

Aus dem
Centrum für muskuloskeletale Chirurgie
Charité- Universitätsmedizin Berlin

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

**Histologische und histomorphometrische Untersuchung zur Regeneration
osteochondraler Defekte im Kniegelenk zu ausgewählten Zeitpunkten:
Vergleich zwischen autologem osteochondralen Transfer, autologer Spongiosa
und unbehandelten Defekten.
Eine Studie im Schafmodell.**

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

vorgelegt von
Christiane Bose
Tierärztin aus Wuppertal

Berlin 2008
Journal-Nr.: 3199

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. Duda
Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. vet. H. Tönhardt

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

animal models, autologous (MeSH), cartilage, sheep, joints animal,
osteoarthritis, transplantation, regeneration, histology, morphometrics

Tag der Promotion: 17.07.2008

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: 978-3-86664-471-7

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2008

Dissertation, Freie Universität Berlin

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

© mbv 2008

Nordendstr. 75 - 13156 Berlin – 030-45494866

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

den Schafen

Inhalt:

1. Einleitung.....	7
2. Stand des Wissens	9
2.1 Zusammensetzung artikulären Knorpels.....	9
2.2 Struktur artikulären Knorpels	12
2.3 Interaktion zwischen Chondrozyten und Matrix.....	13
2.4 Defektheilung	14
2.5 Versorgung osteochondraler Defekte	16
2.6 Messung der Bodenreaktionskräfte	18
2.7 Tiermodell.....	18
3. Material und Methoden	19
3.1 Tiere und Tierhaltung	19
3.2 Operationsvorbereitungen	20
3.3 Operation.....	21
3.4 Postoperative Versorgung	24
3.5 Messung der Bodenreaktionskräfte	24
3.6 Tötung und Sektion	25
3.7 Sägen und Fixierung	26
3.8 Dehydrierung	27
3.9 Einbetten	27
3.10 Anfertigung von Schnitten	27
3.11 Färben der Schnitte	28
3.12 Fotografieren der Schnitte	29
3.13 Bildanalyse.....	29
3.14 Scoren der Defekte	31
3.15 Datenauswertung/ Statistische Methoden	33

4. Ergebnisse	34
4.1 Messung der Bodenreaktionskräfte	34
4.2 Histologie und Histomorphometrie	37
4.3 Scoren der Defekte	50
5. Diskussion	58
5.1 Diskussion der Methoden	58
5.1.1 Tiermodell.....	59
5.1.2 Operation und postoperativer Beobachtungszeitraum	59
5.1.3 Aufarbeitung der Proben	60
5.1.4 Messung der Bodenreaktionskräfte	60
5.1.5 Histologie und Histomorphometrie.....	61
5.1.6 Scoren der Defekte.....	62
5.2 Diskussion der Ergebnisse	63
5.2.1 Osteochondraler Transfer.....	63
5.2.2 Autologe Spongiosacluster	65
5.2.3 Leerdefekte	66
5.2.4 Vergleich der Operationstechniken und der Leerdefekte in dieser Studie....	67
5.3 Schlussfolgerung.....	71
6. Zusammenfassung	72
7. Summary	73
8. Anhang	74
9. Literaturverzeichnis	82
10. Danksagung	97
11. Selbständigkeitserklärung	98

Liste der verwendeten Abkürzungen:

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
d	Tag/e
d.h.	das heißt
CO ₂	Kohlendioxid
h	Stunde
hl	hinten links
hr	hinten rechts
kg	Kilogramm
l	Liter
LD	Leerdeft
max.	maximal
MEA	2-Methoxyethylacetat
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
µm	Mikrometer
NaCl	Natriumchlorid
OCT	Osteochondraler Tansfer
o.g.	oben genannte
PräOP	Präoperative Messung
ROI	Region of interest
s.	siehe
SC	Spongiosacluster
Tab.	Tabelle
v.a.	vor allem
Vol%	Volumenprozent
%	Prozent

1. Einleitung

Gesunder hyaliner Gelenkknorpel und Synovia sind für eine reibungsarme und schmerzfreie Funktion der Gelenke unerlässlich. Der Knorpel erfüllt verschiedene Aufgaben im Gelenk. Zum Einen verteilt er die im Gelenk auftretenden Druckbelastungen, zum Anderen hat er Stoßdämpferfunktion und mindert auftretende Scherkräfte (Marlovits und Véscei, 2000b). Die normale Gelenkfunktion ist ohne intakten Gelenkknorpel nicht möglich. Rund 100.000 sportbedingte Kreuzband- und 300.000 Meniskusverletzungen führen jedes Jahr in Deutschland unter anderem zu Schäden am Gelenkknorpel des Kniegelenks (www.bio-pro.de/de/region/freiburg/meldungen/00623). Hinzu kommen mindestens fünf Millionen Menschen, die an Arthrose leiden (www.genzyme.de/thera/ortho/de_p_tp_thera-orthoinfo.asp). Laut statistischem Bundesamt gehört die Kniegelenksarthrose in der Reha-Diagnosestatistik zu den drei häufigst gestellten Diagnosen (www.destatis.de/presse/deutsch/pm2005/p2800094.htm (Stand 2003)). Der Verschleiß von Gelenken hat sich zu einer Volkskrankheit entwickelt. Oftmals ist Arthrose eine altersbedingte Erkrankung (Buckwalter und Mankin, 1998a; Ulrich-Vinther et al., 2003), aber mangelnde Bewegung, Übergewicht oder Fehl- und Überbelastung der Gelenke sowie genetisch bedingte, entzündliche und degenerative Ursachen (Lyyra et al., 1999) führen dazu, dass auch immer häufiger junge Menschen über Schmerzen in den Gelenken klagen. Schmerzhaftigkeit und eine verminderte Beweglichkeit führen oft zur Schonung des Gelenkes. Dies führt wiederum zu Muskelatrophie, reduzierter Bewegung und somit verminderter Ernährung des Gelenkes und auf lange Sicht zur weiteren Degeneration. Diese Sekundärveränderungen tragen oft zu der mit Osteoarthrose in Verbindung stehenden Steifheit und Schwäche bei (Buckwalter und Mankin, 1998a). Knorpelverletzungen am Kniegelenk stellen grundsätzlich schwer zu behandelnde Präarthrosen dar (Martinek und Imhof, 2003).

Das artikuläre Knorpelgewebe besteht aus einer einzigartigen Zellpopulation, den Chondrozyten, die in ein dreidimensionales Netzwerk hochorganisierter Matrix eingebettet sind. Der feingewebliche Aufbau ermöglicht die einmaligen mechanischen Eigenschaften dieses Gewebes. Die herausragende Eigenschaft artikulären Knorpels ist seine große Beständigkeit, die von keinem Material erreicht wird und bei den meisten Menschen eine lebenslange normale Gelenkfunktion ermöglicht (Buckwalter, 1983; Martinek, 2003; Mow et al., 1984; Roughley und Lee, 1994). Gelenkknorpel im adulten Organismus ist nicht innerviert, alymphatisch und avaskulär, was die Heilung von Knorpeldefekten erheblich erschwert (Buckwalter, 1983; Buckwalter und Mankin, 1998a; Buckwalter und Mankin, 1998b). Schon im Jahre 1743 erkannte Hunter (Hunter, 1995), dass sich zerstörter Knorpel nicht regenerieren kann. Es ist also wichtig, Knorpelläsionen frühzeitig zu behandeln und eine möglichst schnelle Wiederherstellung der Gelenkflächen anzustreben.

Neben konservativen Therapien werden verschiedene chirurgische Behandlungsmethoden derzeit in der Praxis eingesetzt. Durch Lavage, Débridement, Shaving und Abrasionsarthroplastik werden lose Knorpelfragmente entfernt und das Gelenk von Zelldetritus und Entzündungsmediatoren freigespült. Einige Methoden zielen darauf ab, durch Eröffnung des subchondralen Knochens Anschluss an das Gefäßsystem und die Markhöhle zu schaffen (Friedman et al., 1984), wie zum Beispiel die Mikrofrakturierung oder die Pridie-Bohrung. Andere Techniken stellen die Gelenkoberfläche durch Transplantate wieder her. Derzeit eingesetzte Techniken sind z.B. Transplantationen von autologen oder allogenen Knorpel-Knochen Zylindern, die aus weniger belasteten Gelenkbereichen entnommen werden, autologe Spongiosa, autologe Chondrozytenimplantation oder dreidimensionale Scaffolds aus synthetischen, resorbierbaren Materialien wie Polyaktid oder Polyglykolid (Marlovits und Véscei, 2000a). Alle diese Behandlungsmethoden bieten mittelfristig Schmerzlinderung und Verbesserung der Beweglichkeit des betroffenen Gelenkes. Das gebildete Ersatzgewebe ist jedoch oft von minderer Qualität und kann den im Gelenk auftretenden Belastungen nur unzureichend standhalten (Buckwalter und Mankin, 1998b; Ulrich-Vinther et al., 2003), so dass Folgeoperationen nach ca. 10 bis 15 Jahren zu erwarten sind. In der vorliegenden Arbeit sollen zwei ausgewählte chirurgische Auffüllungsmethoden von osteochondralen Defekten nach unterschiedlichen Standzeiten auf

wesentliche Kriterien für einen guten Gelenkknorpelersatz untersucht werden. Dazu gehören z.B. die Auffüllung des Defektes, die Integration des Implantats im umliegenden Gewebe, die Wiederherstellung und Aufrechterhaltung der Gelenkoberfläche und die Beschaffenheit des gebildeten Regeneratgewebes sowie die Belastung der operierten Gliedmaße.

Hypothesen der vorliegenden Arbeit sind:

- Die Operationstechnik des osteochondralen Transfers führt zur besseren Transplantatintegration und Wiederherstellung der Gelenkoberfläche und damit zur besseren Belastung der Gliedmaße als die Spongiosacluster-Technik.
- Es gibt keinen Unterschied in Hinsicht auf die Regeneration eines unversorgten Kontrolldefektes zwischen den Gruppen OCT und SC.
- Die Heilungsergebnisse, sowohl der gefüllten als auch der ungefüllten Defekte, sind nach einer Standzeit von 24 Wochen besser als nach einer Standzeit von zwölf Wochen.

Ziele der vorliegenden Arbeit sind:

- Der exemplarische Vergleich der Regeneration mit unterschiedlichen Füllungen versorgter osteochondraler Defekte nach unterschiedlichen Standzeiten mittels Histomorphometrie und deskriptiver Histologie.
- Die Bewertung der Transplantateinheilung und Gewebequalität in allen Versuchsgruppen mit einem semiquantitativen Scoresystem zur Beurteilung osteochondraler Defekte.
- Der Vergleich des Einflusses der unterschiedlichen Defektfüllungen auf die Belastung der Gliedmaßen über die Zeit durch Messung der Bodenreaktionskräfte.

2. Stand des Wissens

2.1 Zusammensetzung artikulären Knorpels

Hyaliner Gelenkknorpel ist ein avaskuläres, alymphatisches und nicht innerviertes Gewebe (Buckwalter, 1983), das auf Ernährung und Abtransport von Metaboliten durch Diffusion angewiesen ist. Gelenkknorpel erscheint unter dem Lichtmikroskop klar und durchsichtig (Buckwalter et al., 1988). Diesem Erscheinungsbild verdankt der hyaline Knorpel seinen Namen (*gr.: hyalos: Glas*). Knorpelgewebe besteht aus Zellen, den Chondrozyten, die in eine extrazelluläre Matrix aus Kollagenen, Proteoglykanen, nicht kollagenen Proteinen und Wasser eingebettet sind (Muir et al., 1970). Die Zelldichte ist im Vergleich zu anderen Geweben relativ gering, so machen die Chondrozyten nur etwa 2-5% des Gesamtknorpelvolumens aus (Roughley und Lee, 1994).

Chondrozyten

Im Gelenkknorpel findet sich nur ein Zelltyp, der Chondrozyt (Buckwalter und Mankin, 1998b; Burkhart und Imhof, 1999). Chondrozyten synthetisieren sowohl neue Matrixkomponenten (Marlovits und Véscei, 2000a; Roughley und Lee, 1994) als auch Enzyme, die diese abbauen (Buckwalter und Mankin, 1998b). Die metabolische Rate der Chondrozyten und ihre Fähigkeit, auf verschiedene Einflüsse zu reagieren, sind altersabhängig (Buckwalter und Mankin, 1998b; Marlovits und Véscei, 2000a). Im juvenilen Organismus proliferieren Chondrozyten schnell, teilen sich häufig und zeigen eine hohe Matrixsyntheseleistung (Buckwalter und Mankin, 1998b). Nach Erreichen der Skelettreife nimmt die Anzahl der Zellteilungen ab, und nach Abschluss des Skelettwachstums teilen sich die meisten Chondrozyten nicht mehr (Buckwalter et al., 1988). Die metabolische Aktivität wird verringert, aber die Chondrozyten sind immer noch in der Lage, Matrixkomponenten zu synthetisieren bzw. abzubauen (Buckwalter et al., 1988; Buckwalter und Mankin, 1998b; Martin und Buckwalter, 1996). Die Zellen liegen verteilt im Gewebe (Stockwell, 1967) und bilden keine direkten Kontakte zueinander (Buckwalter, 1983). Chondrozyten sind in der Lage, Veränderungen der Zusammensetzung der Makromoleküle und der Organisation der Matrix zu erkennen und als Antwort darauf entsprechende Typen und Mengen an neuen Molekülen zu synthetisieren (Breinan et al., 2001; Buckwalter und Mankin, 1998b; Hunziker, 2002; Martin und Buckwalter, 1996; Peterson, 1996). Die geringe Zelldichte und Syntheseleistung im adulten Gelenkknorpel limitieren vermutlich die Fähigkeit der Chondrozyten, auf Veränderungen in der Matrix zu reagieren (Buckwalter et al., 1988). Die typischen Eigenschaften des Knorpelgewebes werden zwar hauptsächlich durch die extrazelluläre Matrix bestimmt, die Produktion und Zusammensetzung der Matrix hängt aber von den Chondrozyten ab (Buckwalter et al., 1988).

Extrazelluläre Matrix

Die extrazelluläre Matrix des Knorpelgewebes besteht aus zwei wesentlichen Komponenten, einem Netzwerk aus kompliziert strukturierten Makromolekülen und Gewebeflüssigkeit (Buckwalter, 1983), deren Zusammenspiel die gewebetypischen mechanischen Eigenschaften erzeugt (Buckwalter et al., 1988; Ekman und Heinegard, 1992; Martin und Buckwalter, 1996; Martinek, 2003).

Makromoleküle

Die Makromoleküle in der Matrix wie Kollagene, Proteoglykane und Glykoproteine verleihen dem Knorpel seine einzigartigen Eigenschaften (Buckwalter, 1998; Buckwalter et al., 1988). Chondrozyten sind in der Lage, jedes dieser Makromoleküle aus Zuckern und Aminosäuren zu synthetisieren. Die Makromoleküle lassen sich in fibrilläre und nicht fibrilläre Moleküle unterscheiden. Die fibrilläre Komponente wird von den Kollagenen gebildet (Buckwalter, 1983). In den meisten Gelenken machen Kollagene etwa 50%, Proteoglykane 30-35%, nicht kollagene Proteine und Glykoproteine etwa 15-20% der Trockenmasse des Knorpels aus

(Marlovits und Véscei, 2000a). Die Kollagene bilden ein fibrilläres Maschenwerk, das dem Knorpel seine Form und Festigkeit verleiht (Buckwalter et al., 1988). Proteoglykane und nicht kollagene Proteine komplettieren das Netzwerk, indem sie an das Kollagenmaschenwerk binden oder von ihm mechanisch eingeschlossen werden. Proteoglykane haben ein hohes Wasserbindungsvermögen. Das Wasser liegt entweder gebunden oder frei in der extrazellulären Matrix vor und kann gelöste Nährstoffe und Stoffwechselprodukte transportieren (Buckwalter et al., 1988).

Kollagene

Kollagene bilden den Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix. Sie bilden eine Rahmenkonstruktion, die dem Knorpel seine Struktur und Festigkeit verleiht (Buckwalter, 1998; Gross, 1961; Harris et al., 1972) und machen dabei etwa 50% des Trockengewichtes hyalinen Knorpels aus (Buckwalter, 1983).

Kollagen Typ II ist das vorherrschende Kollagen im hyalinen Knorpel. Es macht etwa 90-95% des Gesamtkollagens aus (Marlovits und Véscei, 2000a). Kollagen Typ II bildet ein stark verzweigtes Netzwerk aus Kollagenfibrillen (Ulrich-Vinther et al., 2003), das große Zugfestigkeit gewährleistet und Proteoglykane einschließt (Aydelotte et al., 1988). Nach Abschluss des Skelettwachstums sinkt die Syntheserate von Kollagen II stark ab (Eyre, 2002). Sie kann aber bei Verletzungen des Netzwerks innerhalb von 14 Tagen bis auf das 10 - fache beschleunigt werden (Eyre et al., 1980).

Kollagen Typ VI ist ubiquitärer Matrixbestandteil in den meisten Geweben. Im Gelenkknorpel macht es $\leq 1\%$ des Gesamtkollagens aus. Es ist vorwiegend in Faserknorpel wie den Menisken oder Bandscheiben zu finden (Eyre, 2002).

Kollagen Typ IX und XI sind mitverantwortlich für den Aufbau der Kollagenfibrillen und ihre Verankerung mit umliegenden Makromolekülen. Diese beiden Kollagentypen sind zu etwa gleichen Teilen vertreten und machen um 9-10% des Kollagengehalts im Gelenkknorpel aus (Ulrich-Vinther et al., 2003). Kollagen Typ IX ist ein kurzes fibrilläres Kollagen mit Proteoglykananteil (Ulrich-Vinther et al., 2003) und bildet Querverknüpfungen mit Kollagen II und XI. Es kann kovalente Bindungen mit Kollagen II-Fibrillen eingehen und steigert so vermutlich die Integrität des Gewebes (Buckwalter et al., 1988; Buckwalter und Mankin, 1998b). Außerdem verleiht es dem Kollagenetzwerk erhöhte mechanische Integrität gegen den osmotischen Schwellungsdruck der eingeschlossenen Proteoglykane (Eyre, 2002; Roughley und Lee, 1994). Kollagen Typ IX findet sich auch in der Lamina splendens zwischen Kollagen Typ II-Bündeln, was der Superfizialschicht erhöhte Stabilität gegenüber Scherkräften verleiht (Alford und Cole, 2005a).

Kollagen Typ X wird neben den Zellen der Zone des mineralisierten Knorpels und in der Wachstumsfuge gefunden. Diese Lokalisation lässt vermuten, dass dieser Kollagentyp bei der Mineralisation des Knorpels eine Rolle spielt (Marlovits und Véscei, 2000a).

Obwohl Kollagen Typ XI ebenfalls Fibrillen bildet, scheint seine Hauptaufgabe darin zu liegen, den Fibrillendurchmesser von Kollagen Typ II durch Bildung von Copolymeren zu regulieren (Eyre, 2002).

Proteoglykane

Proteoglykane bilden das Kolloid, in das die Kollagenfibrillen eingebettet sind (Hedborn und Heinegard, 1993) und sind aus zahlreichen Proteoglykanuntereinheiten aufgebaut. Proteoglykanuntereinheiten enthalten einen Proteinkern, von dem unverzweigte sulfatierte Polysaccharidketten, die Glukosaminoglykane wie Chondroitinsulfat und Keratansulfat, ausgehen (Buckwalter und Rosenberg, 1982). Proteoglykane bestehen zu 95% aus Glukosaminoglykanen und zu 5% aus Protein (Buckwalter, 1983; Buckwalter et al., 1988).

Artikuläres Knorpelgewebe enthält zwei Hauptklassen von Proteoglykanen, einerseits große aggregierende Proteoglykane wie Aggrekan und Hyaluronsäure, andererseits große und kleine nicht aggregierende Proteoglykane (Buckwalter et al., 1988; Roughley und Lee, 1994). Aggrekan hat einen Anteil von fast 90% an der gesamten Knorpelmatrix und füllt fast den gesamten interfibrillären Raum aus (Buckwalter et al., 1988; Martinek, 2003). Es enthält einen Proteinkern, dessen N-terminales Ende eine Sequenz mit hoher Affinität zu

Hyaluronsäure und „link protein“, einem kurzen Verbindungsprotein, enthält. Mit diesen bildet Aggrecan große Aggregate (Buckwalter und Rosenberg, 1982; Martinek, 2003; Ulrich-Vinther et al., 2003).

Des Weiteren enthält der Proteinkern noch eine Keratansulfat-reiche Region und eine Chondroitinsulfat-reiche Region (Hascall und Sajdera, 1970; Heinegard, 1977; Heinegard und Axelsson, 1977). Jedes Aggrecanmolekül enthält über hundert Chondroitinsulfat- und Keratansulfatketten, die jedem Aggrecanmolekül eine starke negative Ladung geben (Ulrich-Vinther et al., 2003) und damit große Mengen an Kationen und Wasser binden können (Buckwalter et al., 1988; Roughley und Lee, 1994). Es entsteht ein beträchtlicher Quellungsdruck, der für die Abfederung der auf den Knorpel einwirkenden Druckkräfte verantwortlich ist (Marlovits und Véscei, 2000a).

Proteoglykane im hyalinen Knorpelgewebe werden durch das kollagene Netzwerk an der vollständigen Ausbreitung ihres Quellungsvermögens gehindert und sind nur teilweise hydratiert. Das große Wasserbindungsvermögen verleiht dem Knorpel neben einem hohen Gewebeinnendruck einen enormen Kompressionswiderstand (Hagg et al., 1998; Marlovits und Véscei, 2000a; Ulrich-Vinther et al., 2003).

Kleine, nicht aggregierende Proteoglykane gehen Bindungen mit anderen Molekülen, wie zum Beispiel Kollagen Typ I und II, ein und stabilisieren so das Maschenwerk (Hagg et al., 1998; Hedbom und Heinegard, 1993; Roughley und Lee, 1994).

Experimentelle Studien zeigen, dass eine Immobilisierung bzw. eine abnorme Abnahme der Gelenkbelastung die Konzentration der Proteoglykane und das Ausmaß ihrer Aggregation verändert und es somit auch zur Veränderung der mechanischen Eigenschaften des Knorpelgewebes kommt. Wenn das Kollagennetzwerk beschädigt ist, schwellen die Proteoglykane und der Wassergehalt steigt (Buckwalter et al., 1988; Mankin und Lippiello, 1971). So gehören der Verlust der größeren Aggregate und der Verlust der Integrität der Kollagenmatrix zu den frühesten Veränderungen im Zusammenhang mit Osteoarthritis und Immobilisierung eines Gelenkes (Buckwalter et al., 1988; Mankin, 1974b; Ulrich-Vinther et al., 2003).

