht hervor, dass massive strukturelle Veränderungen der subchondralen Lamelle als Reaktion auf eine veränderte Belastungssituation hinweist und somit zu progressiven Degenerationen des Knorpels führen könnten (Radin und Rose, 1986; Swieszkowski et al., 2007). Meachim postulierte, dass destruktive Knorpelläsionen das Resultat von Imbalancen des Remodelingprozesses sein könnten und langfristig zur Zerstörung der artikulierenden Oberfläche führen (Meachim, 2001). Diese äußern sich in substantiellen Verlusten von Proteoglykanen und Destruktionen der Knorpeloberfläche (Lahm et al., 2004).

Der Defektdurchmesser hat entscheidenden Einfluss auf das Heilungsergebnis, da Knochen und Knorpel in ihren Reaktionen differieren. Laut Convery ist ein Defekt mit 9 mm im Durchmesser als kritisch zu betrachten (Convery et al., 1972). Der Knochen als sekundäres Stützgewebe ist im Gegensatz zum Knorpel zu einer vollständigen restitutio ad integrum befähigt (Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil et al., 2006). Die Regeneration des Knorpels erfolgt unvollständig und zeitlich verzögert (Convery et al., 1972). Die in diesem Experiment gewählten Defektdurchmesser sind als kritisch zu beurteilen. Im Laufe der Zeit ließ sich eine gute Regeneration des Knochens erzielen, jedoch blieb die Knorpelregeneration unvollständig, geprägt von deutlichen Degenerationsanzeichen. Die in dieser Studie erhobenen Befunde decken sich größtenteils mit den histologischen Erkenntnissen der Literatur. Zusätzlich sollte der Aspekt der Defektlokalisierung diskutiert werden. Die lokale Belastungssituation übt entscheidenden Einfluss auf die Regeneration osteochondraler Defekte aus. Aus diesem Grund können Unterschiede im Heilungsergebnis auftreten, abhängig davon, ob der Defekt in der Hauptbelastungszone liegt oder eher in einem nicht-lasttragenden Bereich (Fuller und Ghadially, 1972). Leider liefert die vorliegende Studie diesbezüglich keine neuen Erkenntnisse, da die Defekte ausschließlich in der Hauptbelastungszone gesetzt wurden.

5.3.5 Schlussfolgerung

Das gewählte Versuchsdesign ermöglichte den histologischen und histomorphometrischen Vergleich der versorgten und unversorgten Defekte und erlaubte, spezifische Aussagen hinsichtlich der Regeneration osteochondraler Defekte während des Untersuchungszeitraumes zu treffen. Allgemein anerkannt ist, dass synthetische Materialien mit einer hohen Porosität und Porengröße osteoinduktiv wirken und die Proliferation und Differenzierung von Zellen ermöglichen. Die Anforderungen an biodegradierbare Implantate sind vielfältig. Gefordert werden Biokompatibilität, Sterilität, minimale Diffusionsbarriere, ausreichende Adhärenzeigen-

schaft, steuerbare Degradation, eine gute reproduzierbare, dreidimensionale Struktur, temporäre Stabilität, ausreichende Gestaltfestigkeit (Formschluss) und mechanische Belastbarkeit (Primärstabilität) der Implantate sowie einfache Bearbeitung unter Operationsbedingungen. Alle diese Eigenschaften vereinen beide hier verwendeten Implantate. Dabei wird die Stimulierung des Heilungsprozesses als primäre Funktion temporärer Knochenersatzstoffe gesehen.

Die Regenerationskapazität osteochondraler Defekte ist von verschiedenen Faktoren abhängig, zu berücksichtigen ist das individuelle Heilungspotenzial, die lokalen mechanischen und biologischen Rahmenbedingungen sowie interindividuelle Variabilitäten. Die beiden ausgewählten Untersuchungszeitpunkte ermöglichten eine adäquate Beurteilung des Regenerationsfortschrittes in den einzelnen Gruppen. Jedoch war zu keinem Zeitpunkt eine *restitutio ad integrum* zu beobachten. Festzuhalten ist, dass die osteochondralen Defekte ohne chirurgische Intervention innerhalb von sechs Monaten nur unvollständig ausheilten respektive mit minderwertigem Reparatursgewebe aufgefüllt waren. Die fehlende initiale Stabilität des Defektbereiches spiegelte sich in degenerativen Veränderungen des umliegenden Gewebes wider. In den meisten Fällen bestand das gebildete Reparatursgewebe zum frühen Zeitpunkt hauptsächlich aus Bindegewebe und Faserknorpel. Die generierte Oberfläche war geprägt von Rissen und Fibrillationen.

Als Vorteil der ungefüllten Defekte kann gewertet werden, dass kein synthetisches Material resorbiert werden musste und die Regeneration unverzüglich beginnen konnte. Dadurch wurde das Risiko, lokale Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen hervorzurufen, minimiert. Der regenerierte Ersatzknorpel der unversorgten Defekte entspricht dem in der Literatur beschriebenen und scheint langfristig der einwirkenden Belastung nicht gewachsen. Die unversorgten Defekte blieben zu allen Zeitpunkten hinter den Ergebnissen der versorgten zurück. Eine Prognose bezüglich der endgültigen Regeneration oder Langzeiterfolge der versorgten und unversorgten osteochondraler Defekte gestaltet sich schwierig auf Grund der gewählten Standzeiten. Bezüglich der biologischen Qualität des regenerierten Knorpels, der endgültigen knöchernen Durchbauung, bzw. der trabekulären Ausrichtung oder des Zeitpunktes der vollständigen Degradation der Polymere können keine Aussage über die weitere Entwicklung der Regenerate nach dem Zeitpunkt von sechs Monaten getroffen werden.

Die Bodenreaktionsmessungen ergaben tendenziell ähnliche Ergebnisse, trotz unterschiedlicher Steifigkeiten der verwendeten Implantate. Der anfänglichen Entlastung der operierten Gliedmaße in den ersten Wochen folgte eine stetige Angleichung bis auf den präoperativen

Wert. Die in der Bodenreaktionsmessung erhobenen Daten korrelieren nicht mit den histologischen Ergebnissen, denn eine vollständige Defektheilung war zu diesem Zeitpunkt nicht eingetreten. Ein Zusammenhang zwischen dem Einfluss der Belastung und der Regeneration konnte nicht festgestellt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie bestätigen die anfangs aufgestellte Hypothese, dass für eine schnelle und komplikationsarme Regeneration osteochondraler Defekte die Rekonstruktion des subchondralen Knochens einschließlich seiner strukturellen und mechanischen Stabilität unerlässlich ist. Die Ergebnisse beweisen, dass die verwendeten Poly-D,L-Lactid Scaffolds die nötige mechanische Steifigkeit zur subchondralen Auffüllung aufweisen. Die mechanische Stabilität erlaubte eine indirekte funktionale Lastübertragung und die gute Formstabilität des Scaffolds verhalf zu einer stabilen Defektsituation. Die in adäquater Weise einwirkenden intermittierenden Druckbelastungen fördern die Differenzierung und Proliferation der eingewanderten mesenchymalen Stammzellen zu Osteoblasten, Fibrozyten und Chondrozyten.

Die Implantate der Gruppe Polyhart, welche eine dem umliegenden Knochen vergleichbare Steifigkeit aufweisen, fördern die Regeneration des subchondralen Knochens und des Knorpels zum frühen Zeitpunkt. Auf Grund der mechanischen Kompetenz und der langsameren Degradation des harten Scaffolds wird die knöcherne Durchbauung unterstützt. Im Gegensatz dazu erweist sich der weiche Scaffold mechanisch zu instabil, um die Defektsituation zu diesem Zeitpunkt zu stabilisieren. Zu allen Zeitpunkten waren die versorgten Defekte den unversorgten Defekten über-, jedoch den nativen Präparaten unterlegen.

Limitierend auf den Heilungserfolg wirken sich die während der Degradation der Implantate auftretenden Veränderungen hinsichtlich Steifigkeitsverlust und Volumenabbau aus. Parallel zur Resorption erhöht sich die Porosität der Implantate. Einhergehend mit der Reduktion der Steifigkeit erhöht sich gleichzeitig die einwirkende Belastung auf das regenerierte Gewebe. Dieses Phänomen war bei den weichen Scaffolds auf Grund ihrer schnelleren Degradation zum Zeitpunkt von drei Monaten zu beobachten. Nach sechs Monaten lieferten die weichen Poly-D,L-Lactid-Implantate verglichen mit den harten Implantaten in Bezug auf die knöcherne Auffüllung und Integration die besseren Ergebnisse. Verantwortlich hierfür war die langsamere Degradation der harten Scaffolds bzw. die Persistenz der Polymerpartikel im Defektbereich, die letztlich die knöcherne Durchbauung hemmten. Allerdings zeichneten sich die harten Poly-D,L-Lactid-Implantate durch ihre qualitativ besser regenerierte Knorpelschicht und Wiederherstellung der Gelenkfläche aus. Die Ergebnisse dieser Studie bleiben aber vor

dem Hintergrund der kleinen Gruppengröße, sowie der individuellen Unterschiede im Heilungsverlauf kritisch zu hinterfragen.

Somit lässt sich folgende Schlussfolgerung ableiten: die harten Scaffolds weisen die notwendige Voraussetzung zur subchondralen Auffüllung auf und führen zu einer deutlichen Verbesserung, im Hinblick auf die Rekonstruktion einer lasttragenden Gelenkoberfläche. Für den Heilungsfortschritt ist es wünschenswert, mit zunehmender Differenzierung des heilenden Gewebes wachsende mechanische Beanspruchung auf das Heilungsgebiet zu übertragen, um den Heilungsprozess zu dynamisieren. In Folgestudien müsste eine Optimierung der Steifigkeit und des Degradationverhaltens der Poly-D,L-Lactid Scaffolds erfolgen, bevor sie im klinischen Einsatz getestet werden könnten. Die aktuelle Forschung befasst sich mit der Entwicklung von Scaffolds mit einem zweischichtigen Aufbau, welche mit einer speziellen Architektur der Knochen- und Knorpelregion ausgestattet sind, die den einwachsenden Zellen optimale Bedingungen hinsichtlich Porosität, mechanischer Festigkeit und Degradationskinetik bieten. Damit die Regeneration osteochondraler Defekte eine optimale qualitative und quantitative Förderung erfährt.

6 Zusammenfassung

Seit langem ist bekannt, dass hyaliner Knorpel über ein limitiertes Regenerationspotential für Läsionen verfügt. Die vollständige Funktionsfähigkeit eines Gelenkes ist aber nur bei intaktem hyalinem Gelenkknorpel gewährleistet. Vor diesem Hintergrund erlangt diese Problematik sozioökonomische Bedeutung, denn Verletzungen des hyalinen Gelenkknorpels verlaufen in den meisten Fällen progressiv und können letztlich Gelenksarthrosen induzieren. In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene chirurgische Therapieansätze für die Wiederherstellung degenerierten und traumatisch geschädigten Gelenkknorpels im Kniegelenk entwickelt. Mit den klinisch etablierten Methoden gelingt es in der Regel nicht zufrieden stellend, die Struktur und die Funktionalität hyalinen Gelenkknorpels zu reproduzieren.

Ziel der vorliegenden Studie war der Vergleich standardisierter osteochondraler Defekte im Kniegelenk des Schafes im Hinblick auf die Regeneration und in Abhängigkeit von der Steifigkeit der Poly-D,L-Lactid-Implantate zu drei und sechs Monaten Standzeit. Als unerlässlich für eine komplikationsarme Heilung osteochondraler Defekte wurde die Rekonstruktion der subchondralen Lamelle angesehen. Aus diesem Grund sollte der Einfluss der initialen Steifigkeit synthetisch hergestellter, biodegradierbarer Materialien auf die Heilung untersucht werden. Zahlreiche Studien belegen, dass durch die Eröffnung des vaskularisierten subchondralen Knochens bei gleichzeitiger Rekrutierung von mesenchymalen Stammzellen eine adäquate Defektheilung induziert werden kann. Die Hypothese bestätigte sich, dass eine dem nativen Gewebe ähnliche Steifigkeit der Poly-D,L-Lactid-Implantate zu einer besseren Regeneration der osteochondralen Defekte führt. Das gewählte Versuchdesign gewährte einerseits die Möglichkeit, den Einfluss der mechanischen Belastung auf die Transplantate im Kniegelenk während der physiologischen Be- und Entlastung, andererseits die Reaktion des Organismus auf die Implantate, bzw. auf die Regeneration osteochondraler Defekte zu evaluieren. Die Defekte wurden jeweils im lasttragenden Bereich der beiden Femurkondylen des linken Kniegelenkes von 24 Merino-Mix Schafen platziert. Die Heilungsergebnisse in Bezug auf die Integration der Implantate, die Degradation und die Knorpelregeneration wurden histologisch und histomorphometrisch analysiert. In die Auswertung flossen Safranin-Orange / von Kossa und Safranin-Orange / Lichtgrün gefärbte Präparate ein. Ergänzend erfolgte der Vergleich mit den unversorgten Defekten, die als Kontrolle dienten. Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurden Bodenreaktionskraftmessungen durchgeführt, die einen Vergleich der Wiederherstellung der Gliedmaßenbelastung in Abhängigkeit von der Versorgung anstrebten.

Die Rekonstruktion der subchondrale Lamelle ist für eine komplikationsarme Regeneration osteochondraler Defekte entscheidend. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die verwendeten Poly-D,L-Lactid Scaffolds die nötige mechanische Steifigkeit zur subchondralen Auffüllung aufweisen und osteoinduktiv wirken. Zu allen Zeitpunkten waren sie den unversorgten Defekten überlegen. Die effektiv durch die harten Scaffolds stabilisierte Defektsituation vermag die Regeneration des subchondralen Knochens und des Knorpels zum frühen Zeitpunkt zu fördern. Ihre mechanische Kompetenz und langsamere Degradation unterstützt die Osteogenese und führt zu einer deutlichen Verbesserung im Hinblick auf die Rekonstruktion einer lasttragenden Gelenkoberfläche.

7 Summary

Histological and histomorphometrical studies on the regeneration of osteochondral defects in the stifle joint at definite times in a sheep model: Comparison between different rigidity of poly-d,l-lactid implants and untreated defects.

It is common knowledge that articular hyaline cartilage has only limited regenerative potential to prior lesion. Normal physiological function of the joint can only be accomplished with an intact hyaline cartilage. Injury to the joint's cartilage are in most cases of progressive nature and can lead to osteoarthritis. They gain more and more socio-economic relevance. During the last decades there have been several different surgical approaches to recover degenerated or traumatised cartilage in the stifle joint. The clinical established methods could not be achieved satisfactory reproduction of the physiological structure and function of the hyaline cartilage. Many studies have shown that the repair process can be initiated by the creation of a penetrating defect into the marrow cavity. The quality of healing is dependent on the lesion size and depth.

The aim of the study was to compare the regenerative potential of standardized critical osteochondral defects in the left stifle of the sheep after three, respectively six months postoperative observation periods in relation to the different rigidity of poly-d,l-lactid implants. The subchondral bone was filled up with a stiff scaffold or a modified softer one, and an untreated defect served as control. Reconstruction of the subchondral bone lamella proved a crucial prerequisite for an uncomplicated process of recovery. The influence of the initial rigidity of synthetic, biodegradable implant materials is therefore a question of interest. Numerous studies document adequate recovery of cartilaginous lesions after opening the subchondral bone, and recruiting mesenchymale stem cells at the same time. The hypothesis was corroborated that stiffer poly-d,l-lactid implants of similar rigidity to native tissue lead to better regeneration of osteochondral defects. The chosen experimental design allowed the evaluation of mechanical strain on the implants in the stifle during physiological movement as well as the organism's reaction and regeneration of the osteochondral defects. Lesions were induced in the left stifle of twenty-four merino sheep on the load bearing region of both femoral condyles. Histological as well as histomorphometrical analysis was performed on the results regarding implant integration, biodegradation and regeneration of the cartilage. The evaluation of the specimen was carried out after Safranin-Orange / from Kossa and Safranin-

Orange / lightgreen staining. In addition, the comparison with the untreated cartilaginous lesion of the same kind was carried out. During the whole period of observation ground-reaction force measurements were carried out in order to compare recovery and subsequent limb function in relation to prior treatment. Reconstruction of the subchondral bone lamella is crucial for full regeneration of osteochondral lesions. The study shows that the use of poly-d,l-lactid implants have osteoconductive effects and provide the necessary rigidity to fill up subchondral bone lesions. At any time they are superior to the uninfluenced physiological healing process. Stabilisation of the lesions with the stiffer poly-d,l-lactid implants have a beneficial effect on the regeneration of the cartilage and the subchondral bone at an early stage. Their mechanical qualities and their slow biodegradation support osteogenesis and lead to a significant improvement of reconstruction of the load bearing articular surface.

8 Literaturverzeichnis

1. Akens, M. K., von Rechenberg, B., Bittmann, P., Nadler, D., Zlinszky, K., und Auer, J. (2001). "Long term in-vivo studies of a photo-oxidized bovine osteochondral transplant in sheep." BMC Musculoskelet Disord 2: 9.
2. Alford, J. W., und Cole, B. J. (2005). "Cartilage restoration, part 1: basic science, historical perspective, patient evaluation, and treatment options." Am J Sports Med 33(2): 295-306.
3. Allen, M. J., Houlton, J., und Adams, S. B. (1998). "The surgical anatomy of the stifle joint in sheep." Vet Surg 27(6): 596-605.
4. Ameer, G. A., Mahmood, T. A., und Langer, R. (2002). "A biodegradable composite scaffold for cell transplantation." J Orthop Res 20(1): 16-9.
5. Appleyard, R. C., Burkhardt, D., Ghosh, P., Read, R., Cake, M., Swain, M., und Murell, G. (2003). "Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis." Osteoarthritis Cartilage 11(1): 65-77.
6. Aydelotte, M. B., Greenhill, R. R., und Kuettner, K. (1988). "Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. II. Proteoglycan metabolism." Connect Tissue Res 18(3): 223-234.
7. Bader, D. L., und Kempson, G. E. (1994). "The short-term compressive properties of adult human articular cartilage." Biomed Mater Eng 4(3): 245-256.
8. Bergsma, E. J., Rozema, F. R., Bos, R. R., und de Bruijn, W. C. (1993). "Foreign body reactions to resorbable poly(L-lactide) bone plates and screws used for the fixation of unstable zygomatic fractures." J Oral Maxillofac Surg 51(6): 666-670.
9. Bergsma, J. E., de Bruijn, W. C., Rozema, F. R., Bos, R. R., und Boering, G. (1995). "Late degradation tissue response to poly(L-lactide) bone plates and screws." Biomaterials 16(1): 25-31.
10. Bobic, V., und Noble, J. (2000). "Articular cartilage-to repair or not to repair." J Bone Joint Surg Br 82(2): 165-166.
11. Böstman, P., Päävarinta, U., Partio, E., Vasenius, J., Manninen, M., und Rokkanen, R. (1992). "Degradation and Tissue Replacement of an Absorbable Polyglycolide Screw in the Fixation of Rabbit Femoral Osteotomies." J Bone Joint Surg Am 74(7): 1021-1031.
12. Böstman, O. (1991). "Osteolytic changes accompanying degradation of absorbable fracture fixation implants." J Bone Joint Surg Br 73(4): 679-682.
13. Böstman, O., Hirvensalo, E., Mäkinen, J., und Rokkanen, P. (1990). "Foreign-body reactions to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymers." J Bone Joint Surg Br 72(4): 592-596.
14. Bouwmeester, S. J., Beckers, J. M., Kuijer, R., van der Linden, A. J., und Bulstra, S. K. (1997). "Long-term results of rib perichondrial grafts for repair of cartilage defects in the human knee." Int Orthop 21(5): 313-317.

15. **Boyan, B. D., Lohmann, C. H., Romero, J., und Schwartz, Z. (1999).** "Bone and cartilage tissue engineering." Clin Plast Surg 26(4): 629-645.
16. **Braun, A., Heine, W., und Schumacher, G. (1983).** "Die Bedeutung des subchondralen Knochens für die Behandlung osteochondraler Frakturen." Hefte Unfallheilkd 165: 28-56.
17. **Breinan, H. A., Minas, T., Hsu, H., Nehrer, S., Shortkroff, S., und Spector, M. (2001).** "Autologous chondrocyte implantation in a canine model: change in composition of reparative tissue with time." J Orthop Res 19(3): 482-492.
18. **Brittberg, M., Lindahl, A., Nilsson, A., Ohlsson, C., Isaksson, O., und Peterson, L. (1994).** "Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation." N Engl J Med 331(14): 889-895.
19. **Broom, N. D., und Poole, C. A. (1982).** "A functional-morphological study of the tidemark region of articular cartilage maintained in a non-viable physiological condition." J Anat 135(Pt 1): 65-82.
20. **Bruns, J., Behrens, P., und Silbermann, M. (1997a).** "The principle of autogeneic rib perichondrial transplantation in the treatment of deep articular cartilage defects." Z Orthop Ihre Grenzgeb 135(2): 138-144.
21. **Bruns, J., Kersten, P., Silbermann, M., und Lierse, W. (1997b).** "Cartilage-flow phenomenon and evidence for it in perichondrial grafting." Arch Orthop Trauma Surg 116(1-2): 66-73.
22. **Buckwalter, J. A. (1983).** "Articular cartilage." Instr Course Lect 32: 349-370.
23. **Buckwalter, J. A. (1995a).** "Activity vs. rest in the treatment of bone, soft tissue and joint injuries." Iowa Orthop J 15: 29-42.
24. **Buckwalter, J. A. (1995b).** "Should bone, soft-tissue, and joint injuries be treated with rest or activity?" J Orthop Res 13(2): 155-156.
25. **Buckwalter, J. A. (1998).** "Articular cartilage: injuries and potential for healing." J Orthop Sports Phys Ther 28(4): 192-202.
26. **Buckwalter, J. A. (2002).** "Articular cartilage injuries." Clin Orthop Relat Res (402): 21-37.
27. **Buckwalter, J. A., und Brown, T. D. (2004).** "Joint injury, repair, and remodeling: roles in post-traumatic osteoarthritis." Clin Orthop Relat Res (423): 7-16.
28. **Buckwalter, J. A., Hunziker, E. B., und Rosenberg, L. C. (1988).** "Articular Cartilage. Composition and structure." Am Acad Orthop Surg 28(6): 405-425.
29. **Buckwalter, J. A., Kuettner, K. E., und Thonar, E. J. (1985).** "Age-related changes in articular cartilage proteoglycans: electron microscopic studies." J Orthop Res 3(3): 251-257.
30. **Buckwalter, J. A., und Mankin, H. J. (1998a).** "Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation." Instr Course Lect 47: 487-504.
31. **Buckwalter, J. A., und Mankin, H. J. (1998b).** "Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions." Instr Course Lect 47: 477-486.

32. **Buckwalter, J. A.,, und Rosenberg, L. C. (1988).** "Electron microscopic studies of cartilage proteoglycans." Electron Microsc Rev 1(1): 87-112.
33. **Buckwalter, J. A., Mow, V. C., und Ratcliffe, A. (1994a).** "Restoration of Injured or Degenerated Articular Cartilage." J Am Acad Orthop Surg 2(4): 192-201.
34. **Buckwalter, J. A., Roughley, P. J., und Rosenberg, L. C. (1994b).** "Age-related changes in cartilage proteoglycans: quantitative electron microscopic studies." Microsc Res Tech 28(5): 398-408.
35. **Burkart, A. C., Schoettle, P. B., und Imhof, A. (2001).** "Surgical therapeutic possibilities of cartilage damage." Unfallchirurg 104(9): 798-807.
36. **Burkhart A., und Imhof, A. (1999).** "Therapie des Knorpelschadens Heute und Morgen." Arthroskopie 12: 279-288.
37. **Butnariu-Ephrat, M., Robinson, D., Mendes, D., Halperin, N., und Nevo, Z. (1996).** "Resurfacing of goat articular cartilage by chondrocytes derived from bone marrow." Clin Orthop Relat Res (330): 234-43.
38. **Byrne, D., Lacroix, D., Planell, J., Kelly, D., und Prendergast, P. (2007).** "Simulation of tissue in a scaffold as a function of porosity, Young's modulus and dissolution rate: Application of mechanobiological models in tissue engineering." Biomaterials 28(36): 5544-5554.
39. **Calandruccio, R. A., und Gilmer, W.S. (1962).** "Proliferation, Regeneration, and Repair of Articular Cartilage of Immature Animals." J Bone Joint Surg Am 44A(3): 431-455.
40. **Campbell, C. J. (1969).** "The healing of cartilage defects." Clin Orthop Relat Res 64: 45-63.
41. **Caplan, A. I. (1991).** "Mesenchymal Stem Cells." Journal of Orthopaedic Research 9(5): 641-650.
42. **Caplan, A. I., Elyaderani, M., Mochizuki, Y., Wakitani, S., und Goldberg, V. (1997).** "Principles of cartilage repair and regeneration." Clin Orthop Relat Res (342): 254-269.
43. **Chen, G., Sato, T., Ushida, T., Ochiai, N., und Tateishi, T. (2004).** "Tissue engineering of cartilage using a hybrid scaffold of synthetic polymer and collagen." Tissue Eng 10(3-4): 323-330.
44. **Cheung, H. S., Cottrell, W. H., Stephenson, K., und Nimni, M. (1978).** "In vitro collagen biosynthesis in healing and normal rabbit articular cartilage." J Bone Joint Surg Am 60(8): 1076-1081.
45. **Chu, C., Convery, F., Akeson, W., Meyers, M., und Amiel, D. (1999).** "Artikular cartilage transplantation. Clinical results in the Knee." Clin Orthop Relat Res (360): 159-168.
46. **Claes, L., und Ignatus, A. (2002).** "Entwicklung neuer biodegradabler Implantate." Chirurg 73(10): 990-996.
47. **Claes, L., Wolf, S., und Ignatus, A. (1998).** "Mechanische Eigenschaften von biodegradablen Polymeren und Keramiken." Clin Orthop Relat Res (355 Suppl): S132-47.

48. **Cohn, H. (1978).** "The activation of mononuclear phagocytes: Fact, Fancy and Future." J Immunology 121(3): 813-816.
49. **Convery, F. R., Akeson, W.H., and Keown, G.H. (1972).** "The repair of large osteochondral defekts. An experimental study in horses." Clin Orthop Relat Res 82: 253-262.
50. **Coulson, R. A. (1983).** "Relationship between fluid flow and O₂ demand in tissues in vivo and in vitro." Perspect Biol Med 27(1): 121-126.
51. **Daniels, A. U., Taylor, K., Heller, A., and Heller, J. (1992).** "Toxicity of Absorbable Polymers Proposed for Fracture Fixation Devices." 38th Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, Washington, D.C. J Appl Biomater 3(3): 197-206.
52. **DePalma, A. F., McKeever, C. D., and Subin, D. (1966).** "Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and autoradiography with tritiated thymidine." Clin Orthop Relat Res 48: 229-242.
53. **Detsch, R., Uhl, F., Deisinger, U., and Ziegler, G. (2008).** "3D-Cultivation of bone marrow stromal cells on hydroxyapatite scaffolds fabricated by dispense-plotting and negative mould." J Mater Sci; Mater Med 19(4): 1491-1496.
54. **Ding, M., Dalstra, M., Linde, F., and Hvid, I. (1998).** "Mechanical properties of the normal human tibial cartilage-bone complex in relation to age." Clin. Biomech 13(4-5): 351-358.
55. **Dorotka, R., Windberger, U., Macfelda, K., Bindreiter, U., Toma, C., and Nehrer, S. (2005).** "Repair of articular cartilage defects treated by microfracture and a three-dimensional collagen matrix." Biomaterials 26(17): 3617-3629.
56. **Duda, G. N., Maldonado, Z. M., Klein, P., Heller, M. O., Burns, J., and Bail, H. (2005).** "On the influence of mechanical conditions in osteochondral defect healing." J Biomech 38(4): 834-851.
57. **Dustmann, H. O., and Puhl, W. (1976).** "Altersabhängige Heilungsmöglichkeiten von Knorpelwunden." Z Orthop Ihre Grenzgeb 114(5): 749-764.
58. **Ekholm, R., and Ingelmark, B. E. (1952).** "Functional thickness variations of human articular cartilage." Acta Soc Med Ups 57(1-2): 39-59.
59. **Eyre, D. R., McDevitt, C. A., Billingham, M., and Muir, H. (1980).** "Biosynthesis of collagen and other matrix proteins by articular cartilage in experimental osteoarthritis." Biochem J 188(3): 823-837.
60. **Eyre, D. (2002).** "Collagen of articular cartilage." Arthritis Res 4(1): 30-35.
61. **Eyre, D. R., Wu, J. J., and Woods, P. (1992).** "Cartilage-specific collagens Structural studies in: Küttner." Raven Press 267(32): 119-131.
62. **Fan, H., Hu, Y., Zhang, C., Li, X., Lv, R., and Qin, L. (2006).** "Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a PLGA-gelatin/chondroitin/hyaluronate hybrid scaffold." Biomaterials 27(26): 4573-4580.
63. **Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M. A., del-Canto-Pingarron, M., and Blanco-Jerez, L. (2006).** "Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue." Med Oral Patol Oral Cir Bucal 11(1): E47-51.

64. Frankenburg, E. P., Goldstein, S. A., Bauer, T., Harris, S., und Poser, R. (1998). "Biomechanical and histological evaluation of a calcium phosphate cement." J Bone Joint Surg Am 80(8): 1112-1124.
65. Freed, L. E., Vunjak-Novakovic, G., Biron, R. J., Eagles, D. B., Lensoy, D. C., Barlow, S. K., und Langer, R. (1994). "Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering." Biotechnology (N Y) 12(7): 689-693.
66. Frenkel S. R., Toolan, B., Menche D., Pitmand M.I., und Pachence J. M. (1997). "Chondrocyte transplantation using a collagen bilayer matrix for cartilage repair." J Bone Joint Surg BR 79(5): 831-836.
67. Frenkel, S. R., und Di Cesare, P. E. (1999). "Degradation and repair of articular cartilage." Front Biosci 4: D671-685.
68. Frenkel, S. R., und Di Cesare, P. E. (2004). "Scaffold for articular cartilage repair." Ann. Biomech. Eng 32(1): 26-34.
69. Frenkel, S. R., Brekke, J. H., Goldmann, S. M., Ieska, K., Issack, P., Bong, M. R., Tian, H., Gokhale, J., Coutts, R. D., und Kronengold, R. T. (2005). "Regeneration of articular cartilage- Evaluation of osteochondral defect repair in the rabbit using multiphasic implants." Osteoarthritis and Cartilage 13(9): 798-807.
70. Fuller, J. A., und Ghadially, F. N. (1972). "Ultrastructural observations on surgically produced partial-thickness defects in articular cartilage." Clin Orthop Relat Res 86: 193-205.
71. Furukawa, T., Eyre, D.R., Koide, S., und Glimcher, M. J. (1980) "Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee." J Bone Joint Surg Am 62(1): 79-89.
72. Gao, J., Knaack, D., Goldberg, V. M., und Caplan, A. (2004). "Osteochondral defect repair by demineralized cortical bone matrix." Clin Orthop Relat Res (427 Suppl): S62-66.
73. Gelinsky, M. K., König, U., Sewing, A., und Pompe, W. (2004). "Poröse Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen- ein biomimetisches Knochenersatzmaterial." Material-Wissenschaft und Werkstofftechnik 35(4).
74. Gerlach, K. L. (2000). "Resorbable polymers as osteosynthesis material." Mund Kiefer Gesichtschir (4Suppl 1): S91-102.
75. Ghadially, J. A., und Ghadially, F. N. (1975). "Evidence of cartilage flow in deep defects in articular cartilage." Virchows Arch B Cell Pathol 18(3): 193-204.
76. Ghadially, J. A., Ghadially R., und Ghadially, F.N. (1977). "Long-Term results of deep defects in articular cartilage. A electron microscope study." Virchows Arch B Cell Pathol 27(2): 125-136.
77. Gogolewski, S. (1992). "Resorbable polymers for internal fixation." Clin Mater 10(1-2): 13-20.
78. Gogolewski, S. (2000). "Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery." Int J Care Injured 31(Suppl 4): 28-32.
79. Gray, M. L., Pizzanelli, A. M., Grodzyinsky, A. J., und Lee, R. C. (1988). "Mechanical and physiochemical determinants of the chondrocyte biosynthetic response." J Orthop Res 6(6): 777-792.

80. Gross, A., Aubin, P., Cheah, H., Davis, A., und Ghazavi, M. (2002). "A fresh osteochondral allograft alternative." J Arthroplasty 17(4 Suppl 1): 50-53.
81. Gross, A. E., Shasha, N., und Aubin, P. (2005). "Long-term followup of the use of fresh osteochondral allografts for posttraumatic knee defects." Clin Orthop Relat Res (435 Suppl): 79-87.
82. Günther, K., Scharf, H., Pesch, H. J., und Puhl, W. (1998). "Einwachsungsverhalten von Knochenersatzstoffen- Tierexperimentelle Untersuchung." Orthopäde 27(2): 105-117.
83. Guo, X., Wang, C., Duan, C., Descamps, M., Zhao, Q., Dong, L., Lu, S., Anselme, K., Lu, J., und Song, Y. (2004). "Repair of osteochondral defects with autologous chondrocytes seeded onto bioceramic scaffold in sheep." Tissue Eng 10(11-12): 1830-1840.
84. Haisch, A., Schultz, O., Perka, C., Jahnke, V., Burmester, G. R., und Sittinger, M. (1996). "Tissue engineering of human cartilage tissue for reconstructive surgery using biocompatible resorbable fibrin gel and polymer carriers." Hno 44(11): 624-629.
85. Hangody, L., und Füles, P. (2003). "Autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of full-thickness defects of weight-bearing joints: ten years of experimental and clinical experience." J Bone Joint Surg Am 85-A(Suppl 2): 25-32.
86. Hangody, L., Feczko, P., Bartha, L., Bodo, G., und Kish, G. (2001). "Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle." Clin Orthop Relat Res (391 Suppl): S328-336.
87. Hangody, L., Kish, G., Modis, L., Szerb, I., Gaspar, I., Dioszegi, Z., und Kendik, Z. (2001). "Mosaicplasty for the treatment of osteochondritis dissecans of the talus: two to seven year results in 36 patients." Foot Ankle Int 22(7): 552-558.
88. Hangody, L., Rathonyi, G. K., Duska, Z., Vasarhelyi, G., Fules, P., und Modis, L. (2004). "Autologous osteochondral mosaicplasty. Surgical technique." J Bone Joint Surg Am 86-A (Suppl 1): 65-72.
89. Heidemann, W., Jeschkeit, S., Ruffieux, K., Fischer, J. H., Wagner, M., Krüger, G., Wintermatel, E., und Gerlach, K. L. (2001). "Degradation of poly(D,L)lactide implants with or without addition of calciumphosphates in vivo." Biomaterials 22(17): 2371-2381.
90. Helling H. J., und Weiler, A. (1998). "Geweberreaktion im Verlauf des Abbaus polymerer Implantate." Op Journal: 245.
91. Hoffmann, R., Weiler, A., Helling, H. J., Krettek, C., und Rehm, K. E. (1997). "Lokale Fremdkörperreaktionen auf biodegradierbare Implantate." Unfallchirurgie 100(8): 658-666.
92. Hoffmann, R., Weiler, A., Hellinger, H. J., und Rehm, K. E. (1998). "Eine klinische Klassifikation über Fremdkörperreaktionen auf biodegradierbare Implantate." Springer, Berlin, Heidelberg, New York
93. Hofman, G. O. (1995). "Biodegradable implants in traumatology: a review on the state of the art." Arch Orthop Trauma Surg: 119(3): 123-132.
94. Hollinger, J. O., Einhorn, T. A., Doll, B. A., und Sfeir, C. (2005). "Bone tissue engineering." J Bone Miner Res 20(10): 1715-1722.

95. **Homminga, G. N., Bulstra, S. Kuijer, R., und van der Linden, A. (1991).** "Repair of sheep articular cartilage defects with a rabbit costal perichondrial graft." Acta Orthop Scand 62(5): 415-418.
96. **Hubbard, M. J. (1996).** "Articular debridement versus washout for degeneration of the medial femoral condyle. A five year study." J Bone Joint Surg Br 78(2): 217-219-
97. **Hunziker, E. B. (1999).** "Biologic repair of articular cartilage. Defect models in experimental animals and matrix requirements." Clin Orthop Realt Res (367 Suppl): S135-146.
98. **Hunziker, E. B. (2002).** "Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects." Osteoarthritis Cartilage 10(6): 432-463.
99. **Hunziker, E. B., und Rosenberg, L. C. (1996).** "Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane." J Bone Joint Surg Am 78(5): 721-733.
100. **Hutmacher, D.W. (2000).** "Scaffold tissue engineering bone and cartilage." Biomaterials 21(24): 25-29.
101. **Imhof, H., Sulzbacher, I., Grampp, S., Czerny, C, Youssefzadek, S., und Kainberger, F. (2000).** "Subchondral bone and cartilage disease: a rediscovered functional unit." Invest Radiol 35(10): 581-588.
102. **Jackson, D. W., Simon, T. M., und Aberman, H. (2001).** "Symptomatic articular cartilage degeneration: the impact in the new millennium." Clin Orthop Relat Res (391 Suppl): S14-25.
103. **Jackson, R. W. (1991).** "Arthroscopic treatment of degenerative arthritis." McGinty JB (ed) Operative arthroscopy. Raven Press NY 20: 319-323.
104. **Jager, M., Wild, A., Fuss, M., Werner, A., und Krauspe, R. (2002).** "Advantages of biomatrices in chondrogenesis of pluripotent mesenchymal stem." Z Orthop Ihre Grenzgeb 140(6): 681-689.
105. **Jansson, V., Müller, P. E., Thal, S., Arnholz, C., Milz, S., Koch, K.,und Refior, H. (2000).** "A new resorbable bone-cartilage replacement transplant. Results of an animal experiment study." Orthopaede 29(2): 151-157.
106. **Jones, J. R., Ehrenfried, L. M., und Hench, L. L. (2006).** "Optimising bioactive glass scaffolds fo bone tissue engineering." Biomaterials 27(7): 964-973.
107. **Karageorgiou, V.,und Kaplan, D. (2005).** "Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis". Biomaterials 26(27): 5474-5491.
108. **Kelly, D. J., und Prendergast, P.J. (2006).** "Prediction of the optimal mechanical properties for a scaffold used in osteochondral defect repair." Tissue Eng 12(9): 2509-2519.
109. **Kempson, G. E., Muir, H., Pollard, C.,und Tuke, M. (1973).** "The tensile properties of the cartilage of human femoral condyles related to the content of collagen and glycosaminoglycans." Biochim Biophys Acta 297(2): 456-472.
110. **Kim, H. W., und Han, C. D. (2000).** "An overview of cartilage tissue engineering." Yonsei Med J 41(6): 766-773.

111. Kleemann, R. U., Schell, H., Thompson, M., Epari, D. R., Duda, G. N., und Weiler, A. (2007). "Mechanical behavior of articular cartilage after osteochondral autograft transfer in an ovine model." AM J Sports Med 35(4): 555-563.
112. Kummer, B. (1995). "Grundlagen der Pauwels-Theorie der funktionellen Anpassung des Knochens." Orthopäde 24(5): 387-393.
113. Kurz, B., Jin, M., Patwari, P., Cheng, D. M., Larks, M. W., und Grodzinsky, A. J. (2001). "Biosynthetic response and mechanical properties of articular cartilage after injurious compression." J Orthop Res 19(6): 1140-1146.
114. Lahm, A., Uhl, M., Erggelet, C., Haberstroh, J., und Mrosek, E. (2004). "Articular cartilage degeneration after acute subchondral bone damage: an experimental study in dogs with histopathological grading." Acta Orthop Scand 75(6): 762-767.
115. Leniz, P., Ripalda, P., und Forriol, F. (2004). "The incorporation of different sorts of cancellous bone graft and the reaction of the host bone. A histomorphometric study in sheep." Int Orthop 28(1): 2-6.
116. Lind, M., Larsen, A., Clausen, C., Osther, K., und Everland, H. (2008). "Cartilage repair with chondrocytes in fibrin hydrogel and MPEG polylactide scaffold: an in vivo study in goat." Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 16(7): 690-698.
117. Liu, X., und Ma, P. X. (2004). "Polymeric scaffolds for bone tissue engineering" Ann Biomed Eng 32(3): 477-486.
118. Mankin, H. J. (1974). "The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (first of two parts)." N Engl J Med 291(24): 1285-1292.
119. Mankin, H. J. (1982). "The response of articular cartilage to mechanical injury." J Bone Joint Surg Am 64(3): 460-466.
120. Marlovits, S., und Véscei, V. (2000). "Möglichkeiten zur chirurgischen Therapie von Knorpeldefekten Teil 1: Grundlagen der Knorpelbiologie und der Heilung von Knorpeldefekten." Acta Chirurgica Austriaca 32: 124.
121. Marlovits, S., und Véscei, V. (2000). "Möglichkeiten zur chirurgischen Therapie von Knorpeldefekten-Teil 2: Chirurgische Behandlungsoptionen zur biologischen Knorpelreparatur." Acta Chirurgica Austriaca 32: 185-194.
122. Martin, J. A., und Buckwalter, J. A. (1996). "Articular cartilage aging and degeneration." Sports Med Arthrosc Rev 4: 263-275.
123. Martinek, V. (2003). "Anatomie und Pathophysiologie des hyalinen Knorpels." Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin 54(1): 166-170.
124. Martinek, V., und Imhof, A. B. (2003). "Therapie von Knorpelschäden." Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin 54: 70-76.
125. Meachim, G. (2001). "Age changes in articular cartilage. 1969." Clin Orthop Relat Res (391 Suppl): S6-13.
126. Meachim, G., und Roberts, C. (1971). "Repair of the joint surface from subarticular tissue in the rabbit knee." J Anat 109(Pt 2): 317-327.
127. Mitchell, N., und Shephard, N. (1976). "The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone." J Bone Joint Surg Am 58(2): 230-233.

128. **Mitchell, N., und Shephard, N. (1980).** "Healing of articular cartilage in intra-articular fractures in rabbits." J Bone Joint Surg Am 62(4): 628-634.
129. **Morelli, M., Nagamori, J., und Miniaci, A. (2002).** "Management of chondral injuries of the knee by osteochondral autogenous transfer (mosaicplasty)." J Knee Surg 15(3): 185-190.
130. **Mow, V. C., Ratcliffe, A., Rosenwasser, M. P., und Buckwalter, J. A. (1991).** "Experimental studies on repair of large osteochondral defects at a high weight bearing area of the knee joint: a tissue engineering study." J Biomech Eng 113(2): 198-207.
131. **Muir, H., Bullough, P., und Maroudas, A. (1970).** "The distribution of collagen in human articular cartilage with some of its physiological implications." J Bone Joint Surg Br 52(3): 554-563.
132. **Nam, E. K., Makhsous, M., Koh, J., Bowen, M., Nuber, G., und Zhang, L. (2004).** "Biomechanical and histological evaluation of osteochondral transplantation in a rabbit model." Am J Sports Med 32(2): 308-316.
133. **Niederauer, G. G., Slivka, M. A., Leatherburgy, N., Korvick, D., Harroff, H., Ehler, W., Dunn, C., und Kieswetter, K. (2000).** "Evaluation of multiphase implants for repair of focal osteochondral defects in goats." Biomaterials 21(24): 2561-2574.
134. **O'Driscoll, S. W. (1999).** "Articular cartilage regeneration using periosteum." Clin Orthop Relat Res (367 Suppl): S186-203.
135. **O'Driscoll, S. W., Keeley, F. W., und Salter, R. B. (1986).** "The Chondrogenic Potential of Free Autogenous Periosteal Grafts for Biological Resurfacing of Major Full-Thickness Defects in Joint Surfaces under the Influence of Continuous Passive Motion." J Bone Joint Surg Am 68(7): 1017-1035.
136. **O'Driscoll, S. W., Keeley, F. W., und Salter, R. B. (1988).** "Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow-up report at one year." J Bone Joint Surg Am 70(4): 595-606.
137. **O'Driscoll, S. W. (1998).** "The healing and regeneration of articular." J Bone Joint Surg Am 80(12): 1795-1812.
138. **O'Driscoll, S. W., und Fitzsimmons, J. (2001).** "The role of periosteum in cartilage repair." Clin Orthop Relat Res (391 Suppl): 190-207.
139. **Outerbridge, H. K., Outerbridge, A. R., und Outerbridge, R. E. (1995).** "The use of a lateral patellar autologous graft for the repair of a large osteochondral defect in the knee." J Bone Joint Surg Am 77(1): 65-72.
140. **Outerbridge, R. E. (1961).** "The etiology of chondromalacia patellae." J Bone Joint Surg Br 43-B: 752-757.
141. **Pauwels, F. (1973).** "Short survey of mechanical stress of bone and its importance for the functional adaptation." Z. Orthop Ihre Grenzgeb 111(5): 681-705.
142. **Petersen, J. P., Ruecker, A., von Stechow D. Adamietz P., Poertner R., Rueger J. M., und Meenen, N. M. (2003).** "Present and Future Therapies of Articular Cartilage Defects." European Journal of Trauma 1.
143. **Peterson, L. (1996).** "Articular cartilage injuries treated with autologous chondrocyte transplantation in the human knee." Acta Orthop Belg 62(Suppl 1): 196-200.

144. Pineda, L. M., Büsing, M., Meinig, R. P., und Gogolewski, S. (1996). "Bone regeneration with resorbable polymeric membranes. III. Effect of poly(L-lactide) membrane pore size on the bone healing process in large defects." J Biomed Mater Res 31(3): 385-394.
145. Pistner, H., Bendix, R., Mühling, J., und Reuther F. (1993). "Poly (L-lactide): a long-term degradation study in vivo Part III. Analytical characterization." Biomaterials 14(4): 291-298.
146. Poole, A. R., Pidoux, I., Reiner, A., und Rosenberg, L. (1982). "An immunoelectron microscope study of the organization of proteoglycan monomer, link protein, and collagen in the matrix of articular cartilage." J Cell Biol 93(3): 921-937.
147. Poole, C. A., Flint, M. H., und Beaumont, B. W. (1987). "Chondrons in cartilage: ultrastructural analysis of the pericellular microenvironment in adult human articular cartilages." J Orthop Res 5(4): 509-522.
148. Radin, E. L., und Rose, R. M. (1986). "Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage." Clin Orthop Relat Res (213 Suppl): 34-40.
149. Redman, S. N., Oldfield, S. F., und Archer, C. W. (2005). "Current strategies for articular cartilage repair." Eur Cell Mater 9: 23-32.
150. Rehm, K. E., Helling, H. J., und Gatzka, C. (1997). "Neue Entwicklungen beim Einsatz resorbierbarer Implantate." Orthopäde 14: 489-497.
151. Roach, H. I., Shearer, J. R., und Archer, C. (1989). "The choice of an experimental model. A guide for research workers." J Bone Joint Surg Br 71(4): 549-553.
152. Roughley, P. J., und Lee, E. R. (1994). "Cartilage proteoglycans: structure and potential functions." Microsc Res Tech 28(5): 385-397.
153. Rudert, M. (2002). "Histological Evaluation of osteochondral defects: Consideration of Animal Models with Emphasis on the rabbit, Experimental Setup, Follow-Up and applied methods." Cell tissue organs 171(4): 229-240.
154. Rudert, M., und Wirth, C. J. (1998). "Cartilage regeneration and substitution." Orthopade 27(5): W309-321.
155. Russlies, M., Ruther, P., Koller, W., Stomberg, P., und Behrens, P. (2003). "Biomechanical properties of cartilage repair tissue after different cartilage repair procedures in sheep." Z Orthop Ihre Grenzgeb 141(4): 465-471.
156. Sah, R. L., Kim, Y. J., Doong, J. Y., Grodzinsky, A. J., Plases, A. H., und Sandy, J. D. (1989). "Biosynthetic response of cartilage explants to dynamic compression." J Orthop Res 7(5): 619-636.
157. Salter, R. B., Simmonds, D. F., Malcom, B., Rumble, E., MacMichael, D., und Clements, N. (1980). "The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbit." J Bone Joint Surg Am 62(8): 1232-1251.
158. Schenk, R. K. (1991). "Zur Problematik der Knochenersatzstoffe: Histophysiologie des Knochenumbaus und der Substitution von Knochenersatzstoffen." Hefte Unfallheilkd 216: 23-35.

159. Schlichting, K., Schell, H., Kleemann, R., Schill, A., Weiler, A., Duda, G. N., und Epari, D. R. (2008). "Influence of scaffold stiffness on subchondral bone and subsequent cartilage regeneration in an ovine model of osteochondral defect healing." AM J Sports Med 36(12): 2379-2392.
160. Seebeck, P., Thompson, M. S., Parwani, A., Taylor, W. R., Schell, H., und Duda, G. N. (2005). "Gait evaluation: a tool to monitor bone healing?" Clin Biomech (Bristol, Avon) 20(9): 883-891.
161. Shahgaldi, B. F., Amis, A. A., Heatley, F., McDowell, J., und Bentley, G (1991). "Repair of cartilage lesions using biological implants. A comparative histological and biomechanical study in goats." J Bone Joint Surg Br 73(1): 57-64.
162. Shao, X. X., Hutmacher, D. W., Ho, S. T., und Goh, J. C. (2006). "Evaluation of a hybrid scaffold/cell construct in repair of high-load-bearing osteochondral defects in rabbits." Biomaterials 27(7): 1071-1080.
163. Shapiro, F., Koide, S., und Glimcher, M. (1993). "Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage." J Bone Joint Surg Am 75(4): 532-553.
164. Sherwood, J. K., Riley, S. L., Palazzolo, R., Brown, S. C., Monkhouse, C., und Coates, M. (2002). "A three-dimensional osteochondral composite scaffold for articular cartilage repair." Biomaterials 23(24): 4739-4751.
165. Siebert, C. H., Miltner, O., Schneider, U., Wahner, T., Koch, S., und Niedhart, C. (2001). "Healing of osteochondral transplants--animal experiment studies using a sheep model." Z Orthop Ihre Grenzgeb 139(5): 382-386.
166. Siebert, C. H., Miltner, O., Schneider, U., Weber, M., Wahner, T., und Niedhart, C. (2003a). "Filling of osteochondral donor site defects. Experimental study with tricalcium phosphate cement and BMP-2." Z Orthop Ihre Grenzgeb 141(2): 227-232.
167. Siebert, C. H., Miltner, O., Wber, M., Sopka, S., Koch, S., und Niedhart, C. (2003b). "Healing of osteochondral grafts in an ovine model under the influence of bFGF." Arthroscopy 19(2): 182-187.
168. Steadman, J. R., Briggs, K. K., Rodrigo, J. J., Kocher, M. S., Gill, T. J., und Rodkey, W. G. (2003). "Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up." Arthroscopy 19(5): 477-484.
169. Steadman, J. R., Rodkey, W., Briggs, K. K., und Rodrigo, J. (1999). "The microfracture technic in the management of complete cartilage defects in the knee joint." Orthopaede 28(1): 26-32.
170. Steadman, J. R., Rodkey, W., Singelton, S. B., und Briggs, K. K. (1997). "Microfracture Technique for Full-Thickness Chondral Defects: Technique and Clinical Results." Operative Techniques in Orthopaedics 7(4): 300-304.
171. Steinwachs, M. R., Erggelet C., Lahm A., und Guhlke-Steinwachs U. (1999). "Klinische und zellbiologische Aspekte der autologen Chondrozytenimplantation." Unfallchirurg 102(11): 855-860.
172. Steinwachs, M. R., Kreuz, P. C., Guhlke-Steinwachs, U., und Niemeyer, P. (2008a). "Current treatment for cartilage damage in the patellofemoral joint." Orthopaede 37(9): 841-847.

173. Steinwachs, M. R., Guggi, T., und Kreuz, P. C. (2008b). "Marrow stimulation techniques injury." Injury 39(Suppl 1): S26-31.
174. Suganuma J., und Alexander, H. (1993). "Biological Response of intramedullary Bone to Poly-L-Lactic Acid." J Applied Biomaterials 4: 13-27.
175. Swieszkowski, W., Tuan, B. H., Kurzydowski, K. J., und Hutmacher, D. W. (2007). "Repair and regeneration of osteochondral defects in articular joints." Biomolecular Eng 24(5): 489-495.
176. Ulrich-Vinther, M., Maloney, M. D., Schwaz, E., Rosier, R., und O'Keefe, R. (2003). "Articular cartilage biology." J Am Acad Orthop Surg 11(6): 421-30.
177. van Dyk, G. E., DeJardin, L. M., Flo, G., und Johnson, L. (1998). "Cancellous bone grafting of large osteochondral defects: an experimental study in dogs." Arthroscopy 14(3): 311-320.
178. Wakitani, S., Goto, T., Pineda, S., Young, R. Mansour, J., Caplan, A., und Goldberg, V. (1994). "Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage." J Bone Joint Surg Am 76(4): 579-592.
179. Wei X., Gao, J., und Messner, K. (1997). "Maturation-dependent repair of untreated osteochondral defects in the rabbit knee joint." J Biomed Mater Res 34(1): 63-72.
180. Wei, X., und Messner, K. (1999). "Maturation-dependent durability of spontaneous cartilage repair in rabbit knee joint." J Biomed Mater Res 46(4): 539-548.
181. Weihe, S., Wehmöller, M., Tschakaloff, A., von Oepen, R., Schiller, C., Epple, M., und Eufinger, H. (2001). "Vom Fremdkörper zum biologisch aktiven Implantat." Mund Kiefer Gesichtschir 5(5): 299-304.
182. Weiler, A., Helling, H. J., Kirch, U., Zirbes, T. K., und Rehm, K. E. (1996). "Foreign-body reaction and the course of osteolysis after polyglycolide implants for fracture fixation: experimental study in sheep." J Bone Joint Surg Br 78(3): 369-376.
183. Weiler, A., und Hoffmann, R. (1998). "Klassifikation der Gewebereaktionen auf biodegradierbare Implantate." Am J Sports Med 26(1):119-26.
184. Weiler, A., Hoffmann, R. F., Stahelin, A. C., Helling, H. J., und Sudkamp, N. P. (2000). "Biodegradable implants in sports medicine: the biological base." Arthroscopy. 16(3): 305-321.
185. Woodfield, T. B., Bezemer, J. M., Pieper, J. S., van Blitterswijk, C. A., und Riesle, J. (2002). "Scaffolds for tissue engineering of cartilage." Crit Rev Eukaryot Gene Expr 12(3): 209-36.

9 Anhang

Färbeprotokolle

Tab. 5: Safranin-Orange / Lichtgrün

Schnitte entplasten im Methoxyethylacetat

absteigende Alkoholreihe 100-96-80-70 %igen Alkohol	je 2 min
dann in Aqua dest. bringen	
2. Safranin-Orange	8 min
3. Spülen in Aqua dest.	
4. Pikrinsäure ⁵	10 min
5. Spülen in Aqua dest.	
6. Spülen in 1%iger Essigsäure ⁶	
7. Lichtgrün ⁷	10 min
8. Spülen in 1%iger Essigsäure	
9. 100%iger Alkohol	3 x
10. Xylol	2x 5 min
11. Eindecken mit Vitroclud	

Färbeergebnis:

Knorpel, Osteoidsäume und Zellkerne	rot
mineralisierter Knochen und Bindegewebe	grün

⁵ Pikrinsäure, Fa. Riedel-de-Haën®

⁶ 10ml Eisessig auf 1000ml Aqua dest.

⁷ 1-2g Lichtgrün, Fa. Chroma 1B-211, in 1000ml Aqua dest. + 2ml Eisessig

Tab. 6: Kombinierte von Kossa / Safranin Orange Färbung

Schnitte entplasten im Methoxyethylacetat

absteigende Alkoholreihe 100-96-80-70 %igen Alkohol	je 2 min
dann in Aqua dest. bringen	
2. Färben in 3%iger wässrigen Silbernitratlösung ¹	5 min
3. Spülen in Aqua dest.	3x
4. Reduzieren in Natrium-Formaldehydlösung ²	2 min
5. Wässern in Leitungswasser	10 min
6. 5% Natriumthiosulfat ³	5 min
7. Wässern in Leitungswasser	10 min
8. Spülen in Aqua dest.	kurz
9. Färben in Safranin O ⁴	8 min
10. Spülen in Aqua dest.	
11. Entwässern 2 x 96% Alkohol	
2 x 100% Alkohol	
12. Xylol	2x 5 min
13. Eindecken mit Vitroclud	

Färbeergebnis:

mineralisierter Knorpel- und Knochengewebe	schwarz
Mineralisationsfronten	schwarz granuliert
Knorpel	intensiv rot
Bindegewebe	rot

¹ 3g Silbernitrat, Fa. Merck 1512, in 100ml Aqua dest.² 5g Na-karbonat, Fa. Merck 6392 (wasserfrei), in 25ml 35-40% Formaldehyd und 75ml Aqua dest.³ 50g Na-thiosulfat, Fa. Merck 6516, auf 1000ml Aqua dest.⁴ 10g Safranin-Orange, Fa. Merck 1382, auf 1000ml Aqua dest.

Tab. 7: Masson-Goldner-Trichromfärbung

Schnitte entplasten im Methoxyethylacetat

absteigende Alkoholreihe 100-96-80-70 %igen Alkohol	je 2 min
dann in Aqua dest. bringen	
2. Kernfärbung mit Weigerts Eisenhämatoxylin ⁸	2 min
3. in fließenden Wasser auswaschen	10 min
4. Färben in Säurefuchsin-Ponceau ⁹	5 min
5. Spülen in 1%iger Essigsäure	
6. Differenzieren in Phosphormolybdänsäure-Orange G ¹⁰	15 min
7. Spülen in 1%iger Essigsäure	
8. Gegenfärben in Lichtgrün	10 min
9. Spülen in 1%iger Essigsäure	
10. Entwässern in drei Portionen absteigenden Alkohols	
11. Xylol	2x 5 min
12. Eindecken mit Vitroclud	

Färbeergebnis:

Kerne	bräunlich-schwarz
Zytoplasma	ziegelrot
Erythrozyten	orange gelb
Bindegewebe, saure Mukosubstanzen	grün
Osteoid	rot

⁸ Waldeck GmbH&Co. KG, 48161 Münster, Deutschland⁹ Säurefuchsin=Ponceau Fuchsin, Fa. Chroma 2 C 149¹⁰ 3-5g Phosphormolybdänsäure, Fa. Merck 100532, + 2g OrangeG, Fa. Merck 15925 in 100ml Aqua dest.

Bodenreaktionsmessungen

Tab. 8: Darstellung der Mittel-, Minimum- und Maximumwerte für die Parameter (Kontaktfläche, Maximalkraft und Kontaktzeit) der Gruppe Polyweich zu allen Messzeitpunkten

Fuss	Standzeit (d)	Parameter	Mittelwert	Minimum	Maximum
Hinten links	Prä-OP	Kontaktfläche	100,00	100	100
		Maximalkraft	100,00	100	100
		Kontaktzeit	100,00	100	100
	3	Kontaktfläche	95,44	92	100
		Maximalkraft	86,12	74	104
		Kontaktzeit	105,19	72	168
	7	Kontaktfläche	98,40	92	108
		Maximalkraft	86,55	74	101
		Kontaktzeit	90,94	63	122
	14	Kontaktfläche	100,32	96	103
		Maximalkraft	91,68	81	103
		Kontaktzeit	98,07	64	150
	21	Kontaktfläche	101,72	99	107
		Maximalkraft	95,73	84	119
		Kontaktzeit	96,01	62	128
	28	Kontaktfläche	101,22	99	105
		Maximalkraft	101,10	87	118
		Kontaktzeit	84,98	57	111
	56	Kontaktfläche	107,81	104	112
		Maximalkraft	111,20	93	128
		Kontaktzeit	81,19	57	106
	84	Kontaktfläche	107,44	102	112
		Maximalkraft	110,38	92	121
		Kontaktzeit	81,86	63	102
	112	Kontaktfläche	108,95	98	119
		Maximalkraft	113,16	101	124
		Kontaktzeit	83,81	52	106
	140	Kontaktfläche	108,80	103	115
		Maximalkraft	110,84	104	121
		Kontaktzeit	94,10	69	111
168	Kontaktfläche	110,62	102	119	
	Maximalkraft	111,96	100	123	
	Kontaktzeit	102,34	68	121	
Hinten rechts	Prä-OP	Kontaktfläche	100,00	100	100
		Maximalkraft	100,00	100	100
		Kontaktzeit	100,00	100	100
	3	Kontaktfläche	102,89	98	111
		Maximalkraft	108,22	94	119
		Kontaktzeit	91,96	67	125

7	Kontaktfläche	105,16	96	114
	Maximalkraft	103,98	89	122
	Kontaktzeit	88,23	67	113
14	Kontaktfläche	104,21	98	113
	Maximalkraft	101,34	85	119
	Kontaktzeit	86,27	64	112
21	Kontaktfläche	103,49	96	110
	Maximalkraft	105,18	78	114
	Kontaktzeit	82,43	61	111
28	Kontaktfläche	103,81	96	109
	Maximalkraft	107,07	87	127
	Kontaktzeit	84,66	66	104
56	Kontaktfläche	106,27	93	115
	Maximalkraft	113,28	95	126
	Kontaktzeit	80,88	64	103
84	Kontaktfläche	104,10	97	111
	Maximalkraft	110,03	88	131
	Kontaktzeit	84,57	69	114
112	Kontaktfläche	104,17	93	117
	Maximalkraft	109,88	95	129
	Kontaktzeit	86,19	67	108
140	Kontaktfläche	106,91	101	113
	Maximalkraft	109,35	94	128
	Kontaktzeit	83,68	67	102
168	Kontaktfläche	109,63	97	131
	Maximalkraft	110,98	93	123
	Kontaktzeit	86,47	70	116

Tab. 9: Darstellung der Mittel-, Minimum- und Maximumwerte für die Parameter (Kontaktfläche, Maximalkraft und Kontaktzeit) der Gruppe Polyhart zu allen Messzeitpunkten

Fuss	Standzeit (d)	Parameter	Mittelwert	Minimum	Maximum	
Hinten links	Prä-OP	Kontaktfläche	100,00	100	100	
		Maximalkraft	100,00	100	100	
		Kontaktzeit	100,00	100	100	
	3	Kontaktfläche	93,79	80	116	
		Maximalkraft	83,29	64	104	
		Kontaktzeit	91,77	60	168	
	7	Kontaktfläche	98,31	86	114	
		Maximalkraft	85,05	69	102	
		Kontaktzeit	87,45	59	122	
	14	Kontaktfläche	98,14	86	105	
		Maximalkraft	87,36	77	103	
		Kontaktzeit	94,08	60	150	
	21	Kontaktfläche	98,83	81	107	
		Maximalkraft	90,34	77	119	
		Kontaktzeit	92,50	62	128	
	28	Kontaktfläche	98,77	81	105	
		Maximalkraft	95,54	85	118	
		Kontaktzeit	84,39	57	111	
	56	Kontaktfläche	105,18	81	118	
		Maximalkraft	103,85	91	128	
		Kontaktzeit	83,87	57	110	
	84	Kontaktfläche	103,80	84	112	
		Maximalkraft	104,75	87	121	
		Kontaktzeit	83,92	63	102	
	112	Kontaktfläche	105,74	89	119	
		Maximalkraft	111,17	94	129	
		Kontaktzeit	86,06	52	106	
	140	Kontaktfläche	107,03	90	117	
		Maximalkraft	108,13	80	127	
		Kontaktzeit	86,06	69	111	
	168	Kontaktfläche	107,75	87	122	
		Maximalkraft	112,77	95	140	
		Kontaktzeit	95,23	67	121	
	Hinten rechts	Prä-OP	Kontaktfläche	100,00	100	100
			Maximalkraft	100,00	100	100
			Kontaktzeit	100,00	100	100
3		Kontaktfläche	104,98	99	111	
		Maximalkraft	111,75	106	119	
		Kontaktzeit	83,38	67	96	
7		Kontaktfläche	107,62	103	114	
		Maximalkraft	107,15	91	122	
		Kontaktzeit	84,26	67	113	

14	Kontaktfläche	106,67	101	113
	Maximalkraft	102,27	85	119
	Kontaktzeit	82,40	64	102
21	Kontaktfläche	103,18	96	110
	Maximalkraft	106,89	92	114
	Kontaktzeit	78,06	61	96
28	Kontaktfläche	102,13	96	109
	Maximalkraft	105,59	87	126
	Kontaktzeit	84,76	66	104
56	Kontaktfläche	105,47	93	115
	Maximalkraft	111,71	95	126
	Kontaktzeit	83,27	67	104
84	Kontaktfläche	104,66	98	111
	Maximalkraft	107,83	88	121
	Kontaktzeit	83,27	70	114
112	Kontaktfläche	104,15	93	117
	Maximalkraft	105,68	95	127
	Kontaktzeit	89,34	68	108
140	Kontaktfläche	105,73	101	109
	Maximalkraft	107,13	94	128
	Kontaktzeit	77,96	67	98
168	Kontaktfläche	106,19	97	113
	Maximalkraft	108,80	93	123
	Kontaktzeit	82,31	70	116

Histomorphometrie

Tab. 10: Ergebnisse der Bildanalyse: Median, Minimal- und Maximalwerte der Gruppen Polyweich und Polyhart, Gewebeanteil an Gesamtgewebe (%) in ROI A

Standzeit	Implantat	Präparat		Knochen	Binde- gewebe	Knorpel	Scaffold	Leer- fläche
3 Monate	Pw	Füllung	Minimum	10	19	1	0	6
			Maximum	49	48	31	2	47
			Median	14,51	34,73	12,37	0,12	18,42
		LD	Minimum	6	10	1	-	10
			Maximum	43	48	17	-	61
			Median	22,22	35,10	3,81	-	17,23
		Nativ	Minimum	35	0	6	-	0
			Maximum	49	2	14	-	0
			Median	44,84	0,57	10,19	-	0
6 Monate	Pw	Füllung	Minimum	41	1	7	0	2
			Maximum	61	20	10	6	14
			Median	53,96	9,95	8,56	1,25	7,25
		LD	Minimum	37	1	7	-	4
			Maximum	68	32	22	-	17
			Median	47,16	7,40	10,08	-	5,55
		Nativ	Minimum	38	0	7	-	0
			Maximum	60	3	22	-	0
			Median	53,34	0,18	14,36	-	0
3 Monate	Ph	Füllung	Minimum	5	18	6	1	4
			Maximum	36	43	13	3	18
			Median	23,87	21,46	11,62	2,02	7,09
		LD	Minimum	15	14	0	-	5
			Maximum	50	42	14	-	36
			Median	25,59	28,89	9,45	-	16,63
		Nativ	Minimum	41	0	8	-	0
			Maximum	51	2	29	-	0
			Median	47,24	0,11	16,90	-	0
6 Monate	Ph	Füllung	Minimum	25	13	6	0	2
			Maximum	52	41	20	11	13
			Median	31,43	25,25	7,68	2,43	6,38
		LD	Minimum	29	4	3	-	6
			Maximum	51	27	13	-	21
			Median	47,02	14,74	9,45	-	8,56
		Nativ	Minimum	32	0	6	-	0
			Maximum	60	1	26	-	0
			Median	44,43	0,8	12,41	-	0

Tab. 11: Ergebnisse der Bildanalyse: Median, Minimal- und Maximalwerte der Gruppen Polyweich und Polyhart, Gewebeanteil an Gesamtgewebe (%) in ROI B

Standzeit	Implantat	Präparat		Knochen	Binde- gewebe	Knorpel	Scaffold	Leer- fläche
3 Monate	Pw	Füllung	Minimum	1	26	0	1	0
			Maximum	58	76	12	30	10
			Median	6,88	60,51	2,45	2,69	0
		LD	Minimum	14	1	0	-	0
			Maximum	64	67	6	-	0
			Median	21,16	30,34	0,14	-	0
		Nativ	Minimum	27	0	0	-	0
			Maximum	36	0	0	-	0
			Median	31,86	0	0	-	0
6 Monate	Pw	Füllung	Minimum	8	3	0	3	0
			Maximum	60	60	1	19	0
			Median	27,68	36,80	0	12,22	0
		LD	Minimum	22	0	0	-	0
			Maximum	44	62	0	-	0
			Median	35,11	6,68	0	-	0
		Nativ	Minimum	33	0	0	-	0
			Maximum	43	0	0	-	0
			Median	38,72	0	0	-	0
3 Monate	Ph	Füllung	Minimum	2	1	0	2	0
			Maximum	17	62	1	7	0
			Median	9,62	55,92	0,1	4,36	0
		LD	Minimum	20	9	0	-	0
			Maximum	42	37	13	-	5
			Median	35,21	21,26	0,55	-	0
		Nativ	Minimum	28	0	0	-	0
			Maximum	41	0	0	-	0
			Median	36,81	0	0	-	0
6 Monate	Ph	Füllung	Minimum	1	26	0	16	0
			Maximum	22	54	0	44	0
			Median	15,14	34,16	0	19,09	0
		LD	Minimum	24	0	0	-	0
			Maximum	48	26	1	-	0
			Median	35,58	9,15	0	-	0
		Nativ	Minimum	27	0	0	-	0
			Maximum	44	2	0	-	0
			Median	39,57	0,01	0	-	0

Tab. 12: Ergebnisse der Bildanalyse: Statistischer Vergleich des Einflusses der Standzeit auf die Gewebeanteile innerhalb der Gruppen (Gruppenvariable: Standzeit)

Gruppe	Therapie	ROI	min. Knochen		Bindegewebe		Knorpel		Scaffold		Leerdeft		Rest	
			A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Poly- weich	Nativ	Mann-Whitney-U	5,00	3,00	13,00	9,00	9,00	18,00	-	-	18,00	18,00	5,00	3,00
		Wilcoxon-W	26,00	24,00	34,00	30,00	30,00	39,00	-	-	39,00	39,00	26,00	24,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,370	0,160	0,406	0,059	0,150	1,00	-	-	1,00	1,00	0,243	0,126
	Füllung	Mann-Whitney-U	1,00	10,00	2,00	8,00	9,00	4,00	12,50	12,00	6,00	12,00	8,00	10,00
		Wilcoxon-W	22,00	31,00	23,00	29,00	30,00	25,00	33,50	33,00	27,00	33,00	29,00	31,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,006	0,200	0,010	0,109	0,150	0,020	0,369	0,337	0,055	0,140	0,109	0,199
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	2,00	8,00	5,00	9,00	5,00	12,00	-	-	5,00	15,00	11,00	8,00
		Wilcoxon-W	23,00	29,00	26,00	30,00	26,00	33,00	-	-	26,00	36,00	32,00	29,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,010	0,109	0,037	0,150	0,037	0,140	-	-	0,037	0,317	0,262	0,109
Poly- hart	Nativ	Mann-Whitney-U	14,00	9,00	12,00	7,50	8,00	15,00	-	-	15,00	15,00	10,00	8,00
		Wilcoxon-W	35,00	24,00	27,00	22,50	29,00	36,00	-	-	36,00	36,00	25,00	29,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,855	0,273	0,526	0,082	0,201	1,00	-	-	1,00	1,00	0,361	0,201
	Füllung	Mann-Whitney-U	5,00	10,00	9,00	7,00	11,00	10,50	12,00	0,00	8,00	12,00	7,00	6,00
		Wilcoxon-W	15,00	20,00	30,00	28,00	32,00	31,50	33,00	10,00	29,00	33,00	28,00	27,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,221	0,670	0,522	0,286	0,831	0,648	1,00	0,011	0,394	1,00	0,286	0,201
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	5,00	10,00	3,00	8,00	13,00	10,50	-	-	10,00	12,00	9,00	13,00
		Wilcoxon-W	20,00	25,00	24,00	29,00	34,00	31,50	-	-	31,00	33,00	24,00	28,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,068	0,361	0,028	0,201	0,715	0,269	-	-	0,361	0,273	0,273	0,715

Der als Rest deklarierte Anteil bezieht sich auf die Fläche der Knochenlakunen und ist nur auf Grund der Vollständigkeit erwähnt.

Tab. 13: Ergebnisse der Bildanalyse: Statistischer Vergleich des Einflusses der Therapie auf die Gewebeanteile zu drei bzw. sechs Monaten Standzeit. (Vergleich zwischen Polyweich und Polyhart, Gruppenvariable: Therapie)

Standzeit	Therapie	ROI	min. Knochen		Bindegewebe		Knorpel		Scaffold		Leerdefekt		Rest	
			A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
3 Monate	Nativ	Mann-Whitney-U	10,00	9,00	10,00	15,00	3,00	15,00	-	-	15,00	15,00	6,00	9,00
		Wilcoxon-W	31,00	30,00	25,00	30,00	24,00	30,00	-	-	30,00	30,00	21,00	24,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,361	0,273	0,320	1,00	0,028	1,00	-	-	1,00	1,00	0,100	0,273
	Füllung	Mann-Whitney-U	10,00	12,00	8,00	8,00	10,00	4,00	4,00	11,00	4,00	8,00	1,00	2,00
		Wilcoxon-W	31,00	22,00	18,00	18,00	20,00	14,00	25,00	32,00	14,00	18,00	22,00	23,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,670	1,00	0,394	0,394	0,670	0,084	0,087	0,831	0,088	0,224	0,019	0,032
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	13,00	10,00	14,00	10,00	10,00	14,00	-	-	11,00	15,00	9,00	7,00
		Wilcoxon-W	34,00	31,00	29,00	25,00	31,00	35,00	-	-	26,00	30,00	30,00	28,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,715	0,361	0,855	0,361	0,361	0,833	-	-	0,465	1,00	0,273	0,144
6 Monate	Nativ	Mann-Whitney-U	10,00	17,00	16,50	14,50	16,00	18,00	-	-	18,00	18,00	9,00	15,00
		Wilcoxon-W	31,00	38,00	37,50	35,50	37,00	39,00	-	-	39,00	39,00	30,00	36,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,200	0,873	0,798	0,550	0,749	1,00	-	-	1,00	1,00	0,150	0,631
	Füllung	Mann-Whitney-U	4,00	4,00	6,00	16,00	18,00	17,50	15,00	4,00	13,00	18,00	16,00	14,00
		Wilcoxon-W	25,00	25,00	27,00	37,00	39,00	38,50	36,00	25,00	34,00	39,00	37,00	35,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,025	0,025	0,055	0,749	1,00	0,902	0,625	0,025	0,423	1,00	0,749	0,522
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	15,00	16,00	11,00	16,00	12,00	15,00	-	-	10,00	18,00	15,00	15,00
		Wilcoxon-W	36,00	37,00	32,00	37,00	33,00	36,00	-	-	31,00	39,00	36,00	36,00
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,631	0,749	0,262	0,724	0,337	0,317	-	-	0,200	1,00	0,631	0,631

Der als Rest deklarierte Anteil bezieht sich auf die Fläche der Knochenlakunen und ist nur auf Grund der Vollständigkeit erwähnt.

Tab. 14: Wilcoxon-Test, Statistischer Vergleich der Gewebekomponenten zwischen Leerdefekten und gefüllten Defekten aller Gruppen bezogen auf ROI A und ROI B

Standzeit	Implantat		Knochen		Bindegewebe		Knorpel		Leerfläche		Rest	
			ROI A	ROI B	ROI A	ROI B	ROI A	ROI B	ROI A	ROI B	ROI A	ROI B
3 Monate	Poly-weich	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,600	0,249	0,462	0,075	0,173	0,753	0,463	0,655	0,463	0,028
	Poly-hart	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,715	0,068	0,273	0,273	0,465	0,285	0,144	0,317	0,068	0,715
6 Monate	Poly-weich	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,463	0,917	0,917	0,046	0,116	0,317	0,753	1,00	0,917	0,028
	Poly-hart	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,345	0,028	0,249	0,046	0,463	0,655	0,173	1,00	0,345	0,028

Der als Rest deklarierte Anteil bezieht sich auf die Fläche der Knochenlakunen und ist nur auf Grund der Vollständigkeit erwähnt.

Histoscore

Tab. 15: Deskriptive Beschreibung der einzelnen Scoreparameter für alle Gruppen und Standzeiten, Darstellung der Mediane, Maximal- und Minimalwerte

Score A		Polyweich				Polyhart			
		3 Monate		6 Monate		3 Monate		6 Monate	
Kriterium		Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung
Prozentualer Anteil hyalinen Knorpels	Median	0	2	2	3	2	4	2	2
	Minimum	0	0	0	2	0	0	0	2
	Maximum	2	2	4	4	2	6	2	4
Oberflächenbeschaffenheit	Median	1	1	1	2	1	2	1	1
	Minimum	1	1	0	1	1	0	1	1
	Maximum	2	2	2	2	2	2	1	2
Strukturelle Integrität	Median	0	1	1	1	0,5	1	1	1
	Minimum	0	0	1	1	0	1	1	1
	Maximum	1	1	2	2	2	1	1	2
Knorpeldicke	Median	0	0	1	1	1	1	1	1
	Minimum	0	0	0	1	0	1	0	0
	Maximum	1	1	1	1	1	1	1	1
Verbindung zum umliegenden Knorpel	Median	1	1	2	2	2	2	1	1,5
	Minimum	0	1	1	2	1	2	1	1
	Maximum	2	2	2	2	2	2	2	2
Degenerative zelluläre Veränderungen	Median	1	1	1	0,5	0	1	1	1
	Minimum	0	0	0	0	0	1	0	1
	Maximum	1	1	1	1	1	1	1	1
Degenerative Veränderungen im umliegenden Knorpel	Median	3	3	2	3	3	2,5	3	3
	Minimum	2	2	2	2	2	2	2	3
	Maximum	3	3	3	3	3	3	3	3
Rekonstruktion des subchondralen Knochens	Median	0	1	1	1	0	1,5	1	1
	Minimum	0	0	0	1	0	0	0	0
	Maximum	1	1	2	2	1	1	2	2
Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und	Median	0	0	1	1	0	1	1	1
	Minimum	0	0	0	1	0	0	0	1

neuem subchondralen Knochen	Maximum	1	1	1	1	1	1	1	1
Safranin-Orange Färbung	Median	1	1	1	1,5	1	2	1	2
	Minimum	1	0	1	1	1	2	1	1
	Maximum	2	1	2	2	1	2	2	2
Score B									
		Polyweich				Polyhart			
		3 Monate		6 Monate		3 Monate		6 Monate	
Kriterium		Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung	Leerdefekt	Füllung
Auffüllung im Defektbereich	Median	2,5	2	4	4	3	3	3,5	4
	Minimum	1	1	1	2	1	2	3	3
	Maximum	4	4	4	4	3	4	4	4
Laterale knöchernen Integration	Median	1	1	2	2	2	1	2	1,50
	Minimum	1	1	1	2	1	1	1	1
	Maximum	2	2	2	2	2	1	2	2
Basale knöchernen Integration	Median	1	0,5	2	1	1	0,5	1,5	1
	Minimum	0	0	0	0	0	0	1	0
	Maximum	2	1	2	1	2	1	2	1
Entzündungsreaktion	Median	1	1	1,5	1	1	0,5	1	1
	Minimum	1	0	1	1	1	0	1	1
	Maximum	2	1	2	1	1	1	2	2
Fremdkörperreaktion	Median	0	0	1	0	1	0	1	0
	Minimum	0	0	0	0	0	0	0	0
	Maximum	0	0	1	1	1	1	1	1

Tab. 16: Deskriptive Beschreibung der einzelnen Scores (Score A, Score B, Score Gesamt) für alle Gruppen und Standzeiten, Darstellung der Mediane, Maximal- und Minimalwerte

Standzeit	Defekt	Therapie		Score A	Score B	Score Gesamt
3 Monate	Leerdefekt	Polyweich	Median	8	6	14
			Minimum	5	4	9
			Maximum	14	8	22
		Polyhart	Median	9	7	15,5
			Minimum	8	5	14
			Maximum	13	8	21
3 Monate	Füllung	Polyweich	Median	10,5	5	15,5
			Minimum	7	3	10
			Maximum	13	7	19
		Polyhart	Median	17	5,5	23
			Minimum	10	5	15
			Maximum	19	7	25
6 Monate	Leerdefekt	Polyweich	Median	13,5	9	22,5
			Minimum	9	8	17
			Maximum	17	10	26
		Polyhart	Median	13,5	8,5	21
			Minimum	6	7	14
			Maximum	14	10	24
6 Monate	Füllung	Polyweich	Median	17	7,5	25
			Minimum	13	6	19
			Maximum	20	9	29
		Polyhart	Median	15	7	22
			Minimum	13	6	20
			Maximum	19	9	26

Tab. 17: Darstellung der Differenzen der einzelnen Scores, Darstellung der Mediane, Maximal- und Minimalwerte

Implantat	Standzeit		Dif. Score A	Dif. Score B	Dif. Score Gesamt
Polyweich	3 Monate	Median	3,00	-1,00	1,00
		Minimum	-1,00	-4,00	-3,00
		Maximum	4,00	2,00	5,00
Polyweich	6 Monate	Median	3,50	-1,50	1,50
		Minimum	0,00	-3,00	0,00
		Maximum	7,00	0,00	7,00
Polyhart	3 Monate	Median	8,00	-2,00	7,50
		Minimum	-3,00	-3,00	-6,00
		Maximum	11,00	2,00	10,00
Polyhart	6 Monate	Median	1,50	-2,00	1,50
		Minimum	-1,00	-4,00	-4,00
		Maximum	13,00	2,00	12,00

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht hätte entstehen können.

Mein erster Dank gilt Frau Professor Dr. Anja Sterner-Kock und Herrn Professor Dr.-Ing. Georg N. Duda für die Überlassung dieses interessanten Themas und die Betreuung der Arbeit. Sie gaben mir die Möglichkeit Einblicke und Erfahrungen auf dem Gebiet der Forschung zu sammeln.

Besonderer Dank gilt Frau Dr. Hanna Schell für die wissenschaftliche Anleitung und Betreuung bei der Durchführung und Auswertung dieser Arbeit sowie die jederzeit gewährte Unterstützung, konstruktive Kritik und geduldige Korrektur meiner Arbeit.

Des Weiteren möchte ich mich bei meinen Mitdoktoranden vor allem Liv Matz und Christiane Bose bedanken, die gemeinsame Arbeit mit euch hat viel Spaß gebracht und half einige schwere Abschnitte zu bewältigen.

Ferner möchte ich mich bei der Forschungsabteilung des CMSC der Charité Berlin bedanken für die ständige und geduldige Anleitung, tatkräftige Hilfe und für ihre technische und moralische Unterstützung sowie bei den Mitarbeitern des Instituts für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité Campus Mitte und im Besonderen bei Frau Dr. Brigitte Wegner. Weiterer Dank gilt Frau Dr. Gisela Arndt und Frau Rose Schmitz aus dem Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin für ihre kompetente und ausdauernde Hilfe.

Abschließend möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Familie bedanken für die unerlässliche und vorbehaltlose Unterstützung, die mir das Studium und die Erfüllung meines Traumes ermöglichten. Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meiner Schwester für ihre Hilfe.

Besonderer Dank gilt auch meinen Freunden für ihre jahrelange moralische Unterstützung, die geduldige Korrektur und konstruktive Kritik sowie für den Zuspruch neben der Arbeit, ohne Ihre Hilfe wäre diese Arbeit immer noch nicht vollendet.

11 Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorgelegte Arbeit von mir selbst und ohne Hilfe Dritter verfasst wurde. Ich versichere, dass ich ausschließlich die, in dieser Dissertation angegebenen Hilfsmitteln und Literaturquellen verwendet habe. Bei den von mir durchgeführten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis eingehalten.

Dortmund, den 03.03.2009

Dorothea Jansen