

## 5. Diskussion

10-12% aller Individuen werden im Laufe ihres Lebens unter Knorpelverletzungen im Kniegelenk leiden (Sellards R et al., 2002). In Mitteleuropa ist sogar jeder vierte Mensch potenziell betroffen (van Saase J et al., 1989). In Deutschland liegt die Zahl der Indikationen für gelenkerhaltende, operative Maßnahmen bei isolierten Knorpeldefekten bei 1500–5400 im Jahr. Die Anzahl der implantierten Kniegelenke in Deutschland beträgt das Zehnfache (Wildner M et al., 2000). Aus diesen Tatsachen resultiert ein nicht unerheblicher Kostenfaktor. 2002 wurden für die Behandlungen von Arthrosepatienten schätzungsweise 7,2 Milliarden Euro ausgegeben (Statistisches Bundesamt 2006). Dies macht die Arthrose zu einer der volkswirtschaftlich bedeutendsten chronischen Krankheiten. Deshalb hat die Entwicklung neuer gelenkerhaltender Therapiemethoden in den letzten Jahren zu einer Abnahme der Gelenkersatzoperationen und zusätzlich zu einer Senkung der Behandlungskosten geführt (Wildner M et al., 2000). Diese Tatsache gibt Anlass, weiterhin nach langfristig gelenkerhaltenden Therapiemethoden zu suchen.

Ziel dieser Studie war es zu zeigen, dass für eine schnelle und komplikationsarme Heilung eines Knorpelschadens die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und dessen mechanische Funktion wesentlich sind. Es sollte die Behandlungsmethode des autologen, osteochondralen Transfers mit der Behandlungsmethode der autologen Spongiosacluster als Defektfüllung verglichen werden.

Die zu Beginn aufgestellte Hypothese, dass histologische Qualität sowie Struktur und Bestandteile des entstehenden Knorpelgewebes in der Regeneration von der initialen Struktur der Defektfüllung abhängig sind, konnte insofern bestätigt werden, dass die OCT-Gruppe die besseren Heilungsergebnisse erzielte. Bei der Operationstechnik des autologen, osteochondralen Transfers wurde ein Knorpel-Knochen-Zylinder in den kreierten Defekt übertragen, der in den überwiegenden Fällen sehr gutes Einwachsungsverhalten zeigte und der Belastungssituation im Gelenk standhalten konnte. Nach drei Monaten war die Qualität des transplantierten Knorpels zufriedenstellend. Die in den Defekt eingebrachten Spongiosacluster hingegen wurden primär abgebaut, bevor neues Knochengewebe aufgebaut werden konnte. Nach drei Monaten waren die Defekte, die mit den autologen Spongiosaclustern behandelt wurden, nicht genügend aufgefüllt, um eine Gelenkoberfläche bilden zu können. Nach sechs Monaten dagegen hatten die Defekte der SPC-Gruppe in den meisten Fällen eine Gelenkoberfläche ausgebildet. Der Knorpel allerdings zeigte deutliche degenerative Anzeichen. Im Vergleich mit den Ergebnissen nach drei monatiger Heilungszeit, sah die Knorpelqualität der OCT-Gruppe nach sechs Monaten etwas schlechter aus. Auch hier waren deutliche degenerative Anzeichen wie Chondrozytencluster, Proteoglykanverlust und zellarme Bereiche zu erkennen.

Die zweite Hypothese, dass die Heilungsergebnisse der beiden Operationstechniken als gleichwertig anzusehen sind, konnte also nicht bestätigt werden.

## 5.1 Diskussion der Methoden

### 5.1.1 Das Tiermodell

In Tierversuchsprojekten, bei denen das Heilungsverhalten osteochondraler Defekte beurteilt werden soll, werden bevorzugt Kleintiere wie z.B Ratten und Kaninchen verwendet (Kettunen K et al., 1973; Nam E et al., 2004; Wakitani S et al., 1994; Kaar T et al., 1998; Salter R et al., 1980; Shapiro F et al., 1993; Caplan A et al., 1997). Betrachtet man aber die Anatomie und Physiologie dieser Tiere wird deutlich, dass die Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen sehr schwierig ist. Es werden auch Hunde (Calandruccio R et al., 1962; DePalma A et al., 1966; van Dyk G et al., 1998) oder Ziegen (Butnariu-Ephrat M et al., 1996; Niederauer G et al., 2000) für solche Versuche verwendet. Die Wahl des Schafes als Versuchstier resultierte aus der Tatsache, dass das Schaf aufgrund einer geringeren Flexionshaltung in den Hintergliedmaßen eine Belastungssituation aufweist, die mit der des Menschen vergleichbar ist (Russlies M et al., 2003). Zudem ist der operative Zugang zum Kniegelenk des Schafes unkompliziert (Allen M et al., 1998).

Weiter ist es vorteilhaft, dass schon diverse Studien mit dem Schaf als Versuchstier existieren, die eine Vergleichbarkeit zwischen den Projekten ermöglichen (Siebert C et al., 2003; Siebert C et al., 2001; Russlies M et al., 2003; von Rechenberg B et al., 2003; Rothwell A, 1990; Homminga G et al., 1991; Siebert C et al., 2003; Weiler A et al., 1996; Leniz P et al., 2004; Pearce S et al., 2001; Spangenberg K et al., 2002; Appleyard R et al., 2003; Allen M et al., 1998; Akens M et al., 2001). Das Schaf ist für dieses Projekt sehr geeignet, da Schafe für gewöhnlich sofort die operierte Gliedmaße wieder belasten (Nunamaker D, 1998). Dieses ist in einer Studie, für die die frühe Belastung wichtig ist, ein entscheidender Vorteil. Die Beurteilung einer Knorpelheilung ist nur dann sinnvoll, wenn sie während des Heilungsverlaufs einer physiologischen Be- und Entlastung unterliegt. Deshalb ist es auch nur im Tierversuch möglich, das Einheilen von Knorpeltransplantaten zu beurteilen, denn durch die ständige mechanische Belastung kann das Verhalten des Implantats beobachtet werden. Die sofortige Belastung der operierten Gliedmaße scheint sich im Vergleich mit kontrollierter, intermittierender Belastung oder völliger Ruhigstellung positiv auf die Knorpelheilung auszuwirken (Salter R et al., 1980; Shimizu T et al., 1987; Moran M et al., 1992; Mitchell N et al., 2004; Buckwalter J, 1995; Buckwalter J, 1995; O'Driscoll S et al., 1986; O'Driscoll S et al., 1986; Binnet M et al., 2001).

Nachteilig ist die unkontrollierbare Bewegung und Belastung innerhalb der Herde. Zusätzlich hat das Schaf eine andere metabolische Aktivität als der Mensch (Coulson R, 1983),

teilweise laufen Umbauprozesse deshalb speziesabhängig schneller ab (Frankenburg E et al., 1998) und die Ergebnisse können nicht ohne Einschränkung auf den Menschen übertragen werden. In vorherigen Studien wurde aufgezeigt, dass Knorpel-Knochen-Defekte von 6-7 mm Durchmesser im Tierversuch nicht spontan ausgeheilt sind (Bruns J et al., 1997; Shahgaldi B et al., 1991). Deshalb ist diese Größe als kritische Defektgröße anzusehen.

Ein weiteres Kriterium in der Beurteilung der Knorpeldefektheilung ist das Alter der Tiere. Bei jungen Tieren heilen Defekte besser und schneller als bei ausgewachsenen Tieren (Dustmann H et al., 1976; Wei X et al., 1997). Deshalb wurden ausgewachsene Schafe mit einem Alter über zwei Jahren, deren Epiphysenfugen geschlossen waren, für dieses Projekt gewählt. Der Epiphysenfugenschluss konnte auf den postoperativen Röntgenbildern bestätigt werden.

### **5.1.2 Operation und postoperativer Beobachtungszeitraum**

Diese Arbeit war Teil eines Tierversuchsprojektes, in dem gezeigt werden sollte, dass für eine schnelle und komplikationsarme Heilung eines Knorpeldefektes die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und dessen mechanische Funktion wesentlich sind. Die Knorpel-Knochen-Defekte wurden im linken Hinterbein in den lastentragenden Bereich der Femurkondyle gesetzt, da die Aufrechterhaltung der Knorpelzusammensetzung von Bewegung und Belastung abhängig ist (Buckwalter J, 1995). Die Defektgröße orientierte sich an der im Moment etablierten Technik der Mosaikplastik und hatte dementsprechend die Größe der in der Humanmedizin erhältlichen Werkzeuge. Dazu musste die Größe des Defektes auch in Relation zu der Größe des gesamten Kondylus stehen. Deshalb wurden die Defektdurchmesser von 7,3 mm für die gefüllten Defekte und 8,3 mm für die Leerdefekte gewählt. Dabei musste berücksichtigt werden, dass die zu vergleichenden Defekte nicht dieselbe Größe besaßen und es deshalb zu Unterschieden in der Knorpelheilung kommen konnte. Die Tiefe wurde mit 10 mm bemessen, um zu gewährleisten, dass die Implantate nicht aus dem Bohrkanal in den Gelenkspalt fallen konnten. Zudem wurde zumindest bei der OCT-Gruppe der Zylinder mittels „press-fit“ Technik eingesetzt. Diese „press-fit“ Methode stellte sicher, dass die Zylinder im Bohrkanal verankert waren und keine Schäden im Gelenk oder im Regenerat durch Bewegung des Transplantats entstehen konnten.

Während der Operation musste bei beiden Operationstechniken die Ansatzsehne des Musculus extensor digitorum longum aus dem Operationsfeld gehalten werden, da sie beim Schaf genau über den lateralen Kondylus verläuft (Allen M et al., 1998). Dies stellte sich als sehr schwierig heraus und unter diesen Bedingungen konnten die gesetzten Knorpel-Knochen-Defekte nicht immer standardisiert gesetzt werden. So kam es teilweise zu geringfügig unterschiedlichen Lokalisationen und daraus resultierend möglicherweise zu abweichenden Heilungsergebnissen.

Bei der Operationstechnik des autologen, osteochondralen Transfers bestand bei der Entnahme des Zylinders die Gefahr, dass der Zylinder schräg oder abgebrochen an seiner Basis war und somit nicht mehr genau in das vorgefräste Bohrloch passte. Dadurch bestand die Gefahr der Inkongruenz der Implantatoberfläche. Zudem existierte immer die Problematik der ungleichen Knorpeldicke, die zu unterschiedlich starkem Abrieb post operationem führen konnte und durch die unterschiedliche Oberflächenkrümmung von Implantat und umgebenden Randgewebe konnte es ebenfalls zu Inkongruenzen kommen.

Bei der Operationstechnik der SPC-Gruppe gab diese Problematik nicht, dafür wurde hier der Fibrinkleber und die Kollagenmembran als Fremdkörper in das Gelenk eingebracht, damit die Spongiosacluster nicht in den Gelenkspalt vordringen konnten. Es bestand bei dieser Operationstechnik die Gefahr, dass es zu Fremdkörperreaktionen durch die Kollagenmembran und den Fibrinkleber im Gelenk kam. Die Kollagenmembran wurde auf den sehr dünnen Schafsknorpel mit mehreren Stichen aufgenäht. Aufgrund dieses sehr dünnen Knorpels konnten in einigen Fällen weniger Fadenhefte gesetzt werden, als in anderen. Die Befestigung der Kollagenmembran wurde aber bei allen Tieren sichergestellt.

Die Standzeiten von drei bzw. sechs Monaten stellen zwei ausgewählte Zeitpunkte in der Knorpeldefektheilung dar. Die Auswahl der Zeitpunkte erfolgte in Übereinstimmung mit anderen Studien, um auch hier eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Allerdings sollte beachtet werden, dass es bei der Bewertung von Therapiemethoden von osteochondralen Defekten notwendig erscheint, einen längeren Zeitraum zu betrachten. Shapiro berichtete 1993 (Shapiro F et al., 1993), dass bei unbehandelten Defekten an Kaninchenknien die meisten Komplikationen im Zeitraum zwischen sechs und zwölf Monaten auftraten. Allerdings ist hier zu bemerken, dass die Defekte in der besagten Studie kleiner waren als in diesem Projekt und dass Kaninchen eine andere Regenerationsgeschwindigkeit besitzen als Schafe. Demnach wäre eine Erhöhung der Komplikationsrate in dieser Studie vermutlich wesentlich später zu erwarten, da Schafe eine längere Einheilungszeit haben als Kaninchen. In den meisten Studien kann aufgrund der begrenzten Standzeiten keine Aussage über die Langzeitqualität der Knorpelregenerate gemacht werden.

### **5.1.3 Gewinnung und Aufarbeitung der Proben**

Bei der OCT-Gruppe war es nach Einsetzen des Knorpel-Knochen-Zylinders nicht immer ausführbar, eine vollständig kongruente Oberfläche zu erreichen. Sechs von zwölf Zylindern lagen auf einer Seite des Defektes bis zu einem Millimeter unter oder über dem Niveau des umgebenden Knorpels, was zu einem eventuellen Absinken des Zylinders unter Belastung geführt haben kann, wenn die gegenüberliegende Gelenkseite auf den überstehenden Knorpel Belastung ausgeübt hat. Die kreierte Tiefe und die Breite der Defekte konnten in der Histomorphometrie bestätigt werden.

Da es bei der Aufarbeitung der Präparate nicht immer leicht war, den Verlauf des Bohrkanals von außen zu erkennen, war nicht ausgeschlossen, dass einige Präparate diagonal gesägt wurden und dadurch verschiedene Ebenen innerhalb des gesägten Blockes entstanden sind. Manche Paraffinblöcke, besonders die der nativen Kondylen, waren mit dem Weichschnitt-Mikrotom nicht schneidbar. Dieses Paraffin wurde wieder aufgelöst und die Knorpel-Knochenblöcke wurden noch mal in den Entwässerungsautomaten gegeben und neu eingebettet, welches möglicherweise zu Veränderungen in den Gewebeanteilen der Knorpel-Knochenblöcke geführt haben könnte.

#### **5.1.4 Histologie**

##### **Safranin-Orange**

Die Anfärbarkeit der Proteoglykane erfolgte durch eine Safranin-Orange Färbung, die den Proteoglykangehalt durch die Intensität der Färbung darstellen sollte. Durch diese Safranin-Orange Färbung ließ sich der Glykosaminoglykangehalt des Knorpelregenerates mit der des gesunden Knorpels vergleichen. Die Safranin-Orange-Färbung wird sehr häufig in der Knorpelhistologie angewendet (Shapiro F et al., 1993; Niederauer G et al., 2000; Naumann A et al., 2002). Durch die Bearbeitung der Präparate in der Histologie war es allerdings möglich, dass Teilbereiche eines Schnittes beschädigt wurden, so dass auch auf diese Weise ein Intensitätsverlust in der Färbung vorkommen konnte. So waren in einigen Schnitten weit außerhalb des Knorpeldefektes teils völlig ungefärbte Bereiche im Knorpel zu beobachten. Es ist aber davon auszugehen, dass es sich bei schwach angefärbten Bereichen in der Defektzone um Proteoglykanverlust und nicht um ein Artefakt handelte.

Da keine statistische Auswertung zu der Intensität der Safranin-Orange Färbung existiert, konnte dieser Teil der Auswertung nur deskriptiv erfolgen.

##### **Osteoklasten**

Die Färbung der Osteoklasten erfolgte anhand einer TRAP-Färbung. Es wurden nur Zellen ausgezählt, die direkt am Knochen lagen und deutlich positiv angefärbt waren. Zellen ohne Anfärbung bzw. ohne Knochenkontakt wurden nicht berücksichtigt. Es wurden nur Präparate mit Färbungen verwendet, bei denen eine regelmäßige Anfärbung der Osteoklasten vorlag. Sowohl bei den Osteoklasten als auch bei den Gefäßen bestand das Problem, dass das Plastikplättchen mit der eingefrästen ROI nicht immer exakt auf den Defekt aufgelegt werden konnte. Es wurde versucht, das Plättchen standardisiert an die obere Knorpelgrenze anzulegen, was sich bei einigen Präparaten als sehr schwierig herausstellte. Deshalb wurden die Osteoklasten von demselben Untersucher zweimal aufgelegt und gezählt und dann der Mittelwert berechnet um die Abweichungen so gering wie möglich zu halten.

### 5.1.5 Immunhistochemie

#### Darstellung der Kollagene

Die Anfärbung der Kollagene erfolgte mit Antikörpern gegen Kollagen I und Kollagen II nach einem etablierten Färbeprotokoll. Beide verwendeten Antikörper zeigten positive Anfärbungen in den verwendeten Präparaten. Mit jedem Färbegang wurde eine Negativkontrolle gefärbt, die die Spezifität des jeweiligen Antikörpers sicherte.

Bei beiden Färbungen wurde Hämalaun nach Mayer als Gegenfärbung verwendet, die bei den unterschiedlichen Färbereihen verschieden intensiv ausfallen konnte.

#### Gefäßdarstellung

Die Gefäßdarstellung erfolgte mit einem Antikörper gegen  *$\alpha$ -smooth-muscle-actin*. Da dieser Antikörper das Antigen der glatten Muskulatur von Blutgefäßen anfärbt, war es nicht möglich, Gefäße zu erfassen, die keine Tunica media besaßen. Es konnten also die ganz neu gebildeten Gefäße, die nur aus Endothel und Lumen bestanden, nicht nachgewiesen werden. Deshalb muss bei den Ergebnissen berücksichtigt werden, dass die tatsächliche Anzahl der Gefäße vermutlich etwas höher lag. Die Aussagekraft der Ergebnisse sollte von dieser Tatsache aber nicht beeinflusst sein, da dieses bei allen Gruppen und allen Defekten zutraf.

Aufgrund der Tatsache, dass alle positiv angefärbten Anschnitte gezählt wurden, war es möglich, dass einige Gefäße mehrfach gezählt wurden. Da dieser Fehler aber bei allen Präparaten gemacht wurde, veränderte dies die Aussage der Ergebnisse nicht.

Wie bei den Osteoklasten bestand auch hier das Problem, dass das Plättchen mit der ROI nicht standardisiert auf das Präparat aufgelegt werden konnte, was als Fehlerquelle zu erwähnen ist. Auch hier wurden die Gefäße von einem Untersucher nach jeweils erneutem Auflegen des Plättchens doppelt gezählt und dann der Mittelwert errechnet, um den Fehler so gering wie möglich zu halten.

Als weitere Fehlerquelle muss die subjektive Beurteilung der kleinen und großen Gefäße erwähnt werden. Da die Präparate zweimal vom gleichen Untersucher gezählt wurden und diese Fehlerquelle bei allen Präparaten gleich war, ist sie zu vernachlässigen

### 5.1.6 Histomorphometrie

Die Histomorphometrie wurde in der Bildanalyse mit einem eigens entwickelten Makro durchgeführt. Zuerst wurde auch hier eine rechteckige ROI mit der Größe des ursprünglichen Defektes auf den Defektbereich aufgelegt. Auch hier bestand die Fehlerquelle, dass die ROI manuell auf den Bohrkanal aufgelegt werden musste. Dieses stellte sich in den Fällen als schwierig heraus, in denen der ursprüngliche Bohrkanal schlecht zu erkennen war. Zudem war die aufgelegte ROI rechteckig, aber die Knorpelschicht besaß eine konvexe Oberfläche. Dadurch ist die herausgeschnittene Leerfläche etwas größer als sie in der Realität

tatsächlich war und resultierend daraus hatten sogar die nativen Präparate eine Leerfläche. Die obere Seite der ROI wurde an die Knorpeloberfläche angelegt. Es wurden jeweils von einem Schaf zwei Schnitte mit jeweils einer Kollagen I und einer Kollagen II Färbung genutzt. Dadurch mussten zwei verschiedene Schnitte verwendet werden, die aus verschiedenen Ebenen geschnitten wurden und sich dadurch individuell unterschieden. Außerdem konnte auch hier die ROI nicht immer exakt aufgelegt werden, da der Bohrkanal nicht immer deutlich zu erkennen war. Die Abweichung zwischen den berechneten Leerflächen der beiden Schnitte betrug jedoch nie mehr als fünf Prozent. Nachdem die ROI und die Leerfläche bestimmt wurden, konnte die Kollagenmaske für die jeweilige Färbung eingesetzt werden, was sich bei manchen Präparaten aufgrund der schwachen Anfärbung als recht schwierig herausstellte. In den Fällen konnte die Kollagenmaske manuell verändert werden, was durch eine subjektive Beurteilung eine Fehlerquelle darstellt.

### 5.1.7 Scoring

Die Auswertung erfolgte durch einen semiquantitativen Score, der auf dem von Wakitani basiert und schon von Pineda (Wakitani S et al., 1994) und O'Driscoll (O'Driscoll S et al., 1988) modifiziert wurde. Zusätzlich musste der Score für diese Arbeit noch weiter verändert werden, da nicht alle relevanten Kriterien in den vorhandenen Scores berücksichtigt wurden. Der prozentuale Anteil des hyalinen Knorpels wurde mit einbezogen, sowie die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und die Verbindung zwischen dem subchondralen Knochen und dem neu gebildeten Knorpel. Hinzugefügt wurde ebenso der gesamte Score B, der die allgemeine Auffüllung des Defektbereiches, die laterale und basale Integration des Zylinders, sowie Entzündungs- und Fremdkörperreaktion erfasste. Ohne Hinzunahme dieser Kriterien wäre eine umfassende Beurteilung der Präparate in dieser Studie nicht möglich gewesen. Die Safranin-Orange und Kollagen II gefärbten Präparate wurden nach den genannten Kriterien bewertet.

Bei dem Vergleich der einzelnen Kriterien des Scores unter den Gruppen war zu berücksichtigen, dass es sich um einen semiquantitativen Score handelte, aufgrund dessen subjektive Entscheidungen durch den Untersucher getroffen werden mussten. Besonders die subjektive Einschätzung von Gewebeanteilen stellte eine Fehlerquelle dar.

Es gab einige Kriterien in Score A, die nicht bewertet werden konnten, da der Untersuchungszeitpunkt zu früh war und die Defektheilung noch nicht weit genug fortgeschritten war, um Knorpelregenerate zu beurteilen. Besonders bei der SPC-Gruppe nach drei und sechs Monaten und bei den Leerdefekten beider Gruppen waren die Defekte noch nicht genug regeneriert, um eine geschlossene Knorpeloberfläche zu besitzen. Für diese Präparate war der Score A in den meisten Kriterien ungeeignet. Hier konnten nur die degenerativen Veränderungen im umgebenden Knorpel beurteilt werden. Nur in der Gruppe

der Tiere, an denen der autologe, osteochondrale Transfer vorgenommen wurde, konnte der transferierte Knorpel beurteilt werden.

In Score B wurden allgemeine Kriterien der einzelnen Defekte bewertet. Die höchste Punktzahl wurde durch die Auffüllung des Defektes erreicht, unabhängig mit welchem Gewebe der Defekt aufgefüllt war. Durch diese Tatsache erreichten einige Präparate eine hohe Punktzahl, obwohl die Defektfüllung von minderwertiger Qualität war. Deshalb war es wichtig, beide Scores zu verwenden, um sämtliche Kriterien der Knorpel-Knochenheilung zu erfassen.

## **5.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **5.2.1 Autologer, osteochondraler Transfer**

Die über den Zeitverlauf entstandenen Veränderungen in den Gewebeanteilen waren bei dieser Operationsmethode den Erwartungen entsprechend. Diese Studie bestätigt vorangegangene Ergebnisse, dass mittels „press-fit“ eingesetzte Knorpel-Knochen-Zylinder knöchern integriert werden (Hangody L et al., 1997; Laprell H et al., 2001; Gotterbarm T et al., 2003). Der transplantierte Knorpel-Knochen-Zylinder zeigte eine sehr gute knöcherne Integration. Es war in vielen Präparaten schon nach drei Monaten nicht mehr möglich zwischen Implantat und Lagergewebe zu unterscheiden.

Der Knochenanteil, der durch die positive Kollagen I Färbung nachgewiesen wurde, war in dem gefüllten Defekt im Vergleich mit dem nativen Knochen sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten signifikant größer. Dies erklärt sich durch die Dichtezunahme innerhalb des Knochengewebes, die auch in den histologischen Auswertungen deutlich wurde. Die Trabekel im oberen Defektbereich und an den Defekträndern, sowie im umgebenden Knochengewebe waren verdickt und die Lakunen verengt. Diese Tatsache wird schon in der Literatur wie folgt beschrieben: Der transplantierte Knorpel-Knochen-Zylinder dient mit seiner Spongiosaarchitektur als Leitschiene für die einwandernden Stammzellen aus dem Knochenmark (Schenk R, 1991) und ermöglicht so eine Knochenneubildung ohne vorangegangene Resorption (Kübler N, 1997). Einsprossende Gefäße, das mesenchymale Gewebe und die überlebenden, transferierten Osteoblasten siedeln sich in den Markräumen an (Burchardt H, 1983). Die mesenchymalen Zellen aus dem Knochenmark sind pluripotent und je nach Umgebung und verletztem Gewebe (Shapiro F et al., 1993) können sie sich in Fibroblasten, Osteoblasten, Chondrozyten und Adipozyten differenzieren (Ashton B et al., 1980; Sato K et al., 1984; Caplan A, 1990). Jede Traumatisierung von Knochengewebe löst eine lokale Aktivierung der Knochenbildung aus. Diese setzt bereits nach Stunden ein und weist während der ersten zwei Monate die höchste Aktivität auf (Schenk R, 1991). Schon nach einer Woche können Umbauvorgänge durch Osteoblasten und Osteoklasten

beobachtet werden, die sich auf den Knochenbälkchen in der Nähe von Gefäßen abspielten (Schweiberer L, 1971). Es entsteht ein ungeordnetes Gerüst aus Geflechtknochen zwischen den Knochenbälkchen des Transplantats. Mit einsetzendem Remodelling wird das neue Knochengüst dann zu einer dem umgebenden Knochen angepassten Architektur umgestaltet. Parallel dazu wird auch das umgebende Lagergewebe umgebaut und mit dem Transplantat verbunden (Schweiberer L et al., 1986). Aufgrund der Tatsache, dass die transplantierten Zylinder mittels „press-fit“ Technik in das Lagergewebe eingebracht wurden, bestand eine mechanische Ruhe entlang der Kontaktzonen und die Ossifikationsvorgänge wurden so gut wie nicht unterbrochen (Schenk R, 1991). Wäre diese mechanische Ruhe nicht gegeben, würden die einwandernden Stammzellen sich zu Knorpelzellen differenzieren, die den Knochenspalt überbrücken (Enchondrale Ossifikation). Erst wenn Stabilität im Implantat herrscht, würde dieser Knorpel durch Knochen ersetzt werden. Durch die sofortige mechanische Stabilität im Implantatbett wird eine sekundäre Knochenheilung über enchondrale Ossifikation verhindert, und der größte Teil der mesenchymalen Stammzellen differenziert sich sofort zu Knochenzellen (Caplan A, 1990). Diese Tatsache konnte in dieser Studie bestätigt werden, da im tiefliegenden Knochenbereich der OCT-Gruppe kein positiv angefärbter Knorpel zu finden war. Der Ersatz mit neuem Knochengewebe erfolgt entlang der Transplantatachse vom angrenzenden Knochengewebe aus bis in das Zentrum des Implantats (Burchardt H, 1983). Erst ganz zum Schluss wird der avitale Knochen des Transplantats abgebaut, und der Knochen erhält seine endgültige Struktur (Schenk R, 1991; Burchardt H, 1983). Bei dem transplantierten Knorpel-Knochen-Zylinder der OCT-Gruppe schienen die Aufbauprozesse des neuen Knochengüstes nach sechs Monaten noch nicht beendet zu sein. Über den Beobachtungszeitraum war die berechnete Knochenfläche nach drei und sechs Monaten signifikant größer als in der gesunden Kondyle und nach sechs Monaten nicht signifikant, aber doch größer als nach drei Monaten. Es lässt sich daraus schliessen, dass in dem beobachteten Zeitraum anscheinend nur Knochen aufgebaut, jedoch der transplantierte, avitale Knochen noch nicht ganz abgebaut wurde. Die gemessene Dichtezunahme scheint durch den aufgebauten neuen Geflechtknochen und den noch nicht abgebauten transplantierten Knochen entstanden zu sein. Über einen längeren Zeitraum würde die Knochendichte vermutlich abnehmen, da der abgestorbene Knochen entfernt werden würde.

Die Anzahl der Osteoklasten war im gefüllten Defekt im Defektbereich nach drei Monaten signifikant höher als nach sechs Monaten. Osteoklasten werden durch ausgesendete Signale von Osteoblasten, die damit beschäftigt sind, Grundsubstanz zu produzieren und sich in Osteozyten umwandeln, in die beschädigte Region berufen (Bonewald L, 2002). Außerdem produzieren die Osteoblasten den Macrophage Colony-Stimulating Factor (M-CSF) und bewirken durch diesen Faktor die Osteoklastogenese aus den Stammzellen

(Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil I et al., 2006). In all diesen Vorgängen könnte die hohe Anzahl an Osteoklasten im Defektbereich nach drei Monaten begründet sein. Nach sechs Monaten hat sich die Osteoklastenzahl verringert und hat sich der Osteoklastenzahl des nativen Gelenkes angenähert, was zusammen mit der noch hohen Knochendichte darauf hindeutet, dass die Abbauvorgänge des avitalen Knochens etwas langsamer ablaufen. In Abhängigkeit von der Transplantatgröße, vom Transplantattyp, sowie vom Lagergewebe können sich diese Vorgänge über Jahre hinziehen (Soost F, 2001).

Bei dem Setzen des Knorpel-Knochen-Defektes mit der Fräse wurden Zellen, Grundsubstanz und versorgende Blutgefäße zerstört. Durch die Transplantation und diese Zerstörung von Blutgefäßen sterben die Osteozyten in den Bereichen ab, in denen die Blutversorgung nicht mehr gegeben ist (Soost F, 2001) und senden weitere Signale an die Osteoklasten. Aber auch die Osteoblasten sterben größtenteils bis zur vollständigen Revaskularisierung des Transplantats ab (Axhausen W, 1962; Aebi M et al., 1989) und locken dadurch noch weitere Osteoklasten an (Bonewald L, 2002). Durch die Verletzung des Knochens mittels Fräsen und das damit entstandene Trauma des Knochen- und Knorpelgewebes wird eine Reihe von Ereignissen eingeleitet. Die sofortige Konsequenz bei verletztem Gewebe ist die Entzündung. Diese führt dazu, dass Entzündungszellen angelockt (Winet H, 1996) und Wachstumsfaktoren freigesetzt werden (Aspenberg P et al., 1996). Diese Wachstumsfaktoren stimulieren die Chemotaxis von Monozyten und diese wiederum produzieren Zytokine und weitere Wachstumsfaktoren, die mesenchymale Stammzellen anlocken und die Synthese von Kollagen und Matrixkomponenten und die Angiogenese regulieren (Cunningham N et al., 1992).

Eine Entzündungsreaktion konnte nach drei Monaten in der OCT- Gruppe nur sehr vereinzelt beobachtet werden, allerdings ist es möglich, dass die Entzündungsreaktion nur initial aufgetreten und nach Ablauf von drei Monaten schon wieder abgeklungen war. Zusätzlich werden laut Weiland und Mitarbeitern die transferierten Blutgefäße an das Blutgefäßsystem des Lagerknochens mittels Anastomosen angeschlossen (Weiland A et al., 1983). Erst die Vaskularisation ermöglicht den Antransport von Zellen und Nährstoffen, sowie den Abtransport von Stoffwechselprodukten und damit den Zellaustausch für den Knochenaufbau. Bei der OCT-Gruppe war die Anzahl der Gefäße nach drei und nach sechs Monaten Standzeit sehr gering und unterschied sich nicht signifikant. Vermutlich war die höchste Anzahl an Gefäßen in den ersten drei Monaten nach Setzen des Defektes vorhanden und wurde dann im Rahmen des remodeling wieder reduziert und hat sich nach drei Monaten der Gefäßanzahl in der nativen Kondyle angenähert. Das bedeutet, dass die Gefäßanzahl in den ersten drei Monaten nach Setzen des Defektes sehr verringert wurde. Die Knochenheilung in dieser Gruppe war deutlich fortgeschritten. Diverse Präparate wiesen immer noch verdichteten Knochen auf, aber teilweise schon mit zur Belastung ausgerichteter

Trabekelstruktur. Die Knochenneubildung konnte nur in Anwesenheit von Gefäßen stattfinden, da Osteoblasten ihre Tätigkeit nur in unmittelbarer Nachbarschaft zu Blutkapillaren erfüllen können (Schenk R, 1991).

Der Anteil an hyalinem Knorpel, gemessen an der positiven Kollagen II Färbung, war im gefüllten Defekt gleich dem nativen Knorpel. Das lässt sich durch die Übertragung des Knorpel-Knochen-Zylinders erklären, mit dem eine intakte Knorpelschicht transplantiert wurde. Nach drei und sechs Monaten hatte sich der Kollagen II Anteil nicht signifikant im Vergleich mit dem gesunden Knorpel verändert. In den überwiegenden Fällen ist es bei der OCT-Gruppe zu einer Spaltbildung zwischen dem transplantierten und dem umgebenden Knorpel gekommen. Auch diese Tatsache wurde schon beschrieben (Messner K, 1999). Keine Operationsmethode hat für dieses Problem eine Lösung gefunden und Spaltbildungen sind die Regel. Die Integration des transplantierten Knorpels wird durch negativ geladene Proteoglykane verhindert, die die Hauptfestsubstanz des Gelenkknorpels bilden und die die Anheftung von Zellen an seiner Oberfläche erschweren (Messner K, 1999).

Bei der Beurteilung in Score A erhielt der Knorpel-Knochen-Zylinder nach drei Monaten im Schnitt einen hohen Gesamtmedian, was für eine akzeptable Knorpelqualität im Defektbereich und im umgebenden Gewebe spricht. In der ganzen Gruppe konnte bis auf eine Ausnahme, bei der der Zylinder eingesunken war, der Knorpel bewertet werden. Nach sechs Monaten wurde in der Scorebeurteilung ein deutlich geringerer Gesamtmedian erzielt. Der transplantierte und der umgebende Knorpel hatten offensichtlich mit der Zeit unter der Transplantation gelitten. Die morphologische Beurteilung des transplantierten Knorpels ist deutlich schlechter ausgefallen als nach drei Monaten. Es fanden sich größere Kollagen II ungefärbte Bezirke im Knorpelbereich und sowohl im transplantierten als auch im umgebenden Knorpelgewebe zeigten sich deutliche Degenerationserscheinungen. Eine mögliche Begründung hierfür ist, dass es im Knorpelregenerat nach längeren Zeiträumen trotz Wiederherstellung der subchondralen Knochenlamelle vermehrt zu degenerativen Veränderungen kommt (Shapiro F et al., 1993; Wei X et al., 1997). Der Tod der Chondrozyten ist laut Calandruccio und Mitarbeitern auf das Trauma des Defektsetzens, die gestörte Versorgung der Zellen oder hemmende Faktoren in der Synovia bzw. dem Granulationsgewebe zurückzuführen (Calandruccio R et al., 1962). Auf das Trauma des Defektsetzens reagieren die Chondrozyten mit erhöhter metabolischer Aktivität. Dabei vermehren sie sich unkontrolliert und bilden die Chondrozytencluster (Brittberg M et al., 1996). Bei fortschreitender Degeneration setzen die untergehenden Chondrozyten dann Enzyme frei, die die Struktur der Matrix zerstören. Dadurch verliert die Grundsubstanz an mechanischer Stabilität. Durch die anhaltende Belastung auf den transplantierten Gelenkknorpel in dieser Studie, waren diese Vorgänge nach sechs Monaten deutlich fortgeschritten. Es wurde auch in anderen Studien beobachtet, dass bei anhaltender

mechanischer Belastung irreversible degenerative Prozesse im Gelenkknorpel auftreten. Durch den stetigen Untergang der Chondrozyten kommt es zur Freisetzung von weiteren Enzymen und es kommt zur Autodigestion des Knorpelgewebes (Peterson L, 1996).

In Score B dagegen gab es keinen Unterschied in der Punktzahl. Allerdings wurden in Score B sehr allgemeine Kriterien beurteilt und es wurde in keiner Weise auf die Knorpelqualität eingegangen. Die höchste Punktzahl konnte durch den Auffüllungsgrad erzielt werden. Dadurch erhielt die OCT-Gruppe sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten eine hohe Punktzahl.

### 5.2.2 Autologe Spongiosacluster

Makroskopisch und histologisch zeigten die Knorpelregenerate der SPC-Gruppe sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten schlechtere Ergebnisse bezüglich der Knorpelheilung als die OCT-Gruppe. Der Kollagen I Anteil unterschied sich nach drei und sechs Monaten nicht signifikant zwischen der nativen Kondyle und dem gefüllten Defekt. Dies resultierte aus der Tatsache, dass die gefüllten Defekte der SPC-Gruppe deutlich weniger aufgefüllt waren, dafür aber sehr dichten, sklerosierten Knochen mit verengten Lakunen enthielten.

Die autologen Spongiosacluster besitzen nicht den typischen Implantatcharakter. Sie besitzen weder die anatomische Form noch die mechanischen Eigenschaften, um den fehlenden Knochenanteil zu ersetzen. Von guten Implantaten wird erwartet, dass sie rasch von Gefäßen und Knochengewebe durchwachsen werden können und dass sie ein Leitgerüst für den einwachsenden Knochen darstellen (Schenk R, 1991). Diese Voraussetzungen konnten von den autologen Spongiosaclustern nur zum Teil erfüllt werden. Durch die Verdichtung der Spongiosacluster *intra operationem* schien die Transplantatstruktur so fest zu sein, dass vermutlich keine Einblutung in den Defekt stattfinden konnte und somit die Versorgung mit mesenchymalen Stammzellen unterblieb und das Knochengewebe nicht einwachsen konnte. Osteonähnliche Strukturen benötigen einen Porendurchmesser von mehr als 200 µm, entsprechend der natürlichen Knochenstruktur (Schenk R, 1991). Für bindegewebige Strukturen allerdings wären Durchmesser von 5-15 µm ausreichend (Soost F, 2001). Das viskoelastische Knochengewebe hat die Fähigkeit, sich nach Kompression wieder etwas auszudehnen. Dadurch entstehen Spalträume, die zumindest eine schnelle Gefäßeinsprossung möglich machen (Burri C et al., 1977). Bei der SPC-Gruppe hatten sich nach drei Monaten signifikant mehr Gefäße gebildet als bei der OCT-Gruppe. Über den Beobachtungszeitraum zeigte sich im Defektbereich nach sechs Monaten eine höhere Gefäßversorgung als nach drei Monaten. Es war noch kein signifikanter Unterschied, aber eine Tendenz erkennbar. Diese gesteigerte Angiogenese könnte durch die doppelte Menge an Wachstumsfaktoren begünstigt worden

sein, die aus der Grundsubstanz der beiden entnommenen Zylinder freigesetzt wurde und durch die initiale Entzündungsreaktion, die durch die Verletzung und durch die Zerstörung der Grundsubstanz ausgelöst wurde. Als Folge dieser Gefäßeinsprossung kommt es zu einem Knochenabbau durch Osteoklasten, einwandernde Makrophagen (Winet H, 1996; Kübler N, 1997) und Monozyten (Winet H, 1996). Die Angiogenese führt zusätzlich zu einem Aufbau von Osteonen durch Osteoblasten, die um die Gefäße herum das sogenannte Osteoid (Matrixgrundsubstanz) ablagern. Der Osteoblast liegt immer in direkter Nachbarschaft zu einem Gefäß mit dem Rücken zur Kapillare. Er gibt das Osteoid von der sekretionsfähigen Vorderseite ab. Es scheint so zu sein, dass die Anwesenheit eines Gefäßes Voraussetzung für die Osteogenese ist, während der Osteoblast letztere durch seine sekretorischen Fähigkeiten ausführt (Caplan A, 1990).

Die Osteoklastenzahl im Defektbereich und in den Randbereichen unterschied sich nicht signifikant zwischen drei und sechs Monaten, und zu beiden Standzeiten war die Osteoklastenzahl sehr hoch. Diese hohe Anzahl an Osteoklasten spricht für einen verstärkten Abbau und eine Resorption der eingebrachten Spongiosacluster. Zudem war der Defektbereich nach dem Auflösen der Kollagenmembran für die Synovia zugänglich. Dies konnte einerseits die Resorption der Spongiosacluster begünstigt haben und andererseits Entzündungszellen aus dem Defektbereich entfernt haben. Es wurden bei dieser Gruppe nur vereinzelt Entzündungsreaktionen im Transplantat beobachtet. Allerdings ist es auch möglich, dass die Entzündungsreaktion schon wieder abgeklungen war.

Der Anteil an hyalinem Knorpel, auch hier gemessen an der Kollagen II Färbung, war nach drei Monaten signifikant geringer als nach sechs Monaten und ebenfalls signifikant geringer als der Kollagen II Anteil in der gesunden Kondyle. Diese Tatsache lässt sich dadurch erklären, dass die Defekte in der SPC-Gruppe bis auf ein Präparat noch gar nicht weit genug aufgefüllt waren. Es war höchstens in den Randbereichen eine knöcherne Unterlage vorhanden, auf der sich Knorpel bilden konnte. Nach sechs Monaten hatte sich der Knorpelanteil dem des nativen Gelenks und der OCT-Gruppe angenähert. Es bestand kein signifikanter Unterschied mehr zwischen dem nativen Gelenk und dem gefüllten Defekt bezüglich des Kollagen II Anteils. Hinsichtlich der Knorpelqualität konnte nur das Knorpelregenerat nach sechs Monaten morphologisch beurteilt werden, da nach drei Monaten kaum ein Defekt weit genug in der Knorpelheilung fortgeschritten war und neu gebildeten Knorpel enthielt. Nach sechs Monaten wiesen der neu gebildete Knorpel und der Knorpel in der Umgebung des Defektes deutliche Degenerationserscheinungen auf. Der Anforderung, genügend mechanische Stabilität zu gewährleisten, damit sich hyaliner Knorpel bilden konnte, wurden die Spongiosacluster nicht gerecht. In einer Studie von van Dyk (van Dyk G et al., 1998) wurde an Hunden eine sehr ähnliche Studie vorgenommen. Es wurden spongiosagefüllte Defekte mit leer belassenen Defekten verglichen. Allerdings befanden sich

die Defekte in jener Studie nicht im lastentragenden Bereich, waren im Durchmesser etwas größer als in dieser Studie und wurden nicht mit einer Kollagenmembran abgedeckt. Die Ergebnisse der besagten Studie zeigten, dass die Defekte mit der eingesetzten, verdichteten Spongiosa nach acht Wochen eine faserknorpelige Gelenkoberfläche aufwiesen. Die abweichenden Ergebnisse können in der unterschiedlichen Defektgröße, -lokalisierung und im anderen Regenerationsverhalten der verschiedenen Tierart begründet sein.

In diesem Projekt ließ sich bei der SPC-Gruppe nach drei und nach sechs Monaten der Knorpelregeneration eine Abhängigkeit zwischen knöchernem Ersatz der subchondralen Knochenlamelle und Eigenschaften des Knorpelregenerates erkennen. Denn nur in den wenigsten Fällen war die subchondrale Knochenlamelle vollständig wieder hergestellt und der geringe neu gebildete Knorpel wies deutliche Degenerationserscheinungen auf.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass nach einem Zeitraum von drei bzw. sechs Monaten die angestrebte Rekonstruktion der subchondralen Lamelle in den wenigsten Fällen erreicht war. In den zentralen Bereichen des ursprünglichen Defektes war die subchondrale Lamelle oft unterbrochen. Die erwartete mechanische Stabilität, die das Implantat bis zur knöchernen Durchbauung erfüllen sollte, konnte von den Spongiosaclustern nicht gegeben werden.

### **5.2.3 Leerdefekte**

Die Ergebnisse dieser Studie bestätigten die Ergebnisse vorangegangener Studien, dass nicht aufgefüllte osteochondrale Defekte dieser Größe ein sehr schlechtes Regenerationsverhalten zeigen (Convery F et al., 1972; Jackson D et al., 2001). Bis auf wenige Ausnahmen konnte bei den Präparaten mit den Leerlochbohrungen zu beiden Zeitpunkten der Defekt vom Lagergewebe deutlich abgegrenzt werden. Es wird in der Literatur beschrieben, dass Leerlochbohrungen mit einem Durchmesser von 6-7 mm im Tierversuch nicht spontan in dem beschriebenen Zeitraum ausgeheilt waren (Shahgaldi B et al., 1991; Convery F et al., 1972), während die von Wakitani kreierten Defekte mit einem Durchmesser von 3 mm dagegen schon nach zwei Wochen mit Knochen gefüllt waren (Wakitani S et al., 1994). Dieser Unterschied in der Regenerattheilung könnte in der anderen Tierart, und der dadurch anderen Regenerationsgeschwindigkeit und in der wesentlich kleineren Defektgröße begründet sein.

Wenn aber solch große Defekte unversorgt bleiben, kommt es zum Kollabieren des Defektes und zum Abflachen der Kondyle (Convery F et al., 1972; Jackson D et al., 2001). Erst durch die Implantation von geeigneten Materialien ist es möglich, Defekte kritischer Größe zu einer Verknöcherung zu bringen, die ansonsten keine spontane Heilung zeigen würden (Kübler N, 2002).

Der Heilungsverlauf der Leerdefekte beider Gruppen entsprach dem in der Literatur schon beschriebenen Regenerationsverhalten von Knorpel-Knochen-Defekten. Wie von einigen Untersuchern beobachtet, geht bei unversorgten Defekten die Heilung vom Boden des Defektes aus in Richtung Defektoberfläche (Calandruccio R et al., 1962; DePalma A et al., 1966; Convery F et al., 1972; Dustmann H et al., 1976; Mankin H, 1982; Shapiro F et al., 1993; Wakitani S et al., 1994; Mankin H, 1982; Nakajima H et al., 1998; Messner K, 1999). Diese Tatsache ließ sich auch in diesem Projekt bestätigen. Die Knochenneubildung bei den Leerdefekten schien tatsächlich in den meisten Fällen vom Defektgrund auszugehen. In der Tiefe der Defekte differenzierten sich die Knochenmarkszellen zu aktiven Osteoblasten, die Geflechtknochen synthetisierten (Shapiro F et al., 1993) und nahe der Gelenkfläche zu Chondroblasten (Messner K, 1999). Es wird auch in der Literatur beschrieben, dass sich an der Basis des Defektes sehr schnell neuer Knochen formiert und in Richtung Gelenkoberfläche drängt. Erstaunlich war dabei, dass bei den wenigen aufgefüllten Defekten der neue Knochen nur den Defekt bis zur Knorpel-Knochen-Grenze ausfüllte und am Übergang zwischen subchondraler Knochenplatte und kalzifiziertem Knorpel aufhörte. Diese Tatsache wurde auch in anderen Studien beobachtet (Mankin H, 1982). Man kann vermuten, dass diese Begrenzung genetisch festgelegt ist. Zusätzlich ist es möglich, dass die Synovia eine hemmende Wirkung auf den wachsenden Knochen ausübt und so verhindert, dass der Knochen über die subchondrale Lamelle hinauswächst. Es wurde beschrieben, dass der umgebende Gelenknorpel negativ geladene Proteoglykane besitzt und dadurch die Anheftung von Zellen an ihrer Oberfläche erschwert (Lewandowska K et al., 1987). Zwischen den Knorpelrändern ist dadurch kein Zusammenwachsen mit an der Seite befindlichen Knochen oder Knorpel möglich. Aus diesem Grund kam es in einigen Fällen auch zu einer Spaltbildung zwischen dem neuen und dem alten Knorpel (Lewandowska K et al., 1987). Der Defekt im Knorpelbereich füllt sich mit vaskularisiertem, fibrösem Gewebe, welches die Wundränder locker miteinander verbindet und in enger Verbindung mit dem unterliegenden Gewebe steht (Calandruccio R et al., 1962; DePalma A et al., 1966; Convery F et al., 1972). Bei solch großen Defekten im Knorpel-Knochenbereich tritt eine Besonderheit auf, die als „Cartilage flow-Phänomen“ bezeichnet wird. Durch den mechanischen Druck, der vom Gelenk auf die Ränder des angrenzenden Knorpels ausgeübt wird, kommt es zu einem Fließen des Knorpels in den Defekt (Calandruccio R et al., 1962; Ghadially J et al., 1975). Dieses Phänomen konnte auch in dieser Studie bestätigt werden. Bei einigen Defekten beugte sich der Knorpel in den Defektbereich und bei anderen war der ganze Defekt mit einer Knorpelschicht ausgekleidet. In dieser Studie wurde hauptsächlich bei den Leerdefekten positiv angefärbtes Knorpelgewebe in tieferliegenden Knochenbereichen beobachtet. Sowohl bei der OCT-Gruppe als auch bei der SPC-Gruppe wurde nur geringfügig Knorpel im knöchernen Defektbereich gefunden werden. Dieses Vorkommen von

Knorpel in tieferliegenden Knochenbereichen spricht für eine mechanische Unruhe im Implantatbett. Durch diese mangelnde Stabilität im Defektbereich kommt es zur enchondralen Ossifikation. Die mesenchymalen Stammzellen differenzieren sich zuerst in Knorpelzellen, bevor sie sich zu Knochenzellen umwandeln (Caplan A, 1990).

Die Oberfläche der Leerdefekte zeigte nach dem Beobachtungszeitraum in fast allen Fällen noch eine Einsenkung. In den defektnahen Knorpelbereichen ließen sich hochgradige degenerative Veränderungen mit schwindenden Chondrozyten, Zellverlust und großen Clusterbildungen sowie Proteoglykanverlust erkennen. Mögliche Erklärungen für den Tod der Chondrozyten wären das Trauma des Defektsetzens, die gestörte Versorgung der Zellen oder hemmende Faktoren in der Synovia bzw. dem Granulationsgewebe (Calandruccio R et al., 1962).

Bezüglich der subchondralen Knochenplatte konnte in dieser Studie nur in einem Fall eine Wiederherstellung beobachtet werden, aber trotz dieser Wiederherstellung wies der neugebildete Knorpel starke Degenerationserscheinungen wie Hypozellularität, Proteoglykanverlust und viele Chondrozytencluster auf.

#### **5.2.4 Vergleich der Operationstechniken und der Leerdefekte in dieser Studie**

Beim Vergleich der beiden Behandlungsmethoden und der Leerdefekte erbrachte die OCT-Gruppe nach drei Monaten in Bezug auf die Knorpelqualität die besten Ergebnisse. Sowohl histologisch als auch immunhistologisch zeigte die OCT-Gruppe bessere Einheilungsergebnisse als die SPC-Gruppe und die Leerdefekte. Auch bei der Scorebeurteilung in beiden Scores waren sie den Knorpelregeneraten der SPC-Gruppe und den Leerdefekten überlegen.

Nach sechs Monaten erreichte die OCT-Gruppe histologisch und immunhistologisch immer noch die besten Ergebnisse, war in der morphologischen Scorebeurteilung jedoch den Ergebnissen der Leerdefekte unterlegen. Es waren deutlich degenerative Anzeichen im transplantierten und im angrenzenden Knorpel vorhanden. Es zeigte sich in dieser Studie, dass es möglich war, hyalinen Knorpel zu transplantieren, es aber sehr schwierig war, ihn zu erhalten. Zudem war es nicht möglich, mit der Operationstechnik der Spongiosacluster und der Leerdefekte die Bildung eines hyalinartigen Knorpelregenerates zu erreichen.

#### **5.3 Schlussfolgerung**

Die Untersuchung hat ergeben, dass die subchondrale Lamelle für die Einheilung und Belastungsfähigkeit von osteochondralen Defekten von wesentlicher Bedeutung ist. Die mechanische Stabilität des subchondralen Knochens gestattet eine funktionelle Belastung des Knorpels und fördert somit durch Synovia und wechselnde Druckbelastungen die

Ernährung und den Metabolismus des hyalinen Knorpels. Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass trotz erster Anzeichen von Degeneration die Gruppe mit der Operationsmethode des autologen, osteochondralen Transfers, der der Spongiosacluster und der Leerdefekte überlegen war. Es kann also transplantiertes hyalines Knorpel erhalten bleiben, wenn die Basis knöchern durchbaut ist. Nachteilig bei der OCT-Gruppe ist allerdings die limitierte Verfügbarkeit der Spenderzylinder. Die Operationstechnik des autologen, osteochondralen Transfers ist bei kleinen und mittelgroßen Defekten eine sehr erfolgreiche Operationsmethode. Allerdings verläuft die Einheilung dieser Transplantate meist so gut, dass keine weiteren Operationen durchgeführt werden müssen und damit der weitere Verbleib der Knochen-Knorpelzylinder nicht weiter überprüft werden kann (Störig E, 1972).

Eine fast vollständig fehlende Rekonstruktion der subchondralen Knochenplatte, wie es bei den Leerdefekten und SPC-Gruppe beobachtet wurde, führte zu den schlechtesten Heilungsergebnissen.

Diese Studie bestätigt die Ergebnisse von Radin und Rose (Radin E et al., 1986), dass die biomechanisch belastbare subchondrale Knochenlamelle die Voraussetzung für die Regeneration bzw. die Erhaltung von funktionsfähigem hyalinen Knorpel ist. Es konnte bestätigt werden, dass trotz beginnender Degenerationsprozesse die OCT-Gruppe die besten Ergebnisse erzielt hat. Eine der bedeutendsten Funktionen des Gelenkknorpels ist die Lastverteilung. Diese setzt aber eine gewisse Steifigkeit des Gewebes unter Belastung voraus. Der Idealfall wäre, dass das Regenerat dieselbe Steifigkeit erreicht wie das umgebende Knorpelgewebe, um die Belastung gleichmäßig zu verteilen (Lewandowska K et al., 1987). Keine Therapiemethode hat dieses bis jetzt erreichen können.