Gewebeflüssigkeit

Etwa 60-80% des Knorpelvolumens bestehen aus Wasser, das entweder gebunden oder frei beweglich in der extrazellulären Matrix vorliegt (Linn und Sokoloff, 1965; Mankin, 1974a; Schachar et al., 1999). Da Knorpelgewebe avaskulär und alymphatisch ist, sind die Chondrozyten auf Ernährung und Abtransport von Metaboliten durch Diffusion angewiesen. Die Gewebeflüssigkeit hat zum einen eine ernährende Funktion, zum anderen verleiht die starke Hydratisierung des Gewebes Widerstandsfähigkeit gegen Druckbelastungen (Buckwalter et al., 1988).

Da die Gewebeflüssigkeit nicht durch Zellmembranen oder extrazelluläre Membranen eingeschlossen wird, hängt ihr Verhalten und Volumen von der Interaktion mit Matrixmakromolekülen ab. Wenn diese Makromoleküle das Wasser nicht im Gewebe halten könnten, würde der Knorpel seine Widerstandskraft gegen Kompression, Reibung und seine Elastizität einbüßen (Buckwalter, 1983). Die Gewebeflüssigkeit enthält Gase, kleine Proteine, Metaboliten und eine hohe Kationenkonzentration, um die starke negative Ladung auszugleichen (Buckwalter und Mankin, 1998b; Linn und Sokoloff, 1965). Aufgrund der starken negativen Ladung der Glukosaminoglykane stoßen sich die Seitenketten gegenseitig ab, und die einzelnen Ketten liegen in einer eher gestreckten Form vor. Bei Druck auf das Gewebe werden die Ketten zusammengedrückt und zwingen so das interstitielle Wasser, auszuweichen. Bei Entlastung strömt es wieder zurück (Buckwalter et al., 1988).

Das Kollagennetzwerk bildet eine solide Phase im Knorpel, welche die interstitielle Flüssigkeit als flüssige Phase einschließt. Die geringe Permeabilität des Knorpelgewebes verhindert bei Belastung einen raschen Flüssigkeitstransport und ermöglicht es der flüssigen Phase, die solide Phase vor hoher mechanischer Spitzenbelastung zu schützen. Während der ersten Sekunden hydrostatischer Einwirkung werden mehr als 75% des Druckes durch die flüssige Phase aufgenommen (Marlovits und Véscei, 2000a). Nach einer Weile kontinuierlicher Belastung wird ein Gleichgewicht erreicht, und der Ausstrom der Flüssigkeit ist beendet. Zu diesem Zeitpunkt wird die gesamte Belastung von der soliden Phase

getragen. Außerdem ermöglicht dieser mechanisch induzierte Fluss der Matrixflüssigkeit den Transport von Stoffwechselprodukten und Metaboliten (Marlovits und Véscei, 2000a).

2.2 Struktur artikulären Knorpels

Trotz des einfach erscheinenden Aufbaus stellen synoviale Gelenke äußerst komplexe Strukturen dar, die oft lebenslang stabile Bewegungen zulassen. Obwohl Knorpelgewebe in allen Gelenken denselben prinzipiellen Aufbau aufweist und weitgehend die gleiche Funktion erfüllen muss, variiert es in Dicke, Zelldichte und Matrixzusammensetzung oft innerhalb eines Gelenkes, bei verschiedenen Gelenken einer Spezies und bei differenten Spezies.

Knorpelgewebe wird zunächst von undifferenzierten mesenchymalen Zellen gebildet, die nach Zusammenlagerung und Differenzierung knorpelspezifische Kollagene, Proteoglykane und nicht kollagene Proteine synthetisieren. Unter dem Lichtmikroskop wird das mesenchymale Gewebe als Knorpelgewebe dann erkennbar, wenn die gebildete Matrix die Zellen separiert und diese ihre typische polygonale Form annehmen (Buckwalter und Mankin, 1998b).

Betrachtet man einen histologischen Querschnitt durch die Gelenkoberfläche, fällt eine zonale Gliederung des Gewebes auf, die Übergänge sind fließend. In den verschiedenen Zonen differieren einerseits die Matrix in ihrer Zusammensetzung und andererseits die Chondrozyten nicht nur in ihrer Größe, Form und Orientierung zur Gelenkoberfläche, sondern auch in ihrer metabolischen Aktivität (Franzen et al., 1981; Marlovits und Véscei, 2000a; Poole et al., 1982). Jede Zone hat eine charakteristische Architektur und verleiht dem Knorpel spezifische Eigenschaften (Alford und Cole, 2005a; Eyre, 2002). Das Knorpelgewebe ist dadurch in der Lage, im Gelenk auftretende Belastungen zu verteilen und die Kraftübertragung auf den subchondralen Knochen zu reduzieren. Bei Druck kann Knorpel sich verformen, nimmt aber bei Entlastung schnell wieder seine ursprüngliche Form an (Buckwalter, 1983).

Die Gelenkoberfläche wird durch eine dünne Superfizialschicht (~200 μm) gebildet. Die Chondrozyten sind in dieser Schicht spindelförmig, kaum aktiv (Buckwalter et al., 1988) und zwischen dünnen Kollagenfibrillen tangential zur Oberfläche angeordnet (Eyre, 2002). Die Superfizialschicht bildet eine dünne Gleitoberfläche mit hohem Kollagenanteil und relativ niedrigem Proteoglykangehalt (Marlovits und Véscei, 2000a) und macht etwa 10-20% des gesamten Knorpels aus.

Direkt auf der Gelenkoberfläche bilden feine, parallel zur Gelenkoberfläche angeordnete Kollagenfibrillen und eine dünne Schicht abgeflachter Chondrozyten die sogenannte Lamina splendens. Sie bildet eine Barriere für Makromoleküle und schützt das Knorpelgewebe effektiv (Alford und Cole, 2005a). Wenn sie zerstört wird, ist die Passage für Makromoleküle und somit synoviale Immunreaktionen oder Entzündungsreaktionen ermöglicht. Nahe der Gelenkoberfläche ist die Permeabilität am geringsten. Das liegt zum einen an einem höheren Kollagengehalt in dieser Region, zum anderen an der höheren Zelldichte (Muir et al., 1970; Ulrich-Vinther et al., 2003). In der Superfizialschicht ist die Wasserkonzentration am höchsten (Martinek, 2003), der Fibronektin Gehalt am niedrigsten und es ist nur wenig Hyaluronsäure enthalten (Buckwalter et al., 1988; Buckwalter und Mankin, 1998b). An Kollagen gebundene Proteoglykane zeigen hier mehr Zugfestigkeit als in den tieferen Zonen, was auf eine stärkere Bindung zwischen diesen Komponenten in dieser Zone hinweist (Buckwalter et al., 1988). Möglicherweise ist diese starke Verbindung eine wichtige Eigenschaft, da die Superfizialzone direkt den im Gelenk auftretenden Scherkräften ausgesetzt ist.

Es folgt in Richtung des subchondralen Knochens die transitionale Zone oder Intermediärzone, die Kollagenfibrillen mit größerem Durchmesser und einen höheren Proteoglykangehalt aufweist. Hier wechselt die Ausrichtung der Kollagenfasern bogenförmig in einen zur Gelenkoberfläche senkrechten Verlauf (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek, 2003). Diese Anordnung verleiht dieser Zone eine besondere Kompressionsstabilität. So fungiert die Intermediärzone als Puffer zwischen auf die Oberfläche wirkenden Scherkräften und Kompressionskräften auf die tieferen Zonen (Alford und Cole, 2005a). Die Chondrozyten nehmen hier eine ovale bis rundliche Struktur an. Die Intermediärzone macht etwa 40-60% des Knorpels aus (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek, 2003). In dieser Zone produzieren

die Zellen dickere Kollagenfasern als in der Superficialzone (Buckwalter et al., 1988; Buckwalter und Mankin, 1998b).

Die darunter liegende basale oder tiefe Zone weist den höchsten Proteoglykangehalt und die niedrigste Wasserkonzentration auf (Buckwalter et al., 1988; Buckwalter und Mankin, 1998b). Diese Zone enthält die größten Kollagenfasern, die parallel zueinander und senkrecht zur Oberfläche angeordnet sind (Buckwalter et al., 1988; Marlovits und Véscei, 2000a). Die Chondrozyten sind hier säulenartig zwischen den Kollagenfasern gruppiert. Diese Anordnung verleiht zusätzliche Kompressionsstabilität (Alford und Cole, 2005a). Die senkrecht verlaufenden Kollagenfasern tauchen in die so genannte „Tidemark“ ein (Buckwalter und Mankin, 1998b; Marlovits und Véscei, 2000a), eine mit der Skelettreife (Havelka et al., 1984) im Gelenkknorpel auftretende dünne basophile Linie zwischen kalzifiziertem und nicht kalzifiziertem Knorpelgewebe.

Schließlich folgt die Zone des kalzifizierten Knorpels. Er stellt die Verbindung zwischen hyalinem Gelenkknorpel und dem darunter liegenden subchondralen Knochen dar (Buckwalter et al., 1988; Redler et al., 1975). Kalzifizierter Knorpel und „Tidemark“ sind zapfenartig fest verbunden (Alford und Cole, 2005a) und werden von den Kollagenfibrillen der tiefen Zone penetriert (Buckwalter et al., 1988). Die Integrität des Gewebes wird dadurch zusätzlich gesteigert (Martinek, 2003). Die Zone des kalzifizierten Knorpels stellt einen Ort der aktiven Kalzifizierung dar und ist arm an Chondrozyten. Sie sind durch den kalzifizierten Knorpel zum Teil komplett von der Umgebung abgeschirmt und metabolisch kaum aktiv (Buckwalter et al., 1988; Havelka et al., 1984; Martinek, 2003).

Dem Gelenkknorpel unterliegend befindet sich der subchondrale Knochen. Er bildet ein verstärktes Widerlager, das die auf den Gelenkknorpel einwirkenden Kräfte abfängt (Brown et al., 1984; Imhof et al., 1999b; Li et al., 1999). Der subchondrale Knochen und der kalzifizierte Knorpel sind durch zapfenartige Verbindungen eng miteinander verzahnt (Marlovits und Véscei, 2000a). Der subchondrale Knochen ist außerdem reich an Gefäßen und bietet ein großes Reservoir an pluripotenten Stammzellen (Imhof et al., 1999b).

Die Chondrozyten unterscheiden sich, je nach Lage, in ihrer metabolischen Aktivität. So zeigte Aydelotte (Aydelotte et al., 1988) anhand einer Studie, dass die Chondrozyten der tiefen Zone am aktivsten Proteoglykane produzieren, die Chondrozyten der Intermediärzone am wenigsten. Es wird vermutet, dass die unterschiedliche Zusammensetzung der einzelnen Schichten des Knorpels für unterschiedliche mechanische Eigenschaften steht. So muss die Superficialzone in erster Linie Scherkräften widerstehen, die transitionale Zone erlaubt den Orientierungswechsel der Kollagenfibrillen zwischen Superficialzone und tiefer Zone, und die tiefe Zone fängt hauptsächlich Druckkräfte ab. Die Zone des kalzifizierten Knorpels fungiert als eine Art Verankerung des Knorpels im subchondralen Knochen sowie als Überleitung der mechanischen Eigenschaften von Knorpel und Knochen (Buckwalter et al., 1988).

Zusammen verleihen alle Schichten dem Gelenkknorpel seine charakteristischen Eigenschaften. Die Verletzung einer oder mehrerer Schichten kann zum Verlust der knorpeltypischen biomechanischen Eigenschaften und zu fortschreitender Degeneration führen (Alford und Cole, 2005a; Harris et al., 1972).

2.3 Interaktion zwischen Chondrozyten und Matrix

Die Aufrechterhaltung der Komplexität und Funktion des Knorpels wird durch die Interaktion zwischen Knorpelzellen und Matrix ermöglicht. Die Matrix stellt einen wesentlichen mechanischen Schutzfaktor der Chondrozyten dar und hilft, die Zellform aufrechtzuerhalten. Substrate für die Ernährung des Knorpels, neu synthetisierte Moleküle und metabolische Abfallprodukte werden durch die Matrix transportiert oder dort temporär gelagert (Buckwalter und Mankin, 1998b). Die Matrix leitet ebenfalls mechanische Signale an die Chondrozyten weiter, die dann ihrerseits mit Änderung der Matrixzusammensetzung reagieren. Der genaue Mechanismus dieser Signalübertragung ist noch nicht endgültig geklärt. Es wird vermutet, dass elektrische und physiko-chemische Signale zur Änderung des Transports von Nährstoffen und Stoffwechselprodukten innerhalb des hyalinen Knorpels führen (Buckwalter und Mankin, 1998b; Martinek, 2003). Im Laufe eines Lebens wird die gesamte Matrix kontinuierlich erneuert und degradierte Matrixbestandteile abgebaut.

2.4 Defektheilung

Verletzungen von Gewebe provozieren eine typische Antwort mit drei mehr oder weniger ausgeprägten Phasen: Nekrose, Entzündung und Reparatur (Buckwalter und Mankin, 1998b; Mankin, 1982; Newman, 1998). Die Phase der Nekrose setzt direkt nach dem Trauma ein und ist durch Zelluntergang gekennzeichnet. Der Umfang der Nekrose hängt von der Schwere des Traumas, der Vaskularisierung des betroffenen Gewebes und der Empfindlichkeit der betroffenen Zellen gegenüber Sauerstoffmangel ab.

Die zweite Phase der Entzündung ist gekennzeichnet durch eine verstärkte Durchblutung des betroffenen Gewebes sowie Dilatation und Permeabilitätserhöhung der Gefäße, was zur lokalen Hyperämie führt. Durch Transudation und Exudation kann sich im extrazellulären Raum des traumatisierten Gewebes proteinhaltige und zellhaltige Masse sammeln. So bildet sich mit der Zeit ein Fibrinnetzwerk, in das Zellen einwandern und so einen pfropfartigen Wundverschluss bilden.

Die dritte Phase beginnt, wenn der Fibrinpfropf von neu gebildeten Blutgefäßen durchbaut wird. Die eingewanderten Zellen wandeln sich in Fibroblasten um und bilden zunächst Granulationsgewebe, später eine fibröse Reparaturmatrix die schließlich eine Narbe bildet. In manchen Geweben wird in dieser Phase Originalgewebe repliziert (Mankin, 1982).

Knorpelgewebe nekrotisiert nach Traumata wie jedes andere Gewebe auch, aber aufgrund seiner Avaskularität fehlt die folgende inflammatorische Reaktion völlig (Mankin, 1974a; Marlovits und Véscei, 2000b) und es entsteht kein Fibrinpfropf, der als Gerüst für einwandernde Gefäße und Zellen dienen könnte. Dem entsprechend limitiert ist die Zahl der einwandernden Zellen, und die Reparatur ist vor allem Aufgabe der Chondrozyten im benachbarten intakten Gewebe. Die Chondrozyten sind zudem nur bedingt migrationsfähig, da sie im Kollagenetzwerk quasi gefangen sind (Alford und Cole, 2005a; Buckwalter, 1983; Mankin, 1982). Die Reaktion des Gelenkknorpels auf Verletzungen hängt entscheidend von der Tiefe und Ausdehnung der Verletzung ab (Alford und Cole, 2005a), aber auch die Lokalisation der Verletzung und andere Faktoren sind wesentlich (Newman, 1998). Je nach Größe und Ausdehnung werden Knorpeldefekte unterschiedlich klassifiziert. Eine Klassifikation von Knorpeldefekten sollte eine Beurteilung der Größe, der Tiefe, der Lokalisation und des Zustandes der korrespondierenden Gelenkoberfläche einschließen. Außerdem ist es wichtig, andere Verletzungen wie z.B. der Menisken und Bänder und axiale Fehlstellungen zu beschreiben.

Mikroverletzungen mit Schädigung der Matrix und der Zellen stellen Schädigungen von Knorpelzellen und Matrix ohne makroskopisch erkennbare Veränderungen der Knorpeloberfläche dar. Sie können durch wiederholte stumpfe Traumata oder durch einzelne Spitzenbelastungen hervorgerufen werden oder aber im Rahmen degenerativer Prozesse, wie zum Beispiel der Osteoarthrose, auftreten (Buckwalter, 1983; Buckwalter, 1998; Buckwalter und Brown, 2004; Buckwalter und Mankin, 1998a; Dekel und Weissman, 1978; Mankin, 1974a; Mankin, 1974b; Martin und Buckwalter, 1996; Martinek, 2003). Die morphologischen Charakteristika umfassen eine Abnahme der Chondrozytenanzahl in der betroffenen Region (Ulrich-Vinther et al., 2003), die Auflösung der Kollagenultrastruktur mit Verlust von Proteoglykanen (Buckwalter, 1983; Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998a; Mankin, 1974a; Mankin, 1974b), Verdickung des subchondralen Knochens (Day et al., 2004; Oddis, 1996; Radin und Rose, 1986), Fissurbildung im Knorpel, Ulzerationen, Erweichung des oberflächlichen Gelenkknorpels und Verlust der spezifischen biomechanischen Eigenschaften (Bailey et al., 2004; Buckwalter, 1998; Imhof et al., 1999b). Knorpelzellen sind in der Lage, Veränderungen in der Matrixzusammensetzung zu erkennen und Makromoleküle des zerstörten Maschenwerks neu zu synthetisieren (Buckwalter et al., 1994; Green, 1977; Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek und Imhof, 2003). Diese Steigerung der Syntheserate hält nur kurze Zeit an und stagniert dann (Buckwalter, 1983; Buckwalter, 1998; Eyre et al., 1980; Roughley und Lee, 1994). Die Zellen sind in der Lage, einen gewissen Teil an Matrixkomponenten, v.a. Proteoglykane, wiederherzustellen, und der Knorpel kann seine normale Struktur und Funktion wiedererlangen. Wenn die Schädigung allerdings andauert, kommt es zu irreversiblen Knorpelschäden (Buckwalter, 1983).

Partielle Gelenkknorpeldefekte mit Schädigung der Gelenkknorpelfläche ohne Einbeziehung der subchondralen Knochenplatte betreffen nur den Knorpel und haben keine Verbindung zum Knochenmarkraum. Es entsteht kein Fibringerinnsel und es finden sich praktisch keine Zellen im Defekt. Der initialen Nekrose der Chondrozyten nach 48 bis 72 Stunden folgt eine vermehrte mitotische und metabolische Aktivität der überlebenden Knorpelzellen an der Grenze des Defektes (Mankin, 1982). Für eine limitierte Zeitspanne kann die Ausbildung von Zellclustern und die vermehrte Synthese von Kollagen Typ II sowie diverser Makromoleküle beobachtet werden (Buckwalter, 1998; Chen et al., 1999; Cheung et al., 1978; DePalma et al., 1966; Eyre et al., 1980; Mankin, 1982). Eine oberflächliche Knorpelläsion heilt nicht oder nur schlecht und zeigt auch mehrere Monate später eine unveränderte Reaktionslage (Buckwalter, 1983; Mankin, 1974a; Mankin, 1974b; Mankin, 1982).

Tiefe oder subchondrale Gelenkknorpeldefekte betreffen die gesamte Gelenkknorpeldicke, die „Tidemark“ und den subchondralen Knochen. Shapiro (Shapiro et al., 1993) konnte anhand von Studien an Kaninchen nachweisen, dass genau reproduzierbare physiologische Reparaturreaktionen auftreten. Nach Setzen des Defektes tritt Blut aus dem Knochenmarksraum in die Läsion ein und füllt diese mit einem Fibrinpfröpf auf (Buckwalter, 2002; Dorotka et al., 2005). Zwei Tage später zeigt dieses Fibringerinnsel eine recht innige Verbindung zu den Wundrändern im Bereich des Knochenkompartiments, weist aber keinerlei Verbindung zu den Knorpelflächen auf. Im Verlauf von zwei bis fünf Tagen wandern pluripotente mesenchymale Stammzellen vom Knochenmark her in den Defekt ein, durchsetzen den Fibrinpfröpf und füllen diesen aus (DePalma et al., 1966; Furukawa et al., 1980; Mankin, 1982). Bereits nach einer Woche ist dieser Fibrinpfröpf resorbiert und durch die mesenchymalen Zellen ersetzt. Zwischen dem 10. und 14. Tag differenzieren die mesenchymalen Zellen in Chondrozyten und produzieren Proteoglykane. Die Knorpel-Knochen-Läsion wird nach und nach mit Reparatursgewebe aufgefüllt und weist nach acht Wochen eine gewisse Ähnlichkeit mit dem normalen hyalinen Knorpel auf (DePalma et al., 1966; Furukawa et al., 1980). Nach 24 Wochen ist der Defekt vollständig ausgefüllt. Basal des Defektes, in der Region des knöchernen Gewebes, kommt es zur regen Neubildung von Knochengewebe, das auf die Gelenkoberfläche zuwächst. Dieser neue Knochen wächst maximal bis an die ursprüngliche Grenze zwischen kalzifiziertem Knorpel und subchondraler Knochenplatte (Mankin, 1982). Das knorpelige Regeneratgewebe zeigt allerdings bereits nach drei Monaten erste Degenerationszeichen und nach sechs bis zwölf Monaten sinkt die Oberfläche ein und fasert auf (Furukawa et al., 1980). Im Defektbereich kommt es zur Bildung von Faserknorpel anstelle des normalen hyalinen Knorpels (Buckwalter, 1983). Faserknorpel hat nicht die gleichen biomechanischen Eigenschaften wie hyaliner Knorpel und kann so den Anforderungen, eine leichte Artikulation zu ermöglichen und verschiedene zyklische Langzeitbelastungen und Scherkräfte auszuhalten, nur unzureichend gerecht werden (Buckwalter, 1998; Furukawa et al., 1980; Shapiro et al., 1993). Es wird also weder histologisch noch funktionell eine Regeneration des Defektes erreicht (Buckwalter, 1998; Bruns und Steinhagen, 1999; Frenkel und Di Cesare, 1999; Marlovits und Véscei, 2000a). Kleine Defekte können sich mit Faserknorpel auffüllen und dem Patienten Schmerzfreiheit ermöglichen. Bei größeren Defekten jedoch ist dieses Heilungspotential nicht ausreichend und die Gelenkfunktion bleibt eingeschränkt und schmerzhaft (Alford und Cole, 2005a; Convery et al., 1972; Rudert und Wirth, 1998).

Convery (Convery et al., 1972) beschrieb, wie wichtig die Ausdehnung des Defektes ist. Er setzte Defekte unterschiedlicher Größe in Kniegelenken bei Pferden. Defekte die kleiner als drei Millimeter im Durchmesser waren, zeigten eine komplette Wiederherstellung der Gelenkoberfläche und waren nach neun Monaten nicht mehr auszumachen. Bei einer Defektgröße von neun Millimetern im Durchmesser oder größer zeigte keiner der Defekte eine komplette Wiederherstellung. Das Reparaturgewebe bestand aus Faserknorpel, fibrösem Gewebe und hyperzellulärem hyalinartigem Knorpel.

Anhand zahlreicher Studien lassen sich gewisse Voraussetzungen für eine gute Knorpelheilung ableiten (Marlovits und Véscei, 2000a). Zum einen spielt die Integration mit dem umliegenden Knorpel eine wesentliche Rolle. Permanente Spaltbildungen zwischen

dem neuen und alten Gewebe sind die Regel und können zur vorzeitigen Degeneration des neuen Gewebes sowie zur Irritation und Schädigung des umliegenden Knorpels beitragen.

Zum anderen ist die Steifigkeit des Füllgewebes entscheidend. Die wichtigsten Funktionen des Knorpels sind Lastenverteilung und Verringerung der Gelenkfriktion bei Bewegung. Dies setzt eine gewisse Steifigkeit des Gewebes voraus. Im Idealfall sollte das Regeneratgewebe dieselbe Steifigkeit wie das umliegende Knorpelgewebe erreichen. Bleibt es weicher als das umliegende Knorpelgewebe, führt dies zu einer vermehrten Belastung des gesunden benachbarten Knorpels, mit der Möglichkeit der vorzeitigen Degeneration.

Die Bildung einer intakten und regelmäßigen Oberfläche ist das nächste entscheidende Kriterium. Sie trägt zur Verminderung der Friktion bei Bewegungen bei. Weiterhin scheint eine intakte Oberfläche für die Verhinderung des Verlustes der Proteoglykane und der Degeneration der Kollagenfibrillen von Bedeutung zu sein.

Als letztes sollte die Knorpelheilung Dauerhaftigkeit gewährleisten. Leider zeigt Füllgewebe in osteochondralen Defekten nur eine sehr begrenzte Überlebensdauer (Marlovits und Véscei, 2000a; Messner, 1999). Ein weiteres Problem der Therapie von Knorpelschäden ist die wenig vorhersagbare Erfolgsaussicht. In vielen Experimenten zur Knorpelreparatur zeigte sich nach operativen Eingriffen eine große Variation der Ergebnisse, die Fälle mit ausgezeichneter Knorpelregeneration und Fälle mit vollständigem Misserfolg beinhalteten (Marlovits und Véscei, 2000a; Siebert et al., 2003b).

Wakitani entwickelte ein Scoresystem, mit dem er die Heilung von experimentell erzeugten Knorpeldefekten beurteilte und besser vergleichbar machen wollte. Später wurde dieses Scoresystem von verschiedenen Autoren modifiziert (O'Driscoll et al., 1988; Wakitani et al., 1994).

2.5 Versorgung osteochondraler Defekte

Knorpelschäden werden klinisch je nach Größe und Lokalisation verschieden behandelt. Neben konservativen Therapien (Martinek und Imhof, 2003; Stove, 2005) werden auch verschiedene chirurgische Verfahren angewendet. Bei der Wahl der Behandlungsmethode sind immer die individuellen Bedingungen des Patienten wie eventuelle Komorbiditäten von Bändern und Menisken, vorangegangene Operationen, Achsenasymmetrien oder Fehlstellungen der Gliedmaßen, zu berücksichtigen (Alford und Cole, 2005a).

Es bestehen verschiedene chirurgische Therapieprinzipien. Techniken wie Lavage, Shaving und Débridement zielen auf Entfernung von Zelltrümmern und Entzündungsmediatoren im Gelenk ab. Sie ermöglichen jedoch nur eine kurzfristige symptomatische Verbesserung der Symptome und werden lediglich als Zeitgewinn vor größeren operativen Eingriffen angesehen (Baumgaertner et al., 1990; Burkart et al., 2001; Kruger et al., 2000; Marlovits und Véscei, 2000b; Martinek und Imhof, 2003; Sprague, 1981).

Beim Drilling oder der Pridiebohrung, der Abrasionsarthroplastik und der Mikrofrakturierung wird der subchondrale Knochen durchbrochen und der Knochenmarkraum eröffnet. Es kommt zum Einbluten in den Defekt, Bildung eines Firbrinpfropfes, Rekrutierung von Knochenmarkszellen und zur vorübergehenden Bildung von hyalinartigem Knorpel der sich nach einiger Zeit in Faserknorpel umwandelt (Alford und Cole, 2005a; Alford und Cole, 2005b; Breinan et al., 1997; Burkart et al., 2001; DePalma et al., 1966; Friedman et al., 1984; Furukawa et al., 1980; Mankin, 1982; Minas und Nehrer, 1997; Nehrer und Minas, 2000; Steadman et al., 1997; Steadman et al., 2002).

Diese knochenmarksstimulierenden Techniken haben den Vorteil, dass sie relativ kostengünstig sind und keine Schädigung in gesunden Knorpelarealen verursachen. Bei bis zu 90% der Patienten sind die Ergebnisse als gut zu bezeichnen, vor allem im Bereich der Schmerzlinderung (Steadman et al., 1997). Das Regeneratgewebe hat aber nur eine Lebenserwartung von rund zehn bis fünfzehn Jahren (Bert und Maschka, 1989; Easley und Scranton, 2003). Die klinische Wertigkeit für jüngere Patienten ist deshalb kontrovers zu diskutieren (Martinek und Imhof, 2003).

Je nach Tiefe und Ausdehnung des Defektes können auch Transplantate zur Wiederherstellung der Gelenkoberfläche eingesetzt werden. Zum Einsatz kommen zum Beispiel autologe oder heterologe osteochondrale Transplantate (Bentley et al., 2003; Berlet et al., 1999; Bugbee und Convery, 1999; Convery et al., 1994; Delcogliano et al., 2002;

Ghazavi et al., 1997; Goldberg und Stevenson, 1987; Horas et al., 2003; Horas und Schnettler, 2002; Outerbridge et al., 1995). Dazu wird ein osteochondraler Zylinder aus einem relativ gering lasttragenden Bereich entnommen. Dieses Verfahren bietet auch nach 10 und mehr Jahren bei 65-85% der Patienten eine Verbesserung der Gelenkfunktion (Chu et al., 1999; Gross et al., 2002; Gross et al., 2005; Laprell und Petersen, 2001) und eine deutliche Schmerzlinderung. Dabei ist zu beachten, dass mit steigender Menge an Spendergewebe die Morbidität der Entnahmestelle entsprechend ansteigt und diese anfällig für arthritische Veränderungen wird (Newman, 1998). Mit dem gewonnenen Transplantat wird die zerstörte Gelenkoberfläche des Defektes ersetzt. In der Regel werden 10-15 mm hohe Spenderzylinder aus weniger belasteten Gelenkbereichen entnommen und in im Durchmesser etwas kleinere Empfängerlöcher eingebracht. Durch diesen minimalen Größenunterschied kann der Spenderzylinder ohne weitere Fixierung in das Empfängerloch eingebracht werden. Dieses Verfahren wird „Press-fit“-Technik genannt (Alford und Cole, 2005b; Burkart et al., 2001; Martinek und Imhof, 2003) und wurde von Wagner erstmals 1964 angewendet (Wagner, 1972). Diese Behandlungstechnik wird abhängig von der Größe des Defektes am offenen Knie oder arthroskopisch durchgeführt (Bobic, 1996; Imhof et al., 1999a; Martinek und Imhof, 2003; Yamashita et al., 1985). Es wird bevorzugt bei Patienten über 40 Jahren eingesetzt, der Einsatz ist abhängig von der Ausdehnung des Defektes und eventuellen vorausgegangenen Operationen sowie den individuellen Voraussetzungen des Patienten (Bodo et al., 2001; Curl et al., 1997). Der osteochondrale Transfer kann bei lokalen Knorpeldefekten (Schöttle et al., 2001) einzeln oder multipel als Mosaikplastik angewendet werden (Bodo et al., 2000; Brucker et al., 2002; Hangody et al., 2001a; Hangody et al., 2001b; Hangody, 2003; Hangody et al., 2004; Marlovits und Véscei, 2000b). Diese Technik ist besonders geeignet bei Defekten, die kleiner als drei Zentimeter im Durchmesser sind und höchstens einen Zentimeter in die Tiefe gehen (Hangody et al., 1997).

Subchondrale Spongiosaplastiken werden in der Klinik vor allem zur Unterfütterung nach dem Ausräumen von Knochentumoren eingesetzt (Leniz et al., 2004; Siebert et al., 2003a). Die Nachteile dieser Methode sind die verlängerte Narkose- und Operationsdauer durch Entnahme der Spongiosa, zusätzlich entstehende Operationswunden und eine unzureichende Menge an gewinnbarer Spongiosa, insbesondere bei Kindern und Greisen sowie polytraumatisierten Patienten (Mommsen et al., 1984). Zur Behandlung osteochondraler Defekte liegen nur wenige Studien vor, so beschrieb Navarro (Navarro et al., 2002) bei einer Patientengruppe von elf jungen Patienten (höchstens zwanzig Jahre alt) mit Osteochondrosis dissecans gute bis exzellente Ergebnisse in 90,9% der Fälle nach durchschnittlich vier Jahren.

Als ein alternatives Verfahren wurde die autologe Chondrozyten Implantation von Brittberg aus Schweden entwickelt, bei der mittels Knorpelbiopsie gewonnene Knorpelzellen künstlich vermehrt und in einen differenzierungsfähigen Zustand gebracht (Martinek und Imhof, 2003; Messner, 1999) um sie später in einen Defekt zu implantieren (Alford und Cole, 2005b). Dieses Verfahren erzielt gute Ergebnisse für etwa 3-5 Jahre (Brittberg et al., 1994; Minas, 2001; Morelli et al., 2002; Yamashita et al., 1985).

Verschiedene biodegradierbare Scaffolds werden chirurgisch eingesetzt (Gogolewski, 2000). Diese werden nach Einbluten in den Defekt mit Zellen und Gefäßen durchbaut und langsam resorbiert (Pistner et al., 1993).

Totalendoprothesen werden bevorzugt bei älteren Patienten angewendet sowie bei Patienten, bei denen andere Verfahren nicht anwendbar oder bereits gescheitert sind (Amstutz et al., 1986; Brittberg et al., 1994; Landon et al., 1985; Martinek und Imhof, 2003). Der künstliche Gelenkersatz schafft eine gute Wiederherstellung der Gelenkfunktion und hat eine Lebensdauer von Jahrzehnten. Eine mögliche Komplikation dieses Verfahrens stellt die Lockerung der Prothese dar (Chandler et al., 1981; Siebert et al., 2001).

2.6 Messung der Bodenreaktionskräfte

Zur Evaluierung der Belastungsfähigkeit der betroffenen Gliedmaße stehen Computermessverfahren zur Verfügung, die mittels Druckmessplatte die Lastenverteilung der Gliedmaße messen können (Drerup et al., 2003; Firth et al., 2007; Kanatli et al., 2003; Mittlmeier et al., 1999). So ist es möglich, die Lastenverteilung der gemessenen Gliedmasse im Bewegungsablauf genau aufzuzeichnen und zu analysieren. Der Erfolg einer Behandlung kann so z.B. durch Messungen vor bzw. nach einer Operation, neben der Befragung des Patienten, direkt durch Kraftmessungen untersucht werden. Computermessverfahren bieten die Möglichkeit einer objektiven Beurteilung des Bewegungsablaufs, neben der subjektiven Wahrnehmung des betroffenen Patienten und des untersuchenden Arztes.

2.7 Tiermodell

In dieser Studie wurden adulte, weibliche Merino-Mix Schafe als Versuchstiere verwendet. Das Schafsknie ist in seinen knöchernen Dimensionen und den Belastungsverhältnissen im Gelenk dem des Menschen vergleichbar (Russlies et al., 2003), und das Schaf wird, neben anderen Versuchstieren, oft für chirurgische Studien eingesetzt (Allen et al., 1998; Akens et al., 2001; Appleyard et al., 2003; Homminga et al., 1991; Leniz et al., 2004; Rothwell, 1990; Russlies et al., 2003; Siebert et al., 2001; Siebert et al., 2003a; Siebert et al., 2003b; Uhl et al., 2005; von Rechenberg et al., 2003; Weiler et al., 1996). Schafe belasten in der Regel bald nach der Operation die betroffene Gliedmaße wieder (Nunamaker, 1998) und bewegen sich frei im Herdenverband. Somit konnte, im Gegensatz zu in Käfigen gehaltenen Tieren, die für die Heilungsphase notwendige physiologische Be- und Entlastung der operierten Gliedmaße (Buckwalter, 1995; Salter et al., 1980; Shimizu et al., 1987) vorausgesetzt werden.

3. Material und Methoden

Im Rahmen einer tierexperimentellen Untersuchung wurden osteochondrale Defekte mit zehn Millimetern Tiefe und einem Durchmesser von 7,3 mm und 8,3 mm Durchmesser in die medialen bzw. lateralen Femurkondylen des linken Knies von Merino-Mix Schafen gesetzt. Der kleinere Defekt wurde entweder mit einem autologen Knorpel-Knochen Zylinder oder mit einer Defektauffüllung aus Spongiosaclustern aufgefüllt, der größere Defekt blieb unbehandelt und diente als Kontrolle. Nach einer Standzeit von zwölf bzw. 24 Wochen wurde der Heilungsverlauf verglichen. Anhand der ausgewählten Therapieansätze sollte exemplarisch der Zusammenhang zwischen mechanischen Bedingungen und biologischen Konsequenzen in der chirurgischen Behandlung osteochondraler Defekte aufgezeigt werden.

3.1 Tiere und Tierhaltung

Bei den Versuchstieren handelte es sich um 24 weibliche Merino-Mix-Schafe (Abb. 1) mit einem Mindestalter von 24 Monaten und einem Durchschnittsgewicht von 77,4 kg (62,5-92,5 kg) zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns. Die Tiere wurden vor Versuchsbeginn Gesundheits-, Gewichts- und Trächtigkeitskontrollen unterzogen und befanden sich in einem guten allgemeinen Gesundheitszustand.



Abbildung 1: Merino-Mix Schafe

Die Schafe wurden in vier Versuchsgruppen mit jeweils sechs Tieren eingeteilt. Für zwölf Tiere war eine Standzeit von zwölf Wochen, für die anderen zwölf Tiere eine Standzeit von 24 Wochen vorgesehen. Der Versuch fand mit Genehmigung der zuständigen Behörde¹ statt.

¹ Landesamt für Arbeitsschutz, Gesundheitsschutz und technische Sicherheit (LAGetSi) Berlin, Genehmigungsnummer G 037/04

Es gab folgende Versuchsgruppen:

<u>Gruppe OCT3</u>	12 Wochen Standzeit, (n=6), Transfer eines autologen Knorpel-Knochen- Zylinders
<u>Gruppe OCT6</u>	24 Wochen Standzeit, (n=6), Transfer eines autologen Knorpel-Knochen- Zylinders
<u>Gruppe SC3</u>	12 Wochen Standzeit, (n=6), subchondrale Spongiosacluster mit Fibrinkleber ² und Kollagenmembran ³
<u>Gruppe SC6</u>	24 Wochen Standzeit, (n=6), subchondrale Spongiosacluster mit Fibrinkleber und Kollagenmembran

Die Gruppen OCT3 und SC3 wurden in Offenstall- und Weidehaltung gehalten. Die Gruppen OCT6 und SC6 waren in 14-50 m² großen Gehegen auf Betonboden mit Stroheinstreu untergebracht. Die Gehege wurden zweimal wöchentlich gereinigt. Wasser wurde je nach Gehegegröße über 1-4 Selbsttränken *ad libitum* angeboten. Während der Messungen der Bodenreaktionskräfte erhielten die Tiere der Gruppen OCT6 und SC6 ein kommerziell erhältliches Ergänzungsfuttermittel für Zuchtschafe in Pelletform⁴. Sonst wurden die Tiere nur mit Heu gefüttert. Es wurde ein natürlicher Tag-Nacht-Rhythmus eingehalten, die Raumtemperatur betrug 18°C, die Luftfeuchtigkeit 70%.

3.2 Operationsvorbereitungen

Vor der Operation fasteten die Tiere zwölf Stunden lang. Wasser wurde *ad libitum* zur Verfügung gestellt. Über einen Venenverweilkatheter in der Vena cephalica antebrachii wurde die Narkose durch intravenöse Gabe von Thiopental⁵ nach Wirkung eingeleitet. Das Tier wurde mit Hilfe eines Laryngoskops mit einem 9 mm Durchmesser Tubus intubiert und an die Beatmungsmaschine⁶ angeschlossen. Beatmet wurde mit einem Isofluran- Lachgas-Sauerstoffgemisch (Isofluran: 1,5-2,0 Vol%, Sauerstoff: 40 Vol%, Lachgas: ca. 60 Vol%) bei einer Atemfrequenz von 12-14 Atemzügen/min und einem Atemminutenvolumen von ca. 8 l sowie einem respiratorischen CO₂-Wert von 39-40 mm Hg. Um ein Aufgasen zu verhindern, wurde eine Nasen-Schlund-Sonde in den Pansen geschoben. Die Cornea wurden mittels Augensalbe⁷ vor Austrocknung geschützt.

Dann wurde das Tier in Rückenlage gebracht, und die linke Hintergliedmaße im Operationsbereich geschoren, mit Enthaarungscreme⁸ enthaart und anschließend mit Waschlotion und Wasser gewaschen. Alle Klauen wurden mit Mullbinden eingewickelt, um eine Verschmutzung des Operationsumfeldes zu vermeiden. An den nicht zu operierenden Gliedmaßen wurden EKG-Klebeelektroden angebracht.

Danach wurde das Tier im OP-Saal an das Narkosegerät⁹ angeschlossen. Die Konzentrationen von Lachgas, Sauerstoff und Isofluran wurden auch hier, wie oben beschrieben, eingehalten. Die linke Hintergliedmaße wurde im Operationsbereich mit einer Jodlösung¹⁰ desinfiziert und die Klaue steril eingewickelt. Anschließend wurde das Tier mit sterilen Tüchern, mit Ausnahme des Operationsfeldes, komplett abgedeckt.

Während der Operation erhielt jedes Tier 500 ml Elektrolytlösung¹¹ als Dauertropfinfusion sowie eine einmalige Antibiose¹².

² Tissucol Duo S 0,5 ml Immuno, Baxter AG, 1221 Wien, Österreich

³ Chondrogide®, Geistlich Biomaterials, 6110 Wolhusen, Schweiz

⁴ Holstenstolz, Ströh Hobbersdorf, 23685 Pansdorf

⁵ Trapanal®, ALTANA Pharma Deutschland GmbH

⁶ Sulla 800V, Capnolog, Ventilog, Isofluran Vapor 19.3, Drägerwerk AG

⁷ Panthenol-Augensalbe, Jena-Pharm®, Deutschland

⁸ Veet®, Reckitt Benckiser, 68004 Mannheim, Deutschland

⁹ Isofluran Vaporizer 711, Servo Ventilator, Siemens AG, 80333 München, Deutschland

¹⁰ Braunol®, B. Braun, Melsungen, Deutschland

¹¹ Elektrolyt-Infusionslösung 153, Berlin Chemie AG, 12474 Berlin, Deutschland

3.3 Operation

Das Tier wurde während der Operation in Rückenlage gelagert. Der Zugang zum Kniegelenk erfolgte von medial, die Schnittlänge betrug etwa sechs Zentimeter. Die Patella wurde nach lateral luxiert, der Fettkörper mittels Kauter entfernt und das Kniegelenk vorsichtig eröffnet, bis die Femurkondylen unter Beugung des Kniegelenkes zugänglich waren. Nun wurden auf jeder der beiden Femurkondylen mittels Hohlfräse¹³ im lasttragenden Bereich je ein Defekt von 10 mm Tiefe gesetzt. Die Hohlfräsen hatten einen Außendurchmesser von 7,3 mm (Innendurchmesser 6,4 mm) bzw. einen Außendurchmesser von 8,3 mm (Innendurchmesser 7,45 mm) (Abb. 2).

So konnte aus dem größeren Defekt ein Zylinder (Abb. 6) entnommen werden, dessen Durchmesser genau 0,15 mm größer war als der des kleineren Defektes auf der anderen Kondyle. Der größere Defekt wurde als Leerdefekt belassen, der kleinere Defekt wurde je nach Versuchsgruppe mit dem entnommenen autologen Knochen-Knorpel-Transplantat oder mit Spongiosaclustern aufgefüllt (Abb. 3-5, 7, 8).

In jeder Versuchsgruppe wurde bei drei Tieren der Leerdefekt auf der lateralen, bei den anderen drei Tieren auf der medialen Femurkondyle gesetzt. Abschließend erfolgte die Kapselnaht und schichtweise der Verschluss der Wunde. Zum Schluss wurde die Naht mit einem Wundpflaster abgedeckt.



Kleine Hohlfräse

- Bohren des Empfängerloches
- Entstandenes Loch (Ø 7,3 mm, 10 mm Tiefe) wird mit entsprechender Defektfüllung aufgefüllt

Große Hohlfräse

- Bohren des Leerdefektes
- Gewinnung eines Zylinders mit 10 mm Länge und Durchmesser von 7,45 mm
- Zylinder ist 0,15 mm größer im Durchmesser als Empfängerloch
- Entstandenes Loch (Ø 8,3 mm) verbleibt als Leerdefekt

Abbildung 2: Schematische Zeichnung der Hohlfräsen (Aufsicht)

Bei den Tieren der Gruppen, die mit autologem Knorpel-Knochen Zylinder versorgt wurden, wurde der gewonnene Zylinder aus dem Leerdefekt auf der anderen Kondyle mittels „Press-fit“-Technik eingebracht.

Bei den Tieren, die mit Spongiosaclustern versorgt wurden, wurde der spongiöse Knochen des entnommenen Zylinders mit einer Zange nach *Luer* in etwa 3-5 mm große Stücke zerkleinert, in den zu füllenden Defekt eingebracht und schichtweise verdichtet (Abb. 9). Der Defekt wurde bis zur subchondralen Knochenplatte aufgefüllt (Abb. 10). Anschließend wurde der Defekt mit einer Kollagenmembran übernäht (Abb. 11) und diese mit Fibrinkleber unterspritzt (Abb. 12), um ein Herausspülen der Knochenfragmente zu verhindern.

¹² Augmentan 2,2 g, SmithKline Beecham, Glaxo Wellcome, Deutschland

¹³ Einwegfräse 6,4 mm und 7,45 mm, Zimmer GmbH, 8404 Winterthur, Schweiz

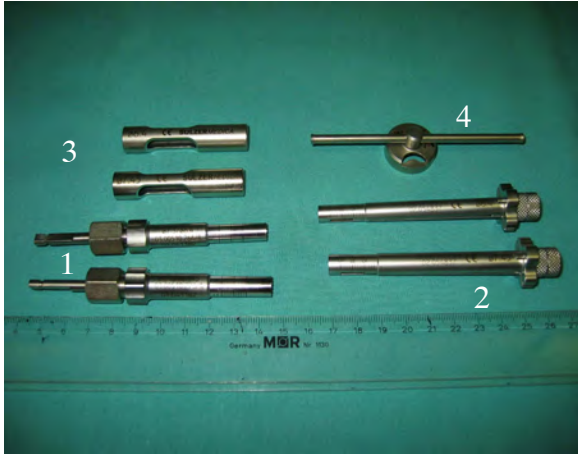


Abbildung 3: Operationsbesteck; die beiden unterschiedlich großen Hohlfräsen (1), rechts daneben die Entnahmehilfen (2) zur Entnahme der Knorpel-Knochen Zylinder mit dazugehörigen Stabilisierungsmanschetten (3) und Drehhilfe (4).

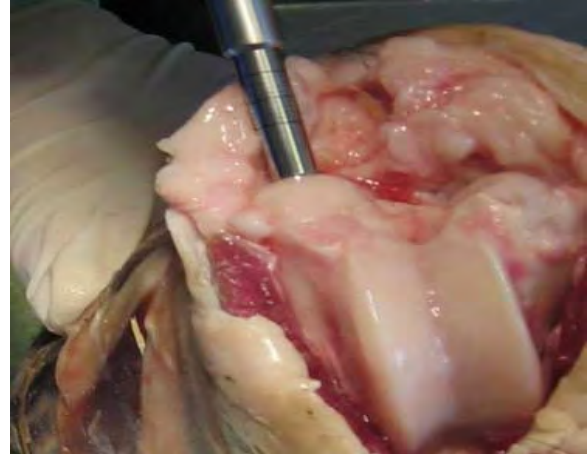


Abbildung 4: Bohren der Defekte; nach Eröffnung des Gelenkes wird der Bohrer rechtwinklig zur Gelenkoberfläche angesetzt und die 10 mm tiefen Defekte gebohrt.



Abbildung 5: Entnahme des Knorpel-Knochen Zylinders mittels Entnahmehilfe.

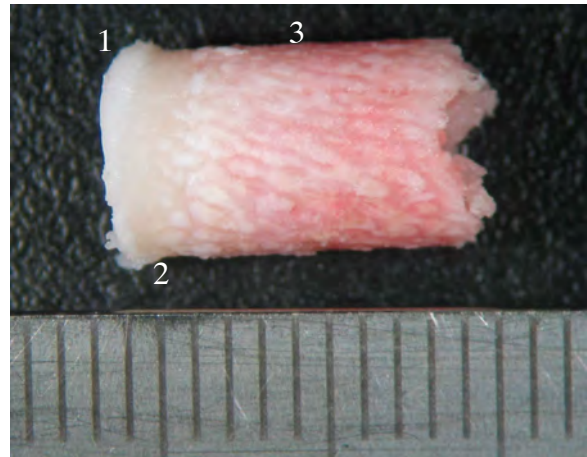


Abbildung 6: Entnommener Knorpel-Knochenzylinder mit einer Länge von 10mm. Deutlich zu erkennen ist der weiß erscheinende Gelenknorpel (1) auf der Gelenkoberfläche mit darunter liegender subchondraler Knochenplatte (2) und anschließendem spongiossem Knochen (3).

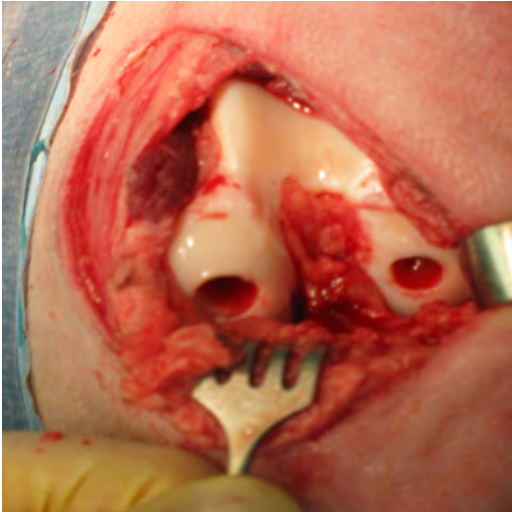


Abbildung 7: Femurkondylen nach Setzen beider Defekte. Auf der medialen Kondyle (links) wurde der Leerdefekt (\varnothing 8,3mm), auf der lateralen (rechts) der zu füllende Defekt (\varnothing 7,3mm) gesetzt.

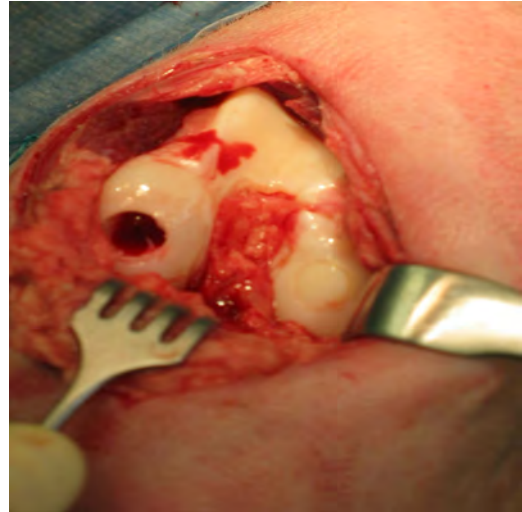


Abbildung 8: Femurkondylen nach Auffüllen des rechten Defektes mit einem autologen Knorpel-Knochen Zylinder.



Abbildung 9: Beim Auffüllen des Defektes wurden die Spongiosacluster durch dezenten Druck verdichtet.



Abbildung 10: Bis zur subchondralen Lamelle aufgefüllter Defekt (Pfeil; Defektfüllung: Spongiosacluster).

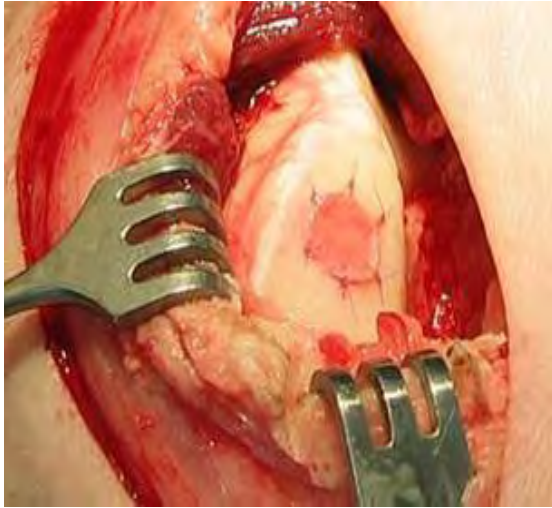


Abbildung 11: Die Kollagenmembran wurde auf Defektgröße zugeschnitten und mit Einzelheften vernäht.

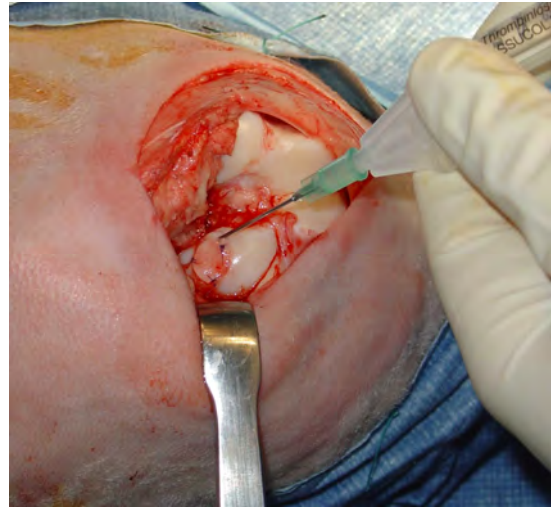


Abbildung 12: Mit Fibrinkleber wurde die Kollagenmembran unterspritzt und so die Spongiosacluster fixiert.

Jedes Tier erhielt ein Fentanyl-Pflaster¹⁴, welches auf die unbehaarte Innenseite des linken Oberschenkels geklebt wurde. Dieses Pflaster gab transdermal 75 μg Fentanyl pro Stunde ab. Die Wunde wurde mit einem Wundpflaster abgedeckt und die operierte Gliedmaße zur Überprüfung des Sitzes und der Lage der Defektfüllung in zwei Ebenen geröntgt¹⁵.

3.4 Postoperative Versorgung

Die Tiere wurden nach der Operation wieder in ihre Herde gebracht. Täglich erfolgte eine Kontrolle des Allgemeinbefindens. Am dritten Tag nach der Operation wurden das Fentanyl-Pflaster und das Wundpflaster entfernt und am zehnten Tag post operationem die Fäden gezogen. Die Tiere der Gruppen OCT3 und SC3 wurden gleich nach dem Entfernen der Fäden in die Freilandhaltung verbracht. Die Gruppen OCT6 und SC6 wurden vor jeder Messung der Bodenreaktionskräfte, die Gruppen OCT3 und SC3 alle vier Wochen gewogen.

3.5 Messung der Bodenreaktionskräfte

Alle Tiere der Gruppen OCT6 und SC6 wurden regelmäßigen Messungen der Bodenreaktionskräfte unterzogen. Dabei liefen die Tiere freiwillig neben der Führungsperson, die Futter in der Hand hielt, über eine drucksensitive Messplattform¹⁶ (Abb. 13, 14). Die Messungen fanden einmalig präoperativ sowie am dritten Tag nach der Operation, eine Woche, sowie zwei, drei, vier, acht, zwölf, 16, 20 und 24 Wochen nach der Operation statt. Ein Messzyklus wurde mit Berühren der Plattform gestartet und dauerte drei Sekunden. In dieser Zeit konnten in der Regel ein Vorderbein mit dazugehörigem Hinterbein gemessen werden. Von jedem Fuß wurden acht Abdrücke aufgezeichnet.

Die aufgenommenen Rohdaten der Messungen der Bodenreaktionskräfte wurden mit Hilfe der zugehörigen Software¹⁷ ausgewertet. Zur weiteren Auswertung kamen die Messgrößen Kontaktfläche, Maximalkraft und Kontaktzeit. Alle Messergebnisse wurden in prozentualen Bezug zur präoperativen Messung gesetzt.

¹⁴ Durogesic 75 $\mu\text{g}/\text{h}$, JANSSEN-CILAG GmbH, 41457 Neuss, Deutschland

¹⁵ Mobilett Plus, Siemens AG, 80333 München, Deutschland

¹⁶ emed ST, novel GmbH, München, Deutschland

¹⁷ novel-win 7.9, novel GmbH, München, Deutschland



Abbildung 13: Messung der Bodenreaktionskräfte. Das Schaf folgte der Führperson freiwillig und konnte sein Tempo selbst bestimmen. Die Lauffläche sowie die darin eingelassene Messplatte wurden mit einer 3mm starken Gummimatte abgedeckt.



Abbildung 14: Ein Messzyklus wurde mit Berühren der Messplatte ausgelöst und dauerte drei Sekunden. In dieser Zeit konnte in der Regel ein Vorderbein mit dazugehörigem Hinterbein gemessen werden. Von jedem Fuß wurden mindestens acht Messungen aufgezeichnet.

Die aufgenommenen Rohdaten der Messungen der Bodenreaktionskräfte wurden mit Hilfe der zugehörigen Software¹⁸ ausgewertet. Zur weiteren Auswertung kamen die Messgrößen Kontaktfläche, Maximalkraft und Kontaktzeit. Alle Messergebnisse wurden in prozentualen Bezug zur präoperativen Messung gesetzt.

3.6 Tötung und Sektion

Die Tötung der Tiere erfolgte, abhängig von der vorgesehenen Standzeit, zwölf bzw. 24 Wochen nach der Operation. Den Tieren wurde intravenös 2,5 g Thiopental verabreicht. Nach Aussetzen der Reflexe erhielten die Tiere intravenös 50 ml 14,9%iges Kaliumchlorid¹⁹. Der Tod wurde durch Auskultation des Herzens festgestellt. An jeder Hintergliedmaße wurden Femur und Tibia unter Schonung des Kniegelenks frei präpariert und zunächst makroskopisch untersucht. Nach Eröffnen des Kniegelenks wurde der Femur herausgelöst, die Gelenkflächen der Femurkondylen fotografiert und sofort mit 0,9%iger NaCl-Lösung²⁰ bedeckt.

¹⁸ novel-win 7.9, novel GmbH, München, Deutschland

¹⁹ 1 M Kaliumchlorid-Lösung, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg

²⁰ NaCl 0,9% Spüllösung, Delta Select, 72793 Pfullingen, Deutschland

3.7 Sägen und Fixierung

Die Präparate wurden auf einem Trennschleifsystem²¹ mit einem 1 mm starken Sägeblatt gesägt. Zunächst wurde der linke Oberschenkelknochen in das Haltesystem eingespannt und so ausgerichtet, dass der mediale Rollkamm senkrecht zum Sägeblatt lag. Lateral und medial beider Defekte wurden nun senkrechte Schnitte in ca. 15 mm Abstand zur Defektmittlinie angefertigt. Nun wurde der Oberschenkelknochen um 90° gedreht und wieder ca. 15 mm proximal und 15 mm distal der Defekte gesägt.

Zum Schluss wurden die würfelförmigen Präparate noch durch einen Transversalschnitt in ca. 2 cm Tiefe, gemessen von der Knorpeloberfläche, vom Oberschenkelknochen getrennt (Abb. 15).

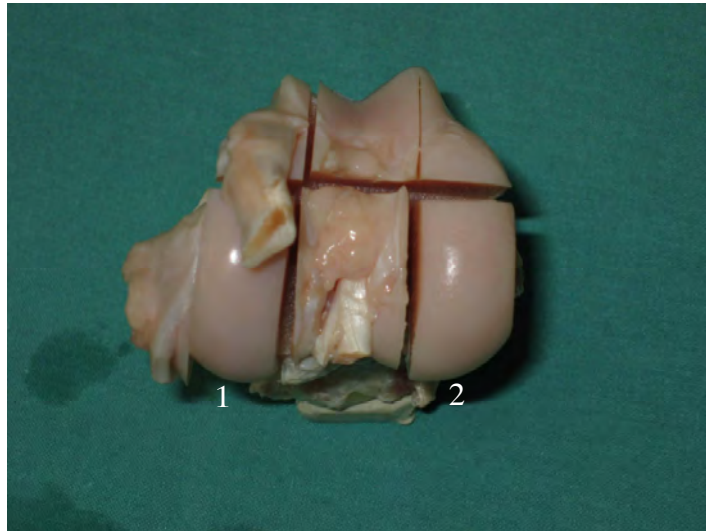


Abbildung 15: Rechte Femurkondylen nach dem Sägen. Die laterale (1) und mediale (2) Kondyle wurden nach dem gleichen Prinzip wie die linken Kondylen ausgesägt und durch einen Transversalschnitt vom Os femoris getrennt.

Auf die gleiche Weise wurde das kontralaterale Gegenstück zu dem gefüllten Defekt aus dem rechten Oberschenkelknochen ausgesägt. Anschließend wurden alle Knochenpräparate in eine laterale und mediale Hälfte zersägt. So entstanden etwa 15 mm starke Scheiben (Abb. 16, 17), in denen sich beim linken Bein je eine Hälfte der durchgesägten Defekte und beim rechten Bein nativer Knochen und Knorpel befanden. Alle Präparate wurden für fünf Tage in eine neutrale isotone Fixierlösung²² eingelegt. Diese verhinderte die Autolyse und beugte Schimmel und Fäulnisbakterien vor. Außerdem bewirkte die Fixierung eine höhere Strukturfestigkeit, die das Gewebe vor den mechanischen Einflüssen bei der weiteren Bearbeitung schützte.

²¹ Makro-Trennschleifsystem, Exakt Apparatebau GmbH, 22851 Norderstedt, Deutschland

²² 324 ml Formaldehyd 36%, 540 ml Ethanol 100%, 130 ml Barbitol-Natrium-Puffer pH 7,4/0,1 molar, 6 g Glucose

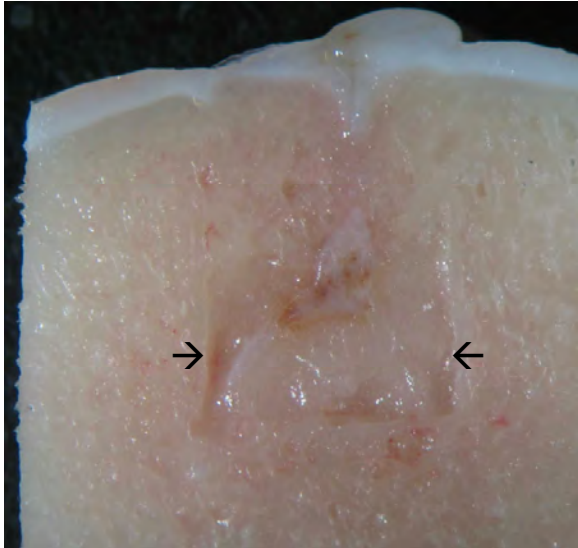


Abbildung 16: Schnittfläche eines Präparates nach dem Sägen. Der gesetzte Defekt ist in der Mitte des Präparates zu erkennen (Pfeile).



Abbildung 17: Aufsicht auf die Gelenkfläche. Die Schnittfläche ist rechts.

3.8 Dehydrierung

Nach dem Fixierbad folgte zur Entwässerung für sieben Tage die Lagerung in 70%igem Alkohol²³, sowie die jeweils zwei Mal durchgeführte, siebentägige Lagerung in 80%igem und 96%igem Alkohol. Dann wurden die Präparate drei Mal für jeweils sieben Tage in 100%igem Alkohol eingelegt. Abschließend folgte zum Entfetten der Präparate die Einbettung in 100%igem Xylol²⁴ für 4 h, sowie die Überführung in Präinfiltrationslösung²⁵ und Infiltrationslösung für jeweils sieben Tage.

Um eine komplette Infiltration der Präparate zu gewährleisten und die Bildung von Luftblasen zu verhindern, wurden die Präparatgläser die ganze Zeit über auf einem Schüttler bewegt.

3.9 Einbetten

Die Präparate wurden für die weitere Bearbeitung in einen Kunststoff auf Methylmetacrylat-Basis²⁶ eingebettet. Die Kunststoffmischung polymerisiert bei 0°C unter Luftausschluss aus. Laut Hersteller erlaubt dieser Kunststoff eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Der Kunststoff wurde direkt vor Gebrauch nach Herstellerempfehlung angesetzt.

3.10 Anfertigung von Schnitten

Aus einem kaltpolymerisierenden Kunststoff²⁷ wurde ein Sockel auf die Unterseite der Präparate gegossen. Nach Aushärten des Kunststoffes wurde auf einer Tischschleifmaschine²⁸ das überschüssige Einbettmaterial abgeschliffen und die Ränder begradigt, um eine optimale Fixierung im Mikrotom zu gewährleisten. Auf dem Hartschnitt-Mikrotom²⁹ wurden 6 µm dicke Serienschnitte angefertigt, auf Objektträger aufgezogen und mit 70%igem Alkohol feucht gehalten. Die Schnitte wurden zur Prävention von Faltenbildung mit Streckflüssigkeit³⁰ bedeckt. Nach Auflegen einer Plastikfolie und Filterpapier wurden die Präparate gestapelt und in einer Presse zur schnelleren Trocknung und besseren Haftung zwischen Präparat und Objektträger für zwei Tage im Brutschrank³¹ bei 60° C aufbewahrt.

²³ Herba-Arzneimittel, 12099 Berlin, Deutschland

²⁴ Baker, 7400 AA Deventer, Holland

²⁵ Technovit 9100®, Haraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland

²⁶ Technovit 9100®, Haraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland

²⁷ Technovit 3040®, Haraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland

²⁸ Phoenix 3000, Jean Wirtz GmbH & Co. KG, Düsseldorf, Deutschland

²⁹ Polycut S Heavy-Duty-Mikrotom, Reichert-Jung Cambridge Instr. GmbH, Nussloch, Deutschland

³⁰ 30 ml Butoxyethyl-Acetat, 70 ml 70% Alkohol

³¹ Heraeus Instruments, Kendro Laboratory Products, 63450 Hanau, Deutschland

3.11 Färben der Schnitte

Vor dem Färben wurden die Schnitte dreimal 30 Minuten in MEA³² entplastet. Folgende Färbungen wurden verwendet:

1. Safranin-Orange/von Kossa



Abbildung 18: Safranin-Orange/von Kossa-Färbung; Mineralisierter Knochen ist schwarz, Knorpel und Osteoid rot, Mineralisationsfronten sind schwarz granuliert dargestellt.

Färbereihe Safranin-Orange/von Kossa: (s. Anhang, Tab. 3)

2. Safranin-Orange/Lichtgrün

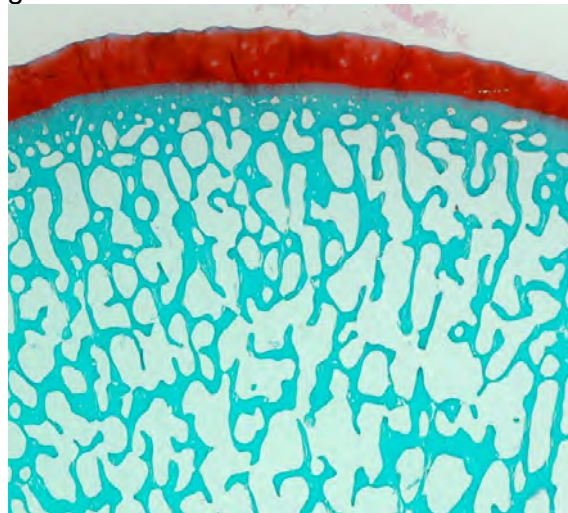


Abbildung 19: Safranin-Orange/Lichtgrün-Färbung; Bindegewebe und Knochen sind grün, Knorpel und Osteoidsäume sowie Zellkerne sind rot dargestellt.

Färbereihe Safranin-Orange/Lichtgrün: (s. Anhang, Tab. 4)

³² 2-Methoxyethylacetat, Merck, Darmstadt, Deutschland

3. Masson-Goldner-Trichrom

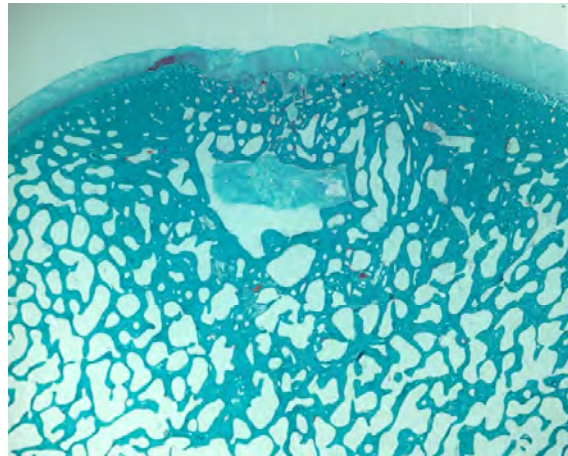


Abbildung 20: Masson-Goldner-Trichrom-Färbung; Zellkerne sind braun-schwarz, Zytoplasma und Osteoid rot, Erythrozyten orangegelb und Bindegewebe sowie mineralisiertes und verkalktes Knochengewebe grün dargestellt.

Färbereihe Masson-Goldner-Trichrom: (s. Anhang, Tab. 5)

3.12 Fotografieren der Schnitte

Alle Fotografien³³ wurden an einem Tag von einer Person angefertigt, um gleiche Präparatausrichtung, Kameraeinstellung und Ausleuchtungsverhältnisse zu gewährleisten. Zusätzlich wurde ein Lineal mit abfotografiert.

3.13 Bildanalyse

In allen Gruppen kamen je Tier sechs Präparate zur Auswertung. Bei diesen handelte es sich um je ein Safranin-Orange/von Kossa- und ein Safranin-Orange/Lichtgrün-gefärbtes Präparat beider Defekte sowie der gesunden rechten Femurkondyle.

Vom rechten Bein wurde immer der dem gefüllten Defekt der linken Seite entsprechende Kondylus verwendet. Die Schnitte stammten aus der Mitte des Defektes $\pm 0,5\text{mm}$. Die histomorphometrische Auswertung erfolgte am Computer. Mit einer Bildanalyse-Software³⁴ wurden die Fotos der Präparate analysiert. Zusätzlich erfolgte eine gleichzeitige visuelle Kontrolle des zu analysierenden Schnittes über ein Lichtmikroskop³⁵.

Die Auswertung der Präparate erfolgte mit einer eigens für dieses Projekt entwickelten Makro.

Die Messung wurde wie folgt durchgeführt:

- Definieren der Größe von 3mm anhand des fotografierten Lineals im Safranin-Orange/von Kossa gefärbten Schnittpräparat. Durch diese Kalibrierung wurden alle Flächen vom Programm in mm^2 berechnet.
- Auswahl der *Region of Interest* (Gille et al.) (Abb. 21, 22) durch den Untersucher am nach Safranin-Orange/von Kossa gefärbten Schnittpräparat. Ein Rechteck mit einer Kantenlänge von 16,3mm x14mm (Leerdefekt) bzw. 15,3mm x14mm (Füllung und Nativ) wurden auf den Defekt gelegt. Die obere Kante des Rechtecks wurde bis auf das Niveau der Gelenkknorpeloberfläche gezogen.

³³ Nikon D70, Tokyo, 100-8331 Japan

³⁴ KS 400, Kontron Elektronik GmbH, 85385 Eching

³⁵ Leica DMRB, Leica, Bensheim

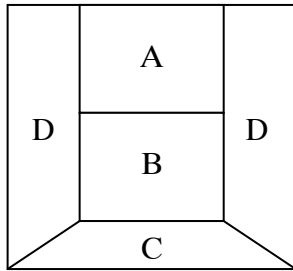


Abbildung 21: Region of Interest, schematisch

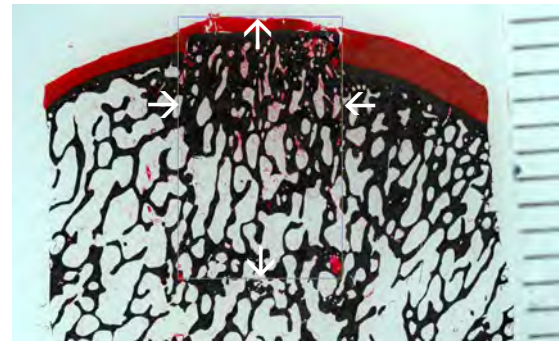


Abbildung 22: Positionieren der ROI auf dem fotografierten Schnitt (Pfeile).

- Der gesamte Hintergrund sowie Artefakte wurden markiert und von der Analyse ausgeschlossen (Abb. 23). Wenn diese Bereiche in der *Region of Interest* lagen, wurde dadurch die Fläche der *Region of Interest* entsprechend verkleinert (Abb. 24).

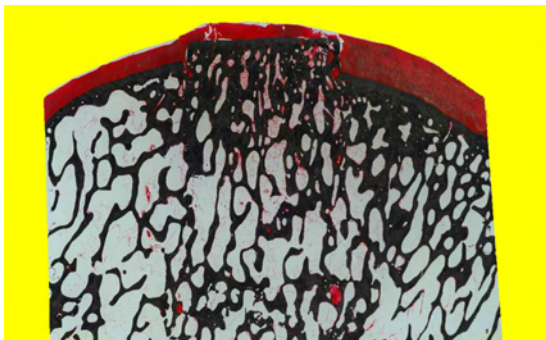


Abbildung 23: Der Hintergrund wurde durch Markierung (gelb) von der Analyse ausgeschlossen.

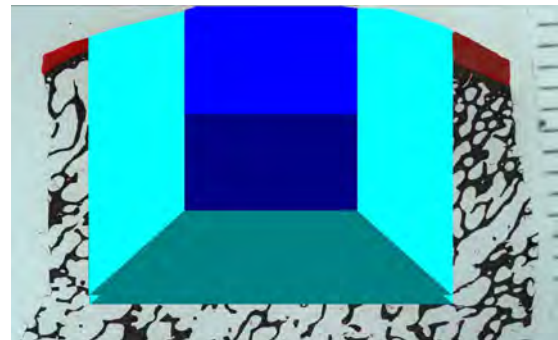


Abbildung 24: Wenn die ROI mit Hintergrund überlappte, wurde der entsprechende Teil der ROI ebenfalls von der Analyse ausgeschlossen.

- Markieren des Knochens und Bindegewebes (Abb. 25,26)

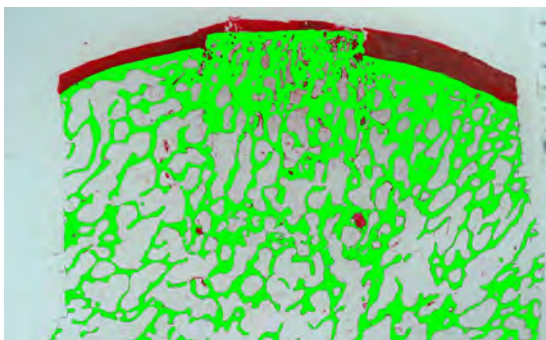


Abbildung 25: Die gesamte Fläche des mineralisierten Knochens wurde markiert (grün).

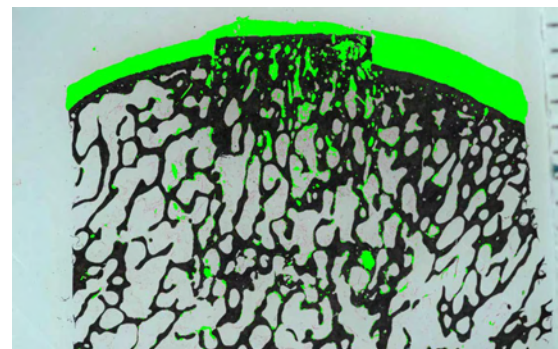


Abbildung 26: Die Gesamtfläche von Knorpel und Bindegewebe wurden markiert (grün).

- Definieren der Größe von 3 mm anhand des fotografierten Lineals im Safranin-Orange/Lichtgrün gefärbten Schnittpräparats.
- Positionieren der *Region of Interest* durch den Untersucher am nach Safranin-Orange/Lichtgrün gefärbten Schnittpräparat. Es wurde genauso vorgegangen wie am Safranin-Orange/von Kossa gefärbten Schnittpräparat (s.Abb. 22).
- Ausschluss von Artefakten von der Analyse (s. Abb. 23).
- Markieren des hyalinen Knorpels. Hierbei wurde einerseits die Farberkennung des Programms genutzt, jedoch zusätzlich manuell unter Kontrolle des Schnittes unter dem Lichtmikroskop³⁶ korrigiert, um eventuelle Fehler durch Entfärbungen oder Fehlanfärbungen auszuschließen.

Folgende Parameter wurden bestimmt:

- Gesamtfläche der ROI (mm²)
- Knochengesamtfläche (mineralisierter Knochen+Lakunen) in der ROI (mm²)
- Mineralisierte Knochenfläche in der ROI (mm²)
- Knochendichte (mineralisierte Knochenfläche/Gesamtknochenfläche) in der ROI (%)
- Gesamtbindegewebe in der ROI (Bindegewebe+hyaliner Knorpel) (mm²)
- Hyaliner Knorpel an der ROI (mm²)
- Anteil hyaliner Knorpel in der ROI (%)
- Errechnung des eigentlichen Bindegewebsanteils durch Subtraktion der Knorpelfläche von der Gesamtbindegewebsfläche
- Nicht-Auffüllung des Defektes

Für die Berechnung der Nicht-Auffüllung des Defektes wurde ein eigenes Makro verwendet. Die Daten wurden mit einer Statistiksoftware³⁷ analysiert.

3.14 Scoren der Defekte

Anhand eines Scores nach dem Vorbild Wakitanis, modifiziert von Pineda (Wakitani et al., 1994) und nach O'Driscoll (O'Driscoll et al., 1988) wurden die nach Safranin-Orange/von Kossa gefärbten Präparate von zwei unabhängigen Untersuchern klassifiziert. Deren Ergebnis wurde pro Präparat und Scorekriterium gemittelt und ausgewertet.

Im ersten Teil des Scores (Score A, Punkte 1-7) wurde die Qualität des neu gebildeten Gewebes im Defektbereich bewertet, im zweiten Teil (Score B, Punkte 8-12) die Integration des Transplantats im umliegenden Gewebe.

Die maximal erreichbare Gesamtpunktzahl betrug 27 Punkte bei Score A und 12 Punkte bei Score B.

Die nativen Präparate erhielten für das gesunde, unveränderte Gewebe jeweils die Höchstpunktzahl.

³⁶ Leica DMRB; Leica, Bensheim

³⁷ SPSS 12.0 for Windows, Microsoft

Score A			
	Kategorie		Punkte
1.	Prozentualer Anteil des hyalinen Knorpels	80%-100%	8
		60%-80%	6
		40%-60%	4
		20%-40%	2
		0%-20%	0
2.	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	
3.	Degenerative zelluläre Veränderungen	Normale Zellularität, keine Cluster	2
		Leichte Hypozellularität, <25% Chondrozytencluster	1
		Moderate Hypozellularität, Hyperzellularität, >25% Cluster	0
4.	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
5.	Rekonstruktion des subchondralen Knochens	Vollständige Rekonstruktion	2
		Mehr als 50% Rekonstruktion	1
		≤50% Rekonstruktion	0
6.	Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und neuem subchondralen Knochen	Vollständig und ununterbrochen	2
		<100% aber >50%	1
		<50%	0
7.	Safranin-Orange Färbung	Mehr als 80% homogene positive Anfärbung	2
		40%-80% homogene positive Anfärbung	1
		<40% homogene positive Anfärbung	0
			Σ 27 (max.)

Tabelle 1: Semiquantitativer Score zur Auswertung der gefärbten Präparate

Score B			
8.	Auffüllung im Defektbereich	91%-110%	4
		76%-90%	3
		51%-75%	2
		26%-50%	1
		<26%	0
9.	Laterale knöcherne Integration	Verbunden auf beiden Seiten	2
		Verbunden auf einer Seite, teilweise auf beiden Seiten	1
		unverbunden	0
10.	Basale Integration	91%-100%	3
		70%-90%	2
		50%-69%	1
		<50%	0
11.	Entzündungsreaktionen	Keine	2
		Gering	1
		Stark	0
12.	Fremdkörperreaktion	Nein	1
		Ja	0
			Σ B 12 (max.)
			Σ A+B 39 (max.)

Tabelle 2: Semiquantitativer Score zur Auswertung der gefärbten Präparate

3.15 Datenauswertung/ Statistische Methoden

Messung der Bodenreaktionskräfte

Während der Messung der Bodenreaktionskräfte wurden von jedem Fuß mindestens acht Abdrücke aufgezeichnet. Die aufgenommenen Rohdaten der Messungen der Bodenreaktionskräfte wurden mit Hilfe der zugehörigen Software³⁸ ausgewertet. Anschließend wurden alle Messergebnisse in prozentualen Bezug zur präoperativen Messung gesetzt.

Histologie

Die wie unter Punkt 3.8-3.11 behandelten Präparate wurden lichtmikroskopisch untersucht und deskriptiv ausgewertet.

Histomorphometrie

In der Histomorphometrie wurden die Gewebeanteile am Computer markiert und erfasst und mit Hilfe eines eigens für dieses Projekt entwickelten Makros errechnet. Die mit Hilfe der Bildanalyse-Software³⁹ ermittelten Ergebnisse wurden die Fotos der Präparate analysiert. Anschließend wurden die Daten mit einer Statistiksoftware⁴⁰ analysiert. Da bei der Auswertung der Gewebeanteile nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann, wurde der Mann-Whitney-U Test angewendet. Die Ergebnisse sind in Balkendiagrammen (Mittelwertdarstellung) dargestellt (Abb.: 38-41).

Scores

Die nach Safranin-Orange/von Kossa gefärbten Präparate wurden von zwei unabhängigen Untersuchern anhand des für dieses Projekt entwickelten Scores klassifiziert. Die Ergebnisse wurde pro Präparat und Scorekriterium gemittelt und wurden mit einer Statistiksoftware ausgewertet.

³⁸ novel-win 7.9, novel GmbH, München, Deutschland

³⁹ KS 400, Kontron Elektronik GmbH, 85385 Eching

⁴⁰ SPSS 12.0 for Windows, Microsoft

4. Ergebnisse

4.1 Messung der Bodenreaktionskräfte

Die aufgenommenen Rohdaten der Messungen der Bodenreaktionskräfte wurden mit Hilfe der zugehörigen Software ausgewertet. Zur weiteren Auswertung kamen die Messgrößen Kontaktfläche, Maximalkraft und Kontaktzeit. Alle Messergebnisse wurden in prozentualen Bezug zur präoperativen Messung gesetzt und mit einer Statistiksoftware analysiert.

Ein Tier der Gruppe SC6 musste von der Auswertung ausgeschlossen werden. Aufgrund der geringen Gruppengröße und der starken Streuung innerhalb der Gruppen wurde auf statistische Tests verzichtet. Diese wären nicht aussagekräftig gewesen und so beschränkt sich die Autorin auf eine rein deskriptive Auswertung der Ergebnisse.

Beide Gruppen zeigten initial einen deutlichen Abfall der Maximalkraft der operierten Gliedmaße, nach drei Monaten erreichten die meisten Tiere jedoch wieder die Ausgangswerte. Die rechte hintere Gliedmaße wurde postoperativ stärker belastet als vor der Operation, diese Mehrbelastung wurde während des gesamten Beobachtungszeitraums gemessen.

In beiden Gruppen nahm die Kontaktfläche der operierten Gliedmaße postoperativ ab, die der rechten Gliedmaße vergrößerte sich, ab dem Zeitpunkt von zwei Monaten wurden in beiden Gruppen wieder Normalwerte erreicht. Auch die Kontaktzeit beider Hintergliedmaßen verkürzte sich in beiden Gruppen postoperativ und blieb bis zum Ende des Beobachtungszeitraums unterhalb des Ausgangswertes (Abb. 27-30).

Eine Auflistung der Mittelwerte, Maximal- und Minimalwerte der einzelnen Parameter in den Gruppen befindet sich im Anhang (Tab. 6).

Es folgt die Darstellung der Ergebnisse in Fehlerbalkendiagrammen. Dargestellt sind Mittelwerte mit einfacher Standardabweichung.

Zusammenfassend ließ sich folgendes feststellen:

- In beiden Gruppen wird die operierte Gliedmaße nach anfänglicher Entlastung ab der zwölften Woche post operationem wieder mit der ursprünglichen Kraft belastet.
- Es gibt keinen Unterschied zwischen den Behandlungsmethoden hinsichtlich der Entwicklung der Maximalkraft der operierten Gliedmaße.
- In beiden Gruppen wird die rechte Gliedmaße während des gesamten Beobachtungszeitraums mehr belastet.
- Die Kontaktfläche der operierten Gliedmaßen verringert sich in beiden Gruppen postoperativ, nach zwei Monaten zeigen jedoch beide Gruppen wieder normale Belastung.
- In beiden Gruppen konnte eine Verkürzung der Kontaktzeit beider Hintergliedmaßen festgestellt werden. Diese hielt während des gesamten Beobachtungszeitraums an.

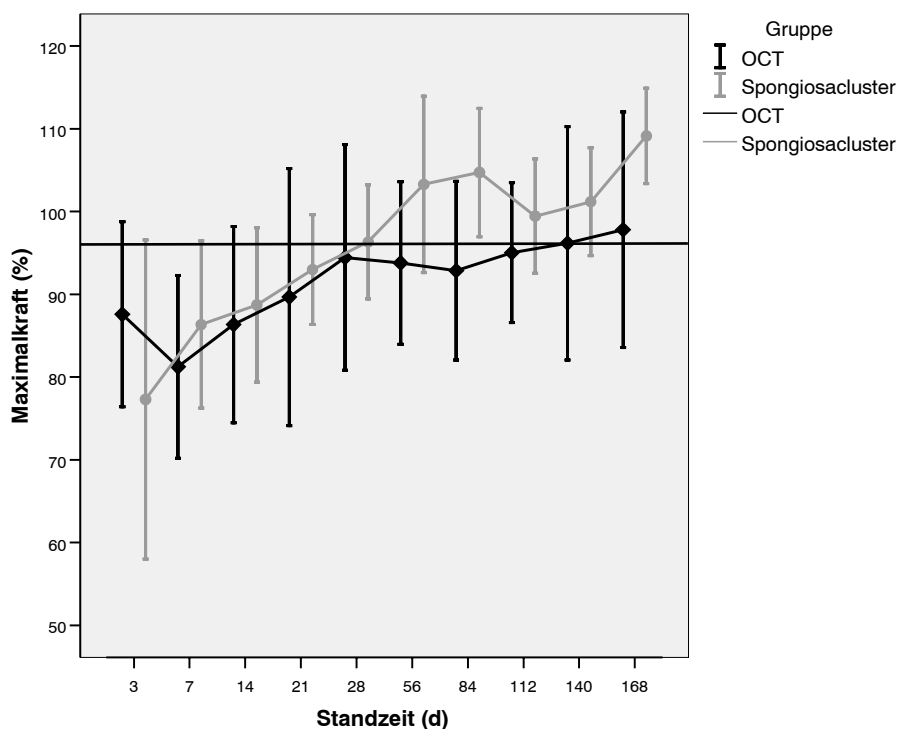


Abbildung 27: Maximalkraft der linken operierten Hintergliedmaße im Gruppenvergleich. Zu erkennen ist eine Entlastung innerhalb der ersten zwei Monate, danach wird die operierte Gliedmaße zunehmend stärker belastet, bis sie nach 12 Wochen wieder die Ausgangswerte erlangt. (Mittelwerte/ einfache Standardabweichung).

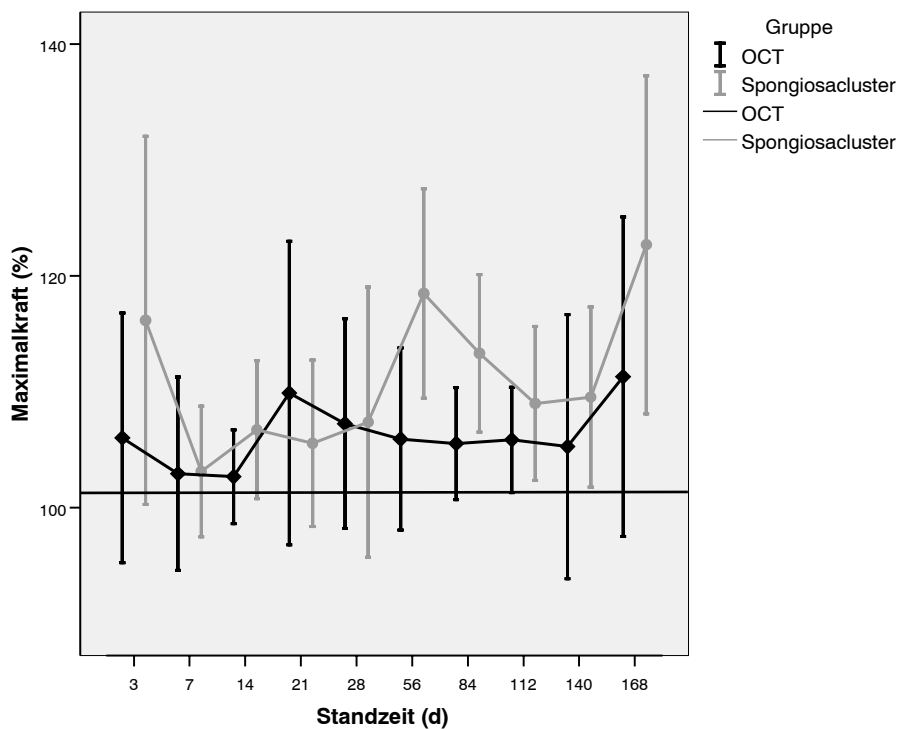


Abbildung 28: Maximalkraft der rechten Hintergliedmaße im Gruppenvergleich. Die gesunde Gliedmaße wird direkt nach der Operation und dann während des gesamten Beobachtungszeitraums mehr belastet. (Mittelwerte/ einfache Standardabweichung).

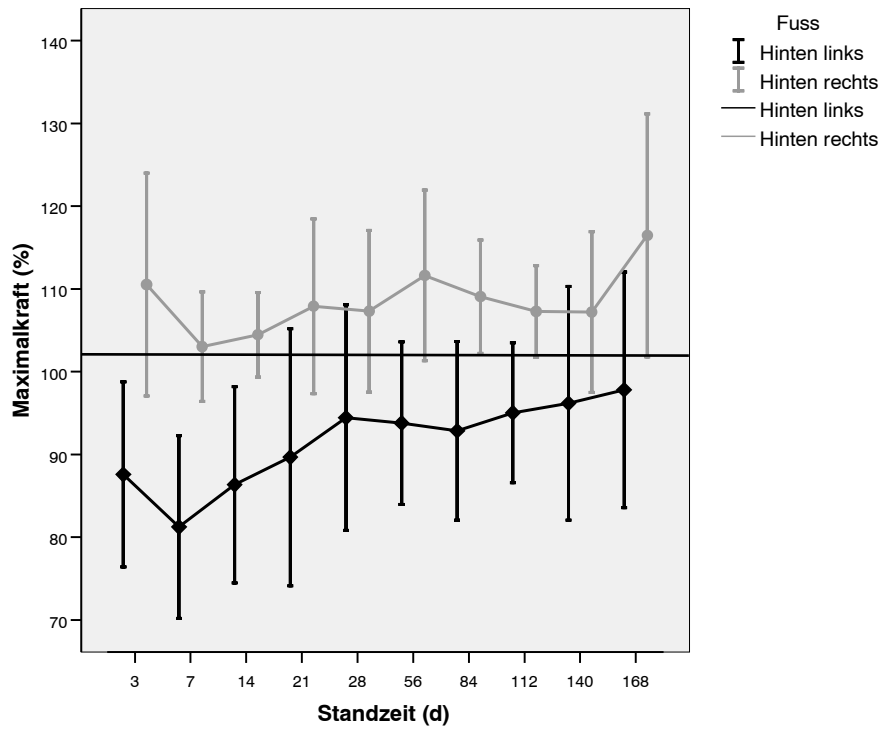


Abbildung 29: Direkter Vergleich der Belastung von operierter (schwarz) und gesunder Hintergliedmaße in der Gruppe B (OCT). (Mittelwerte/ einfache Standardabweichung).

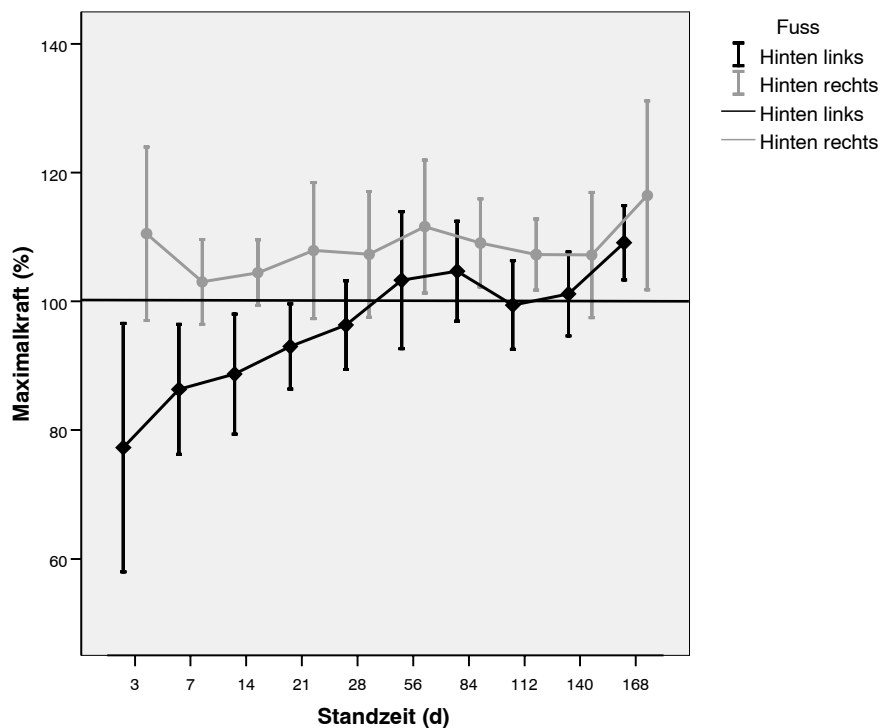


Abbildung 30: Im Vergleich dazu die Entwicklung der Maximalkraft beider Hintergliedmaßen in der Gruppe SC6. Diese Gruppe zeigt zu Beginn des Beobachtungszeitraums verglichen mit Gruppe OCT6 eine etwas stärkere Entlastung der operierten Gliedmaße (schwarz), erreicht jedoch nach zwei Monaten wieder Normalwerte. (Mittelwerte/ einfache Standardabweichung).

4.2 Histologie und Histomorphometrie

Die wie unter Punkt 3.8-3.11 behandelten Präparate wurden lichtmikroskopisch untersucht und die gefüllten Defekte aller vier Gruppen mit den Leerdefekten verglichen. Die Histologie wurde deskriptiv ausgewertet. In der Histomorphometrie wurden die Gewebeanteile wie unter Punkt 3.13 beschrieben am Computer markiert und erfasst. Die mit Hilfe des Makros errechneten Ergebnisse wurden anschließend statistisch ausgewertet.

Histologie

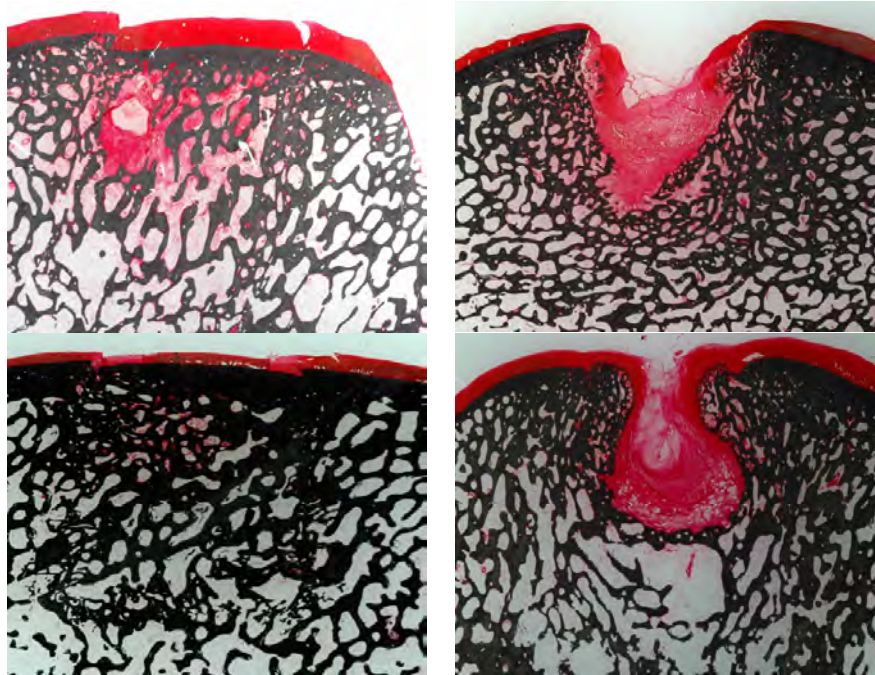


Abbildung 31: Gefüllter Defekt. Von links nach rechts: Osteochondraler Transfer, Spongiosacluster. Oben: nach drei Monaten, Unten: nach sechs Monaten (Safranin-Orange/von Kossa).

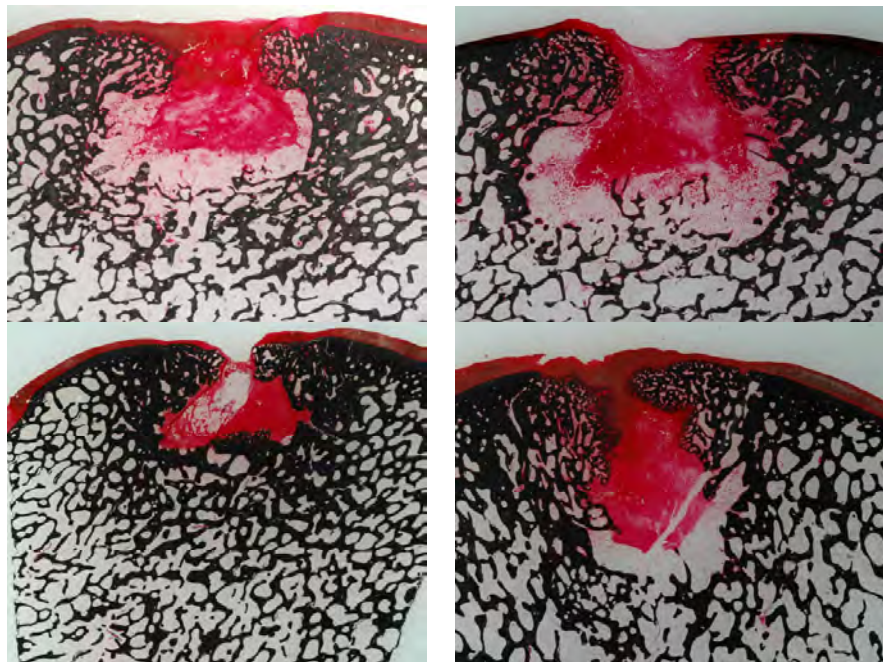


Abbildung 32: Leerdefekt. Von links nach rechts: OCT-Gruppe, SC-Gruppe. Oben: nach drei Monaten, Unten: nach sechs Monaten (Safranin-Orange/von Kossa).

Gefüllte Defekte nach drei Monaten:

In der Gruppe OCT3 war bei allen sechs Präparaten noch der ursprüngliche Defektbereich zu erkennen. Bei fünf Präparaten war das Niveau der Gelenkoberfläche wiederhergestellt, ein Zylinder war im Bohrkanal unter Gelenkniveau eingesunken (Abb. 33 A). In diesem Präparat hatte sich Bindegewebe auf dem eingesunkenen Zylinder gebildet. Bei fünf der sechs Präparate wies die Gelenkoberfläche Unregelmäßigkeiten auf. Der transplantierte Knorpel zeigte in keinem einzigen Präparat Integration in das umliegende gesunde Knorpelgewebe (Abb. 34 C). Eine beginnende basale knöcherne Integration des Transplantates war in fünf Präparaten zu beobachten, deutliche laterale knöcherne Integration in vieren (Abb. 33 B). In einem Präparat war der Defektrand an einer Seite unterhöhlt (Abb. 33 C). Bei den anderen fünf Präparaten schien es, als würde der angrenzende Knorpel in den Defektbereich fließen. Der subchondrale Knochen des transplantierten Zylinders war in allen Präparaten deutlich zu erkennen und vollständig. Bei allen Präparaten waren im Gesamterscheinungsbild vergrößerte Knochenlakunen erkennbar. Diese waren vor allem in der Tiefe der Defekte angesiedelt und teilweise innerhalb transplantierten Zylinder. Die Knochen trabekel im angrenzenden gesunden Gewebe und teilweise auch innerhalb der Implantate erschienen verdickt und ungeordnet im Vergleich zum nativen Gewebe (Abb. 33).

Auch in der Gruppe SC3 war bei allen sechs Präparaten noch der ursprüngliche Defektbereich zu erkennen. Kein einziger Defekt war auf Gelenkflächenniveau aufgefüllt und bei allen wies die Gelenkoberfläche Unregelmäßigkeiten auf. In drei Präparaten war eine deutliche basale und laterale Verbindung zwischen Knochen im Defektbereich und umliegendem gesunden Gewebe erkennbar. In fünf von sechs Präparaten war ein aufeinander Zuwachsen der Defektränder zu beobachten (Abb. 31), in einem Präparat war der knöcherne Defektrand an beiden Seiten unterhöhlt und die Defektränder eingebrochen (Abb. 34 A). Bei allen Präparaten schien es, als würde der angrenzende Knorpel in den Defektbereich fließen. In allen Defekten war auf einer knöchernen Grundlage bindegewebiges Material zu sehen. In drei Präparaten war der Bereich unterhalb der knöchernen Füllung resorbiert und mit Bindegewebe aufgefüllt. Die Knochenlakunen im Defektbereich erschienen in vier Präparaten kleiner als im benachbarten Gewebe. Der subchondrale Knochen an den Defekträndern erschien in allen Präparaten verdickt. In einem Präparat waren auch noch Fadenfragmente und Reste der Kollagenmembran auszumachen (Abb. 36 C, D). Diese befanden sich am Rand und in der Tiefe des Defektes, umgeben von neu gebildetem Gewebe.

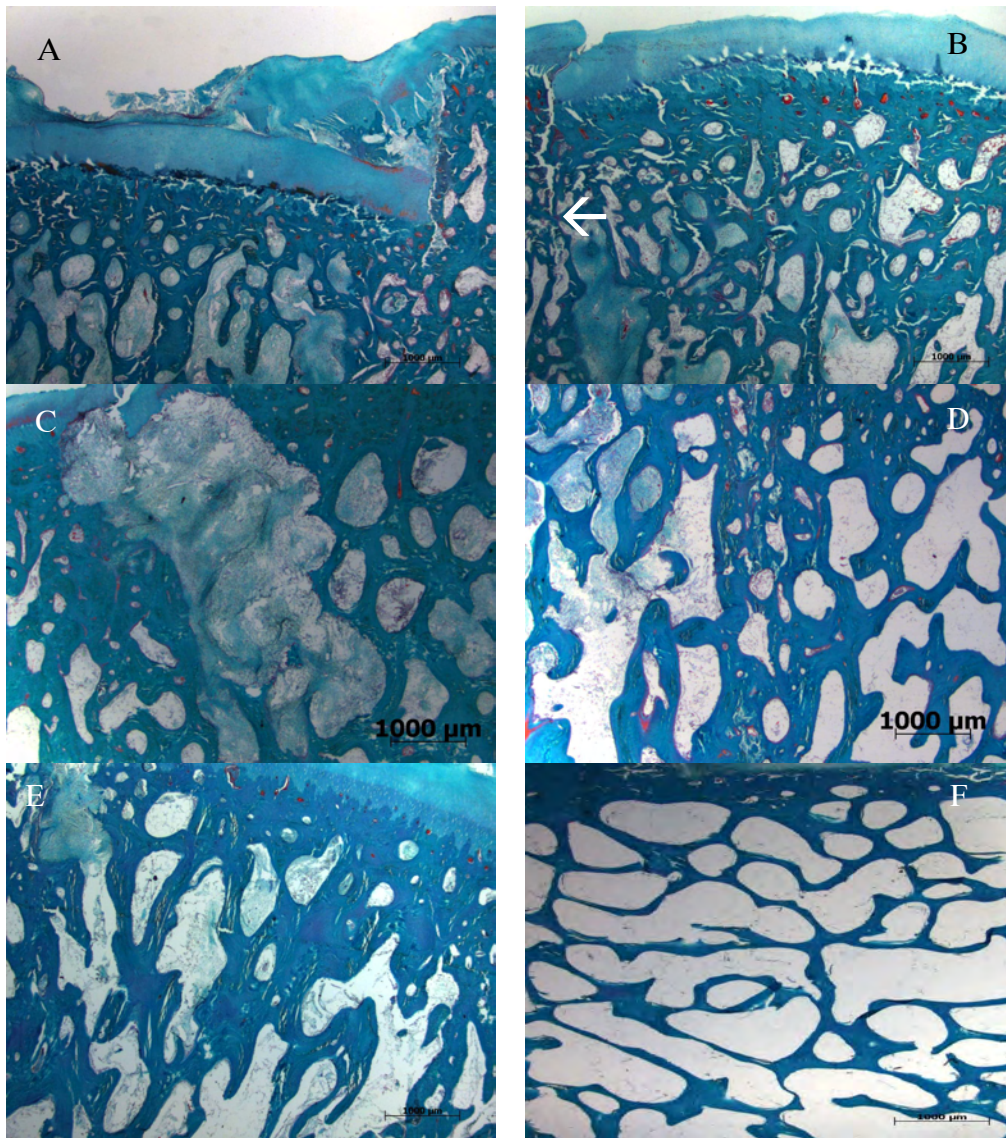


Abbildung 33: **A:** Eingesenkener Zylinder nach 12 Wochen. Links der eingesenkener Zylinder unterhalb des Gelenkniveaus (rechts). Oberhalb des Zylinders füllt Bindegewebe und Knorpel die Lücke bis zur Gelenkfläche aus. (Masson-Goldner, 64x); **B:** Laterale knöchernen Verbindung des transplantierten Zylinders nach 12 Wochen (Pfeil). Der subchondrale Knochen des Zylinders erscheint verdickt. (Masson-Goldner, 64x); **C:** Bindegewebig gefüllter Hohlraum zwischen transplantiertem Zylinder und umliegendem Gewebe (lateral). OCT, 12 Wochen, Masson-Goldner, 64x); **D:** Vergrößerte Lakunen im Zylinder (links) im Vergleich zum umliegendem Gewebe (rechts). (OCT, 12 Wochen, Masson-Goldner, 64x); **E:** Verdickte Trabekel im transplantierten Zylinder. (OCT, 12 Wochen, Masson-Goldner, 64x); **F:** Normale Trabekel im gesunden Gewebe. (OCT, 12 Wochen, Masson-Goldner, 64x)

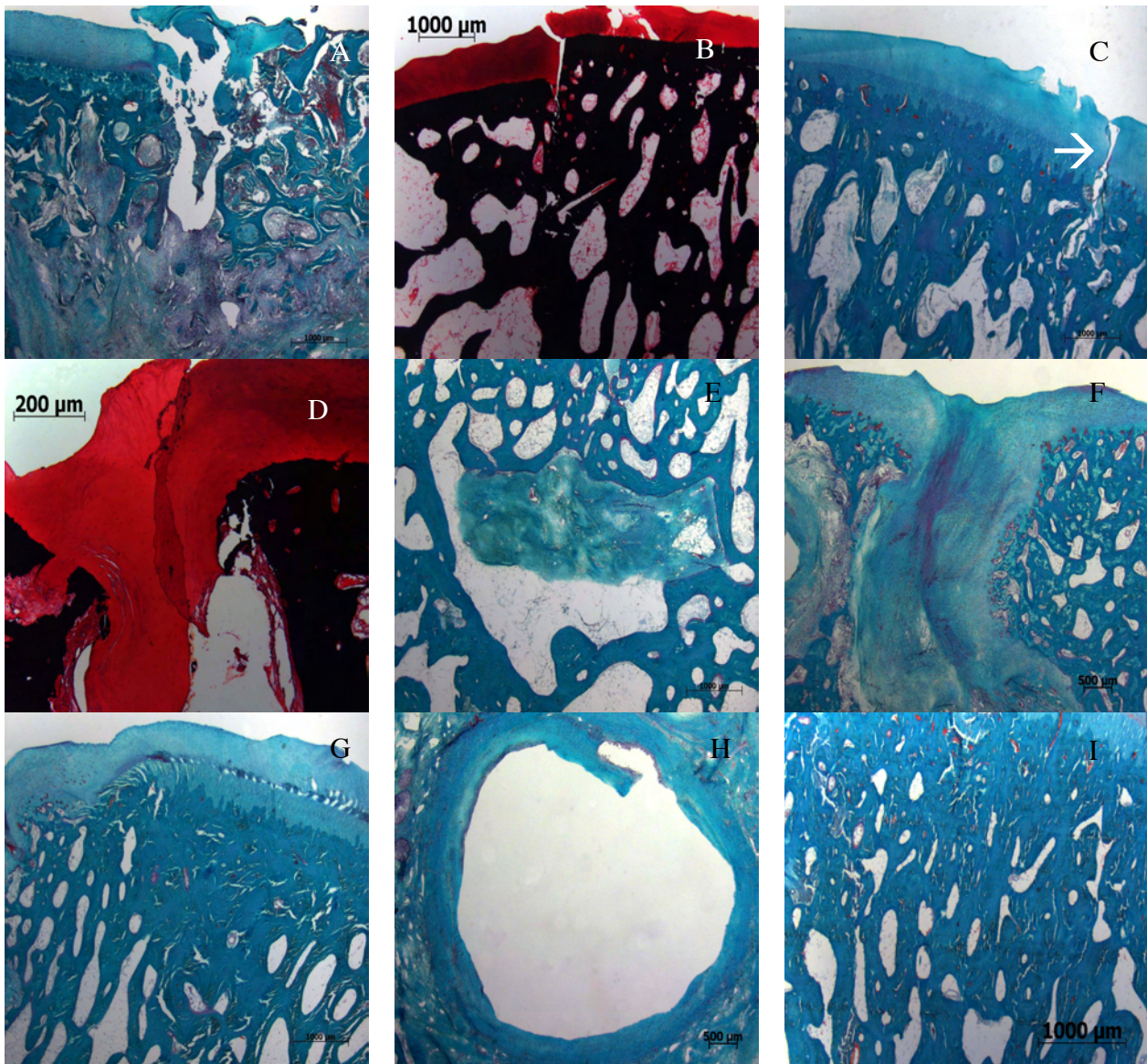


Abbildung 34: **A:** Unterhöhlter, umliegender Knochen (links) und eingebrochener Defektrand. (OCT, 12 Wochen, Masson-Goldner, 64x); **B:** Der transplantierte Zylinder (rechts) ragt etwas über das Gelenkknorpelniveau hinaus. (OCT, 24 Wochen, Safranin-Orange/von Kossa, 64x); **C:** Der knorpelige Anteil des Zylinders zeigt keine Integration im gesunden Knorpel (Pfeil). (OCT, 12 Wochen, Masson-Goldner, 64x); **D:** Der Knorpel (rot) des Defektrandes (rechts) „fließt“ in den Defektbereich. (OCT, 24 Wochen, Safranin-Orange/von Kossa, 400x); **E:** Mit Bindegewebe gefüllter Hohlraum unter dem lateral gut integrierten Zylinder. (OCT, 24 Wochen, Masson-Goldner, 64x); **F:** Hauptsächlich bindegewebig aufgefüllter Defekt (Füllung) nach 6 Monaten. Deutlich zu erkennen ist das aufeinander Zuwachsen der Defektränder. (SC, Masson-Goldner, 64x); **G:** Verdickter subchondraler Knochen am Defektrand (rechts). (SC, Füllung, 6 Monate, Masson-Goldner, 64x); **H:** Hohlraumbildung in der Defekttiefe. (SC, Füllung, 6 Monate, Masson-Goldner, 64x); **I:** Verdickte Trabekel im Defektbereich. (SC, Füllung, 6 Monate, Masson-Goldner, 100x)

Gefüllte Defekte nach sechs Monaten:

In der Gruppe OCT6 war nur noch bei drei Präparaten der ursprüngliche Defektbereich deutlich zu erkennen. Bei vier Präparaten war das Niveau der Gelenkoberfläche wiederhergestellt, bei zwei Präparaten ragte die Füllung leicht über das Niveau hinaus (Abb. 34 B). Bei vier von sechs Präparaten wies die Gelenkoberfläche Unregelmäßigkeiten auf. In keinem einzigen Präparat zeigte der transplantierte Knorpel Integration im umliegenden Knorpel. Der basale Teil aller Transplantate war komplett knöchern im umliegenden Gewebe integriert und auch die laterale knöcherne Integration war in allen Präparaten weitgehend abgeschlossen. Bei vier Präparaten schien es, als würde der angrenzende Knorpel in den Defektbereich fließen (Abb. 34 D). Ein Präparat enthielt in der Tiefe des Defektes einen mit Bindegewebe gefüllten Hohlraum (Abb. 34 E). Der subchondrale Knochen des transplantierten Zylinders war in zwei Präparaten nicht mehr erkennbar, in drei Präparaten erschien er deutlich dicker als der subchondrale Knochen des angrenzenden Gewebes. Auch nach sechs Monaten erschienen die Trabekel im Transplantat im Vergleich zum umliegenden Gewebe ungeordnet. Die Safranin-Orange-Anfärbung war an den Defekträndern und im transplantierten Knorpel etwas schwächer als nach drei Monaten.

In der Gruppe SC6 war bei allen sechs Präparaten noch der ursprüngliche Defektbereich zu erkennen. Bei allen Präparaten wies die Gelenkoberfläche Unregelmäßigkeiten auf, bei zwei Präparaten war das Niveau der Gelenkfläche wieder hergestellt. Eine fortschreitende knöcherne basale Auffüllung des Defektes war in fünf Präparaten zu beobachten, deutliche laterale knöcherne Integration in allen sechs. In allen Präparaten wuchsen die Defektränder deutlich aufeinander zu. In allen Defekten war auf einer knöchernen Grundlage bindegewebiges Material zu sehen, jedoch weniger großflächig als nach drei Monaten. In drei Präparaten waren recht große, bindegewebig gefüllte Hohlräume in der Tiefe des Defektes zu erkennen (Abb. 34 H). Die Trabekel im Defektbereich aller Präparate waren ungeordnet und im Vergleich zum umliegenden Gewebe verdickt (Abb. 34 I).

Leerdeffekte nach drei Monaten:

In der Gruppe OCT3 war bei allen sechs Präparaten noch der ursprüngliche Defektbereich zu erkennen. Zwei Präparate (Abb. 35 A, B) waren auf das Niveau der Gelenkoberfläche aufgefüllt, eines dieser Präparate zeigte sowohl basale als auch laterale knöcherne Zubildungen im Defekt. Bei den anderen vier Präparaten waren nur laterale knöcherne Zubildungen im oberen Bereich des Defektes zu erkennen (Abb. 35 C). Hier war der Defekt hauptsächlich bindegewebig aufgefüllt. Die neu gebildete Gelenkoberfläche wies bei allen Präparaten Unregelmäßigkeiten auf. In allen Präparaten war ein deutliches aufeinander Zuwachsen der Defektränder zu beobachten. Bei allen Präparaten schien es, als würde der angrenzende gesunde Knorpel in den Defektbereich fließen (Abb. 35 D). Bei einem Präparat kam es in der Tiefe des Defektes zur Bildung eines mit Bindegewebe gefüllten Hohlraums (Abb. 35 E). Die Trabekel im neu gebildeten Knochen schienen ungeordnet, die Zwischenräume verhältnismäßig klein. Unmittelbar an den Defekträndern war der subchondrale Knochen bei allen Präparaten verdickt.

Auch in der Gruppe SC3 war bei allen sechs Leerdefekten noch der ursprüngliche Defektbereich zu erkennen. Bei einem Präparat war das Niveau der Gelenkoberfläche durch bindegewebige Auffüllung wiederhergestellt. Bei den anderen Präparaten waren nur laterale knöcherne Zubildungen im oberen Bereich des Defektes zu erkennen. In vier Präparaten war der Defekt hauptsächlich bindegewebig aufgefüllt. Die neu gebildete Gelenkoberfläche wies bei allen Präparaten Unregelmäßigkeiten auf. In allen Präparaten war ein deutliches aufeinander Zuwachsen der Defektränder zu beobachten (Abb. 31, 32). Bei allen Präparaten schien es, als würde der angrenzende gesunde Knorpel in den Defektbereich fließen. Bei einem Präparat kam es in der Tiefe des Defektes zur Bildung eines mit Bindegewebe gefüllten Hohlraums (Abb. 35 F). Die Trabekel im neu gebildeten Knochen schienen ungeordnet, die Zwischenräume erschienen verhältnismäßig klein. Unmittelbar an den Defekträndern war der subchondrale Knochen bei allen Präparaten verdickt.

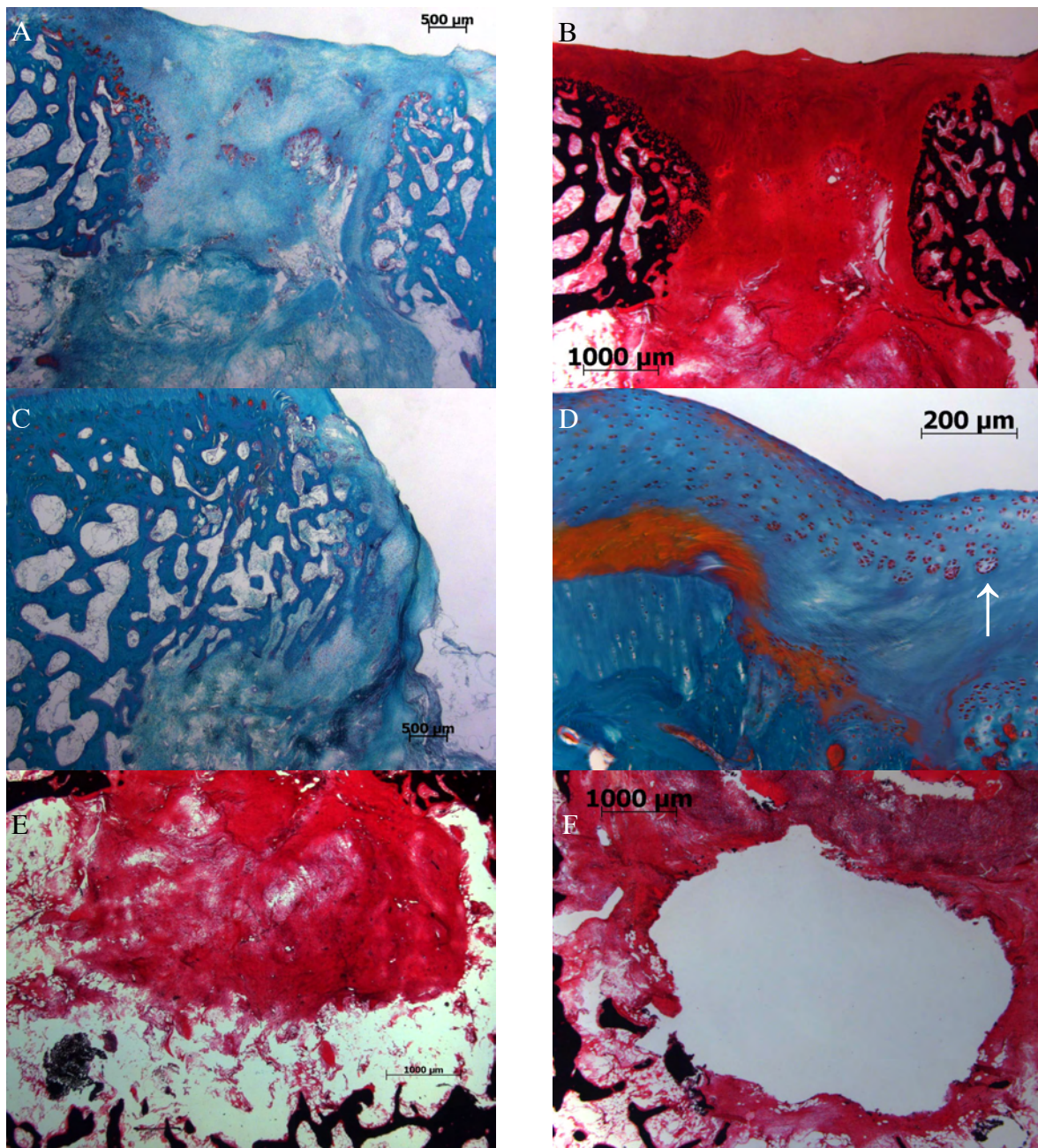


Abbildung 35: **A:** Bindegewebig und knorpelig aufgefüllter Leerdefekt nach 12 Wochen. (OCT, Masson-Goldner, 64x); **B:** Aufgefüllter Leerdefekt nach 12 Wochen. Deutlich zu erkennen sind die lateralen knöchernen Zubildungen (schwarz). (OCT, Safranin-Orange/von Kossa, 64x); **C:** Leerdefekt nach 12 Wochen: knöcherner, laterale Zubildung am Defektrand (links). (OCT, Masson-Goldner, 64x); **D:** Links der Randbereich des gesunden Gewebes, rechts ein Leerdefekt nach 12 Wochen. Der Gelenkknorpel (links) scheint in den Defektbereich zu fließen. Deutlich zu erkennen sind zahlreiche Chondrozytencluster (Pfeil). (OCT, Safranin-Orange/Lichtgrün, 400x)

Hohlraumbildung in der Tiefe:

E: Leerdefekt, OCT, 12 Wochen, Safranin-Orange/von Kossa, 64x

F: Leerdefekt, SC, 12 Wochen, Safranin-Orange/von Kossa, 64x

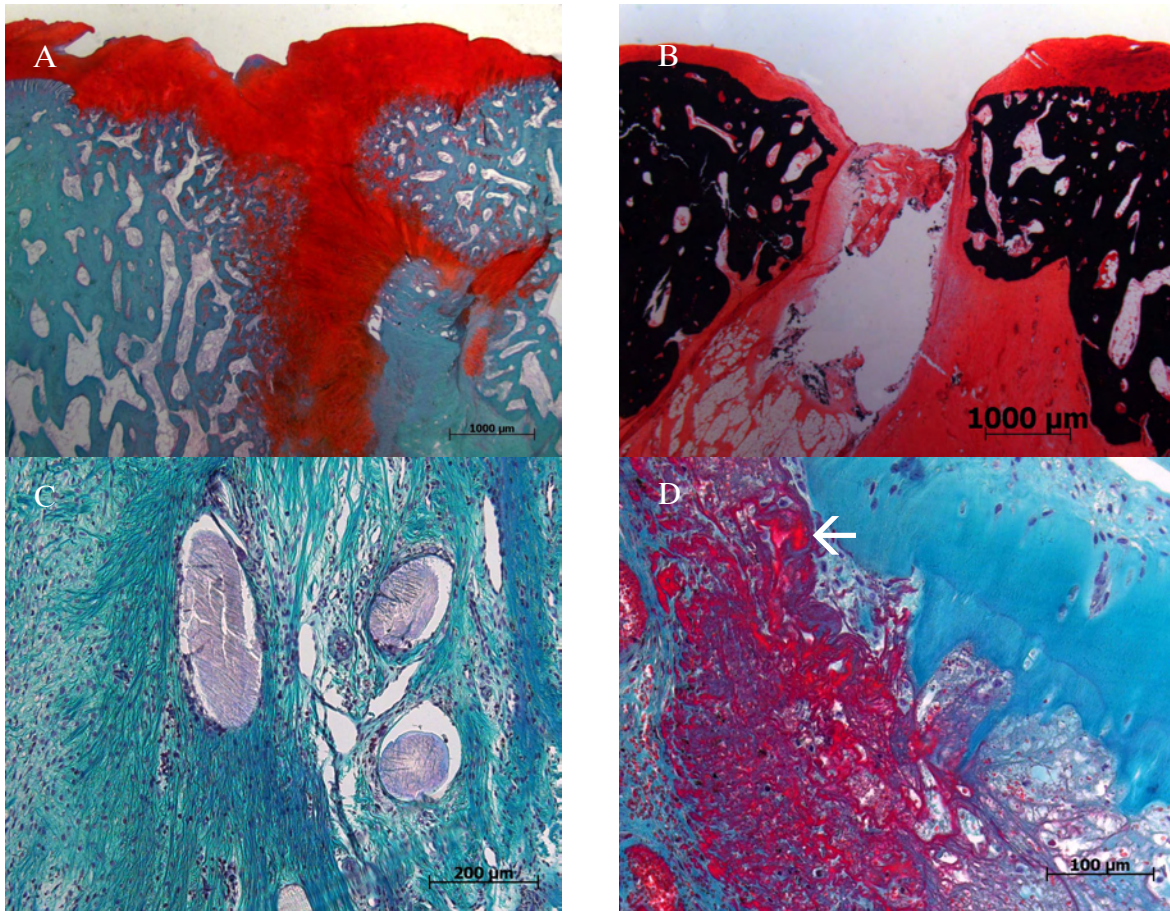


Abbildung 36: **A:** Auf Gelenkniveau aufgefüllter Leerdefekt nach sechs Monaten. Deutlich zu erkennen sind die lateralen knöchernen Zubildungen und die bindegewebige Auffüllung (rot). (SC, Safranin-Orange/Lichtgrün, 64x); **B:** Fast geschlossener Leerdefekt nach sechs Monaten. An der Oberfläche knöchernen Brückenbildung (schwarz), in der Tiefe Hohlrumbildung. (OCT, Safranin-Orange/von Kossa, 64x); **C:** Fadenreste am Rand des gefüllten Defektes nach 12 Wochen, umgeben von neu gebildetem Gewebe. (SC, Masson-Goldner, 400x); **D:** Rot angefärbte Reste (Pfeil) der aufgenähten Kollagenmembran zwischen neu gebildetem Gewebe in der Tiefe des gefüllten Defektes nach 12 Wochen. (SC, Masson-Goldner, 800x)

Leerdefekte nach sechs Monaten:

Nach sechs Monaten war in der Gruppe OCT6 bei allen unversorgten Defekten der ursprüngliche Defektbereich noch zu erkennen. Drei Präparate waren auf das Niveau der Gelenkoberfläche aufgefüllt. Zwei Präparate zeigten basale knöcherne Auffüllung im Defekt, bei allen waren laterale knöcherne Zubildungen erkennbar. In vier Fällen kam es zur knöchernen Brückenbildung (Abb. 37) im oberen Defektbereich mit Hohlraumbildung in der Tiefe. Die neu gebildete Gelenkoberfläche war bei allen Präparaten unregelmäßig. In zwei Präparaten war der Defekt hauptsächlich bindegewebig aufgefüllt. In allen Präparaten war ein deutliches aufeinander Zuwachsen der Defektränder zu beobachten. Auch hier schien der angrenzende gesunde Knorpel bei allen Präparaten in den Defektbereich zu fließen. Die Trabekel im neu gebildeten Knochen schienen ungeordnet, teilweise verdickt und die Knochenlakunen kleinlumiger als im gesunden Gewebe. Unmittelbar an den Defekträndern war auch hier der subchondrale Knochen bei allen Präparaten verdickt.

In der Gruppe SC6 war ebenfalls in allen Fällen noch der ursprüngliche Defektbereich zu erkennen. Hier zeigten drei Präparate Defektauffüllung auf das ursprüngliche Gelenkniveau (Abb. 36 A). Die Gelenkoberfläche wies bei allen Präparaten Unregelmäßigkeiten auf. In keinem Präparat zeigte sich basale knöcherne Auffüllung, deutliche laterale knöcherne Zubildungen waren jedoch in allen Präparaten zu erkennen. Alle Präparate zeigten ein aufeinander Zuwachsen der Defektränder, in zwei Fällen kam es in der Nähe der Gelenkfläche zu einer knöchernen Brückenbildung. In fünf Defekten war hauptsächlich bindegewebiges Material zu sehen. In einem Fall kam es zu einer abgeschlossenen Hohlraumbildung in der Defekttiefe. Auch in dieser Gruppe schien der angrenzende gesunde Knorpel in allen Fällen in den Defektbereich zu fließen. Die Trabekel des neu gebildeten Knochens waren auch hier eher unorganisiert, verdickt und im Vergleich zum umliegenden Gewebe sehr dicht angeordnet. Im Bereich der Defektränder fiel bei allen Präparaten eine Verdickung des subchondralen Knochens auf.

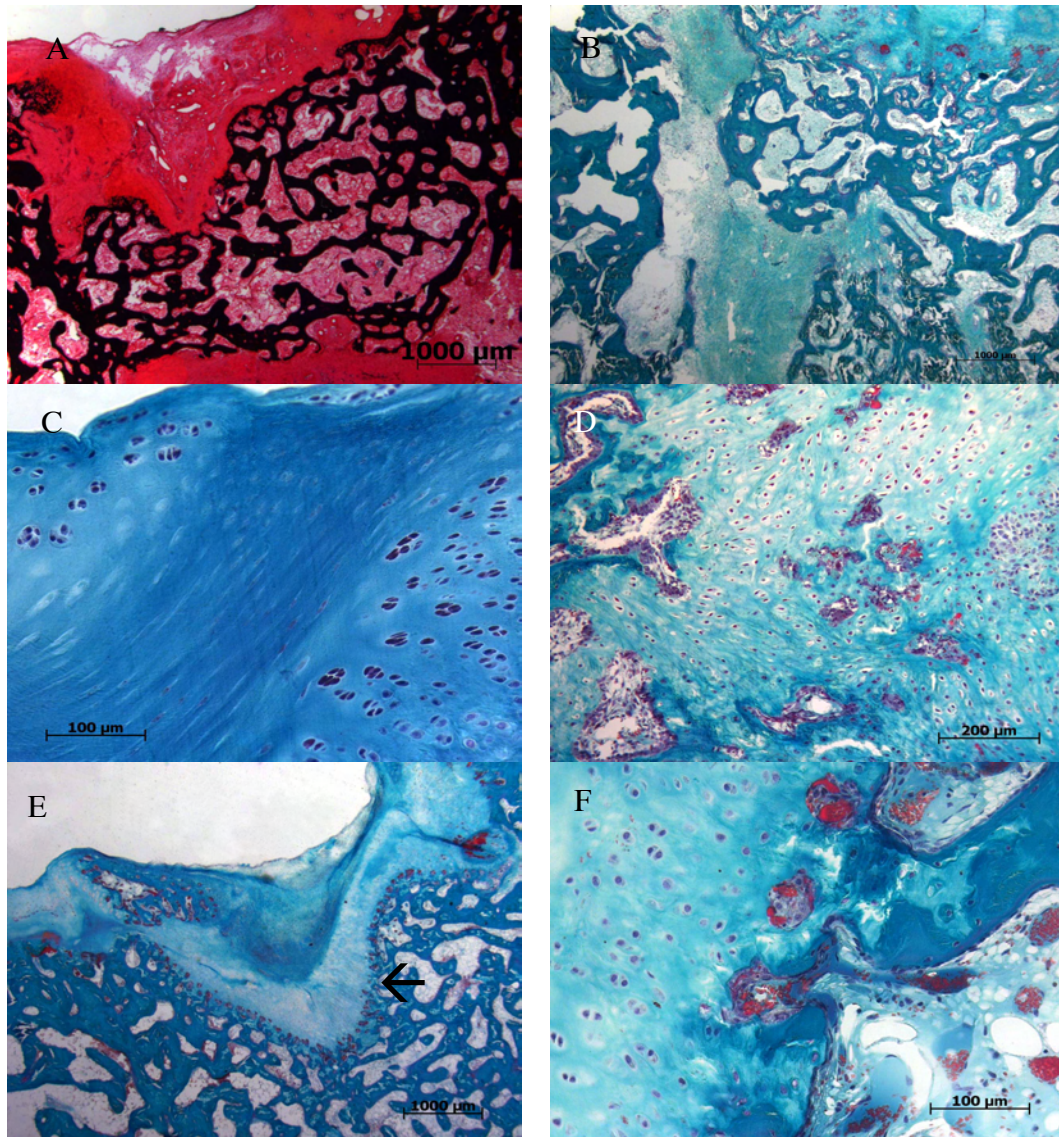


Abbildung 37: **A:** Brückenbildung (schwarz) im proximalen Defektbereich eines Leerdefektes nach 12 Wochen. (SC, Safranin-Orange/von Kossa, 64x); **B:** Defekttiefe eines gefüllten Defektes nach 12 Wochen: totes Knochengewebe (links) und Neubildung (rechts). (SC, Masson-Goldner, 64x); **C:** Links: Knorpel des gesunden Defektrandes mit deutlicher Clusterbildung; Rechts: neu gebildetes, teils bindegewebiges, teils knorpeliges Gewebe. (Leerdefekt, SC, 3 Monate, Masson-Goldner, 800x); **D:** Hohe Zellaktivität in der Defekttiefe. (Füllung, SC, 3 Monate, Masson-Goldner, 400x); **E:** Basale, knöcherne Auffüllung (Pfeil) des Leerdefektes nach sechs Monaten. (OCT, Masson-Goldner, 64x); **F:** Enchondrale Ossifikation in der Tiefe eines Leerdefektes nach sechs Monaten. (OCT, Masson-Goldner, 800x)

Zusammenfassung

Generell zeigten alle Leerdefekte laterale Zubildungen, die vorzugsweise proximal im Defekt zu finden waren (Abb. 37 A). Basale Zubildungen waren ebenfalls zu erkennen, nach sechs Monaten deutlicher ausgeprägt als nach drei Monaten. Die Leerdefekte waren hauptsächlich mit Bindegewebe aufgefüllt. In keinem einzigen Leerdefekt kam es zur Wiederherstellung einer physiologischen Gelenkoberfläche. Die Füllungen zeigten im Gegensatz dazu einige Unterschiede. Die transplantierten Zylinder waren in den Gruppen OCT nach sechs Monaten stärker in das umliegende Gewebe integriert als nach drei Monaten, wenn auch der

transplantierte Knorpel keine Integration zeigte. Sowohl der transplantierte Knorpel, als auch der gesunde Knorpel des Defektrandes zeigten in allen Präparaten Clusterbildung und Verlust der gewebetypischen Struktur. In den Gruppen Spongiosacluster waren die Füllungen nach sechs Monaten stärker umgebaut als nach drei Monaten, in vielen Bereichen zeigte sich massive Ossifikationsaktivität und die Grenze zwischen umliegendem Gewebe und Füllung war schwieriger auszumachen (Abb. 37). Die Technik der OCT führte zu einer nahezu vollständigen Wiederherstellung der Gelenkfläche, in den Gruppen SC war im Bereich des gefüllten Defektes in den meisten Fällen keine Auffüllung auf Gelenkflächenniveau zu erkennen. Die Knochen trabekel waren bei allen Präparaten im Defektbereich ungeordneter und dicker als im gesunden Gewebe, außerdem war der subchondrale Knochen dieser Region verdickt.

Histomorphometrie

Anhand der Ergebnisse der Bildanalyse wurden für jede Gruppe die Mediane der prozentualen Gewebeanteile in jedem Bereich der *Region of interest* berechnet (s. Anhang, Tab. 7). Die unter Punkt 3.13 beschriebene ROI wurde in zwei Teilbereiche zusammengefasst: ROI AB beschrieb den Defektbereich, ROI CD das basal und lateral angrenzende Gewebe. Gemessen wurden der Anteil mineralisierten Knochens, des Knorpelgewebes, des Bindegewebes sowie der Leerfläche, die den nicht aufgefüllten Anteil des Defektes beschreibt und einem Restanteil, der die Fläche der Knochenlakunen beinhaltet. Die vorhandenen Daten wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests (nichtparametrischer Test für unabhängige Stichproben) unter folgenden Gesichtspunkten analysiert:

Einfluss der Therapie (s. Anhang, Tab. 8):

Drei Monate, Füllung:

Nach drei Monaten wurde in der Gruppe OCT3 im Defektbereich ein signifikant höherer Knochenanteil als in der anderen Gruppe gemessen ($p=0,004$). Ebenfalls signifikant höher waren der Anteil an hyalinem Knorpel ($p=0,01$) und der unter „Rest“ beschriebener Raum der Knochenlakunen ($p=0,006$).

In der Gruppe SC3 hingegen waren der Bindegewebsanteil ($p=0,016$; CD, $p=0,025$) und der Anteil der nicht aufgefüllte Fläche ($p=0,004$) im Defektbereich signifikant höher.

Sechs Monate, Füllung:

Auch nach sechs Monaten war der Knochenanteil in der Gruppe OCT6 im Defektbereich signifikant höher als in der anderen Gruppe ($p=0,006$). Der Anteil der unter „Rest“ beschriebenen Knochenlakunen war in dieser Gruppe ebenfalls signifikant höher als in der Gruppe SC6 ($p=0,025$).

In der Gruppe SC6 hingegen war der Bindegewebsanteil ($p=0,016$) und die nicht aufgefüllte Fläche ($p=0,004$; CD, $p=0,034$) signifikant höher.

Es wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Anteils hyalinen Knorpels zwischen den beiden Therapieformen festgestellt.

Drei Monate, Leerdefekt:

Weder im Defektbereich noch im umliegenden Gewebe wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der Gewebeanteile festgestellt.

Sechs Monate, Leerdefekt:

Auch nach sechs Monaten war kein signifikanter Unterschied der Gewebeanteile zwischen den Gruppen feststellbar.

Einfluss der Standzeit (s. Anhang, Tab. 9)

Gruppe OCT, Füllung:

Nach drei Monaten Standzeit wiesen die Tiere im umliegenden Gewebe einen signifikant höheren Anteil an Bindegewebe auf als die Tiere mit sechs Monaten Standzeit ($p=0,025$).

Bei allen anderen Gewebekomponenten war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Standzeiten feststellbar.

Gruppe OCT, Leerdefekt:

Nach drei Monaten enthielten die Defektbereiche signifikant mehr Bindegewebe als nach sechs Monaten ($p= 0,037$). Bei allen anderen Gewebekomponenten war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Standzeiten feststellbar.

Gruppe SC, Füllung:

In der Gruppe SC wurde bei den Tieren mit sechs Monaten Standzeit ein signifikant höherer Knorpelanteil im Defektbereich gemessen als nach drei Monaten ($p= 0,01$). Bei allen anderen Gewebekomponenten war kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Standzeiten feststellbar.

Gruppe SC, Leerdefekt:

In den Leerdefekten der Gruppe SC war nach sechs Monaten Standzeit signifikant mehr Knorpelgewebe ($p= 0,037$) sowie ein höherer Auffüllungsgrad ($p= 0,025$) im Defektbereich als nach drei Monaten messbar. Bei allen anderen Gewebekomponenten war auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Standzeiten feststellbar.

Im Folgenden sind die Mediane der einzelnen Gewebekomponenten als Balkendiagramme dargestellt, (Abb. 38- 41).

Zusammenfassend lässt sich folgendes feststellen:

- Es gab, v.a. bei den Gewebeanteilen der Leerdefekte, erhebliche Streuung innerhalb einer Gruppe.
- Sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten enthielten die gefüllten Defekte der Gruppe OCT einen signifikant höheren Knochenanteil als die der Gruppe SC.
- Die Gruppe SC hatte nach drei und sechs Monaten einen signifikant höheren Bindegewebsanteil und geringeren Auffüllungsgrad als die Gruppe OCT.
- In der Gruppe OCT war nach drei Monaten ein signifikant höherer Bindegewebsanteil im umliegenden Gewebe als nach sechs Monaten feststellbar. Dieser höhere Bindegewebsanteil war auch in den Leerdefekten nachweisbar.
- Nach sechs Monaten gab es keinen signifikanten Unterschied mehr zwischen dem Anteil hyalinen Knorpels im Defektbereich zwischen den beiden Therapieformen, jedoch war bei den Tieren der Gruppe SC nach sechs Monaten signifikant mehr Knorpelgewebe messbar als nach drei Monaten.
- Es bestanden weder nach drei noch nach sechs Monaten signifikante Unterschiede zwischen den Leerdefekten bezüglich der Gewebekomponenten in beiden Gruppen.

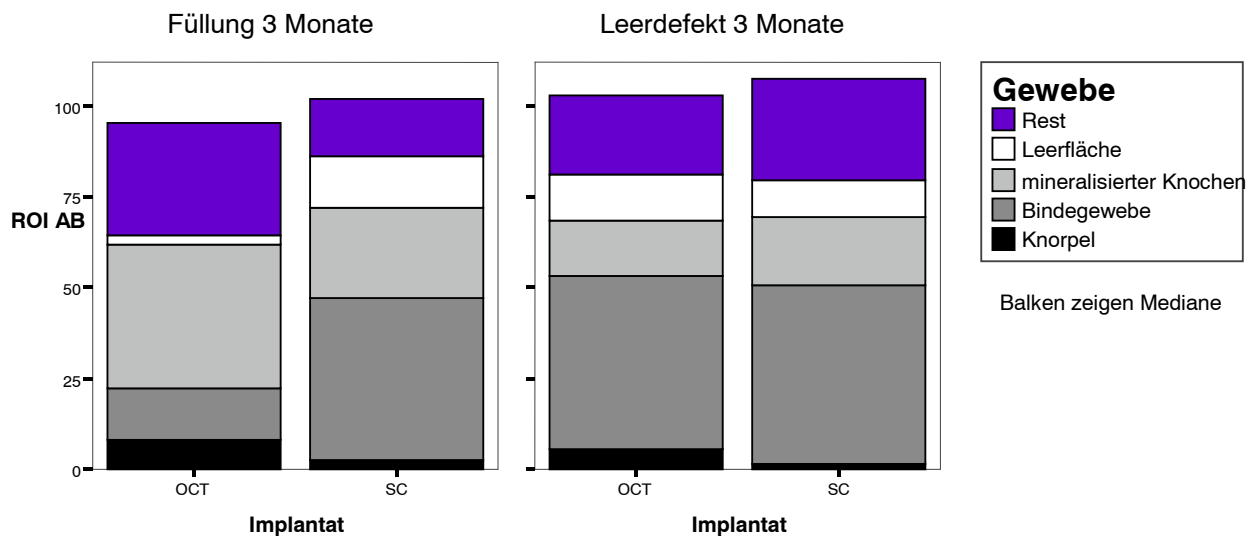


Abbildung 38: Anteile der einzelnen Gewebekomponenten im Defektbereich (Mediane) nach drei Monaten Standzeit. Vergleich zwischen den beiden Implantaten.

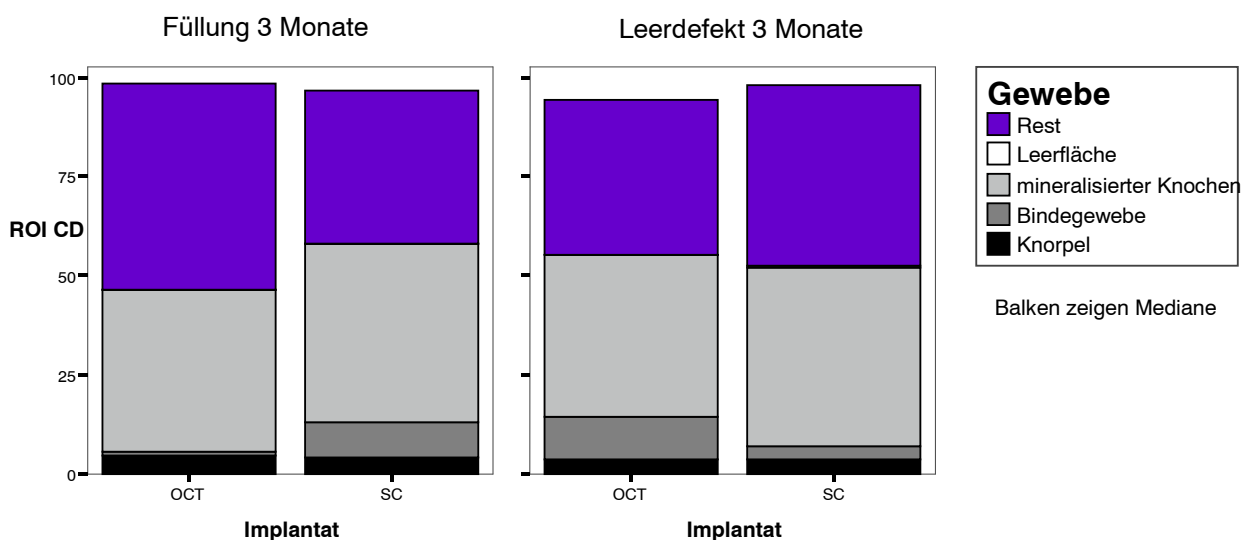


Abbildung 39: Anteile der einzelnen Gewebekomponenten im umliegenden Gewebe (Mediane) nach drei Monaten Standzeit.

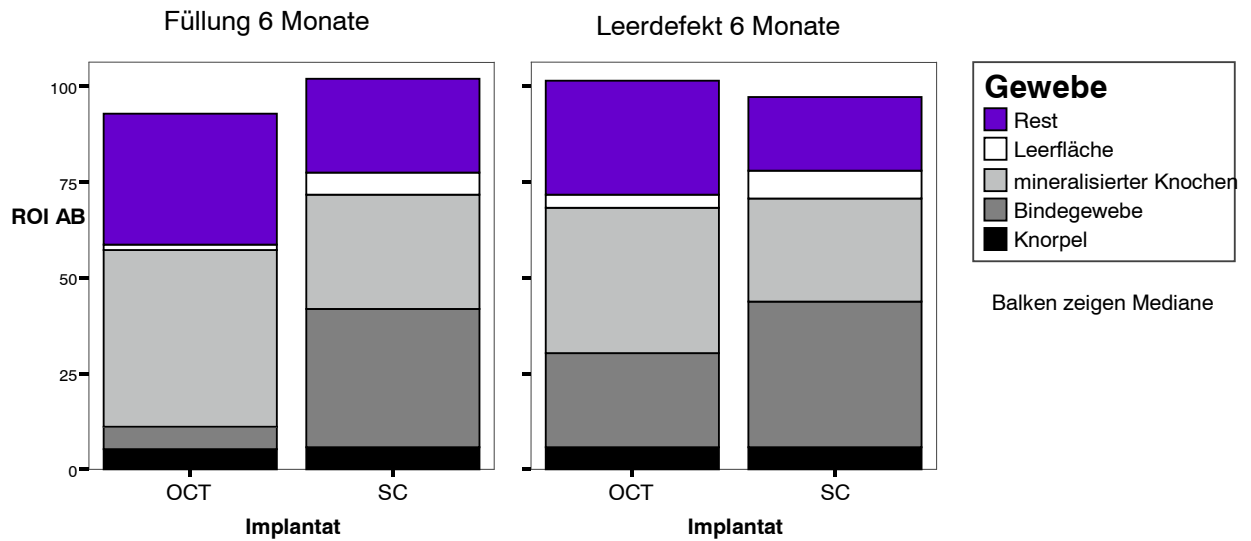


Abbildung 40: Anteile der einzelnen Gewebekomponenten im Defektbereich (Mediane) nach sechs Monaten Standzeit.

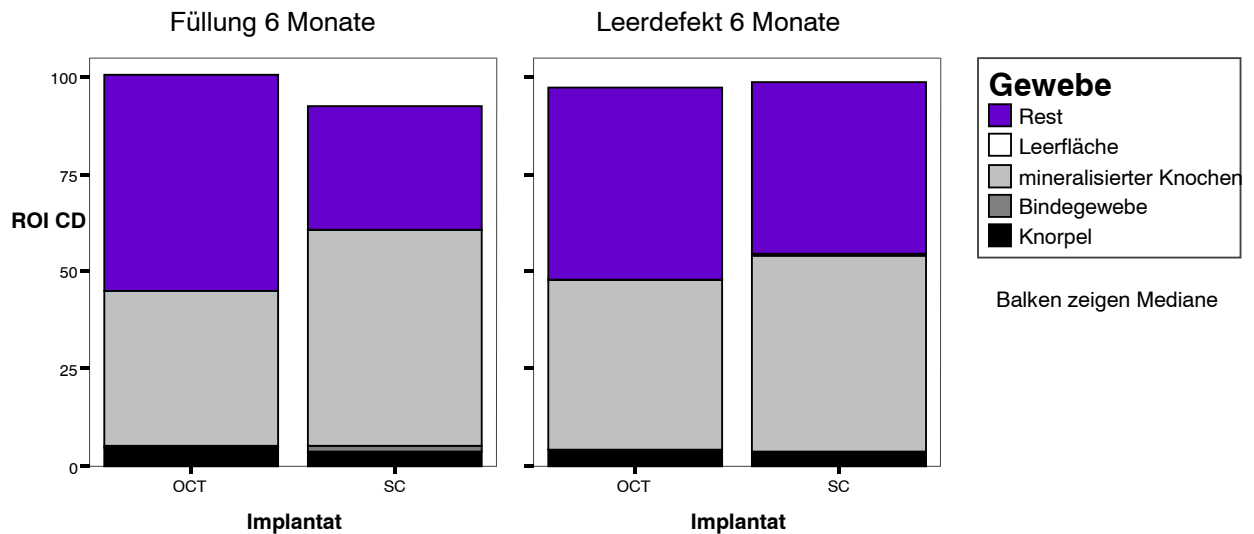


Abbildung 41: Anteile der einzelnen Gewebekomponenten im umliegenden Gewebe (Mediane) nach sechs Monaten Standzeit.

4.3 Scores der Defekte

Die Präparate wurden mit Hilfe des in Punkt 3.14 beschriebenen Scores von zwei voneinander unabhängigen Untersuchern bewertet und deren Ergebnisse gemittelt. Im ersten Teil des Scores (Score A) wurde die Qualität des Gewebes im Defektbereich bewertet. Die Kriterien umfassten hier den prozentualen Anteil hyalinen Knorpels an der Gelenkfläche, die Oberflächenbeschaffenheit, strukturelle Integrität, Knorpeldicke und die Verbindung zum umliegenden gesunden Knorpel sowie degenerative Veränderungen im Transplantat, degenerative Veränderungen im umliegenden gesunden Knorpel, die Rekonstruktion des subchondralen Knochens im Defektbereich, die Verbindung zwischen regeneriertem Knorpel und Knochen, sowie die Safranin-Orange-Anfärbung als Indikator für

den Proteoglykangehalt wurden bestimmt und mit Punkten bewertet. Die insgesamt erreichbare Höchstpunktzahl lag bei 27 Punkten.

Im zweiten Teil (Score B) erfolgte die Bewertung der Integration des Transplantats im umliegenden Gewebe. Die zu bewertenden Kriterien umfassten die Auffüllung im Defektbereich, die laterale und basale Integration sowie Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen und wurden mit Punkten bewertet. Die insgesamt erreichbare Höchstpunktzahl betrug 12.

Die anhand des Scores ermittelten Punktwerte der einzelnen Kriterien mit Minimal- und Maximalwerten sowie der Mediane der Gruppen OCT und SC zu den Standzeiten drei und sechs Monate sind in einer Tabelle im Anhang dargestellt (Tab. 10, 11).

Anschließend wurden die ermittelten Daten mit einer Statistiksoftware analysiert (s. Anhang, Tab. 12 und 13)

Score A

Prozentualer Anteil hyalinen Knorpels

Gefüllte Defekte:

In diesem Punkt wurde nur hyaliner Knorpel bewertet, der sich auf Gelenkflächenniveau befand und funktionellen Anteil an der Gelenkfläche bildete. Die gefüllten Defekte der Gruppe OCT erreichten nach drei Monaten 5 Punkte (Median), ein Tier erreichte in diesem Kriterium sogar die Höchstpunktzahl von 8 Punkten. In der Gruppe SC hingegen erreichte kein Tier mehr als 0 Punkte. Nach sechs Monaten lag der Median der Gruppe OCT bei 4 Punkten, jedoch erreichten in dieser Gruppe sogar zwei Tiere die erreichbare Höchstpunktzahl von 8 Punkten. Die Gruppe SC erreichte wie bereits nach drei Monaten 0 Punkte (vier Tiere) wobei das beste Ergebnis in dieser Gruppe (ein Tier) bei 4 Punkten lag.

Leerdefekte:

Die Leerdefekte beider Gruppen waren teilweise bis an die ursprüngliche Gelenkoberfläche mit Bindegewebe aufgefüllt, vereinzelt war hyaliner Knorpel erkennbar. In beiden Gruppen lag der Median bei 0 Punkten, wobei in der Gruppe OCT zwei Tiere und in der Gruppe SC ein Tier 2 Punkte erreichten. Nach sechs Monaten lag der Median der Leerdefekte der Gruppe OCT etwas höher bei 2 Punkten, wobei ein Tier sogar 6 Punkte erreichte, drei Tiere jedoch nur 0 Punkte. Der Median der Gruppe SC lag unverändert bei 0 Punkten. Zwei Tiere erreichten 2 Punkte, die restlichen vier konnten nur mit 0 Punkten bewertet werden.

Struktur des neu gebildeten bzw. transplantierten Knorpels

Als zweites Kriterium wurden die Oberflächenbeschaffenheit (A), die strukturelle Integrität (B), die Knorpeldicke (C) und die Verbindung zum umliegenden Knorpel (D) bewertet.

Gefüllte Defekte:

A. Oberflächenbeschaffenheit

Nach drei und nach sechs Monaten erreichte die Gruppe OCT hier 1 Punkt (Median), zwei Tiere erreichten sogar die Höchstpunktzahl von 2 Punkten. In der Gruppe SC erreichte kein Tier mehr als 0 Punkte. Nach sechs Monaten jedoch erreichten in der Gruppe SC zwei Tiere die Höchstpunktzahl von 2 Punkten (glatte und intakte Oberfläche).

B. strukturelle Integrität

Nach drei Monaten erreichten in der Gruppe OCT drei Tiere die Höchstpunktzahl von 2 Punkten. In der Gruppe SC erreichte kein Tier mehr als 0 Punkte. Nach sechs Monaten erreichten fünf Tiere der Gruppe OCT und drei Tiere der Gruppe SC 1 Punkt.

C. Knorpeldicke

Nach drei Monaten erreichten in der Gruppe OCT drei Tiere die Höchstpunktzahl (2 Punkte). In der Gruppe SC erhielt kein Tier mehr als 0 Punkte. Nach sechs Monaten erhielten vier Tiere der Gruppe OCT 1 Punkt und lag damit unter den Ergebnissen der Tiere mit drei Monaten Standzeit. In der Gruppe SC erhielt nach sechs Monaten ein Tier 1 Punkt.

D. Verbindung zum umliegenden Knorpel

Nach drei Monaten erreichten 5 Tiere der Gruppe OCT 0 Punkte und schnitten damit schlechter ab als die Gruppe SC. In dieser Gruppe erreichten fünf Tiere 1 Punkt. Nach sechs Monaten erhielten zwei Tiere der Gruppe OCT 1 Punkt, die anderen vier Tiere erhielten keine Punkte. drei Tiere der Gruppe SC erhielten 2 Punkte (verbunden auf beiden Seiten).

Leerdefekte:

A. Oberflächenbeschaffenheit

Nach drei Monaten erreichten die Tiere der Gruppe SC etwas bessere Werte als die Tiere der Gruppe OCT (Median SC 0,5; OCT 0). In der Gruppe OCT erreichten zwei Tiere, in der Gruppe SC drei Tiere maximal 1 Punkt. Die Ergebnisse der Tiere der Gruppe OCT (0,5 Punkte) waren nach sechs Monaten etwas besser als in der Gruppe SC zur gleichen Standzeit (0 Punkte). In der Gruppe OCT erreichten drei Tiere, in der Gruppe SC ein Tier maximal 1 Punkt.

B. strukturelle Integrität

Nach drei und sechs Monaten Standzeit lagen die Tiere der Gruppe OCT mit 0,5 Punkten (Median) leicht über den Ergebnissen der Gruppe SC (0). Nach sechs Monaten erreichten zwei Tiere der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl von 2 Punkten, allerdings erhielten in dieser Gruppe auch drei Tiere keine Punkte. In der Gruppe SC wurde maximal ein Punkt erreicht (zwei Tiere).

C. Knorpeldicke

In diesem Punkt schnitten die Gruppen SC und OCT nach drei Monaten mit einem Median von 0 Punkten gleich schlecht ab. Allerdings erreichten in der Gruppe SC zwei Tiere, in der Gruppe OCT nur ein Tier 1 Punkt. Nach sechs Monaten erreichten vier Tiere sowohl aus der Gruppe OCT als auch der Gruppe SC maximal 1 Punkt.

D. Verbindung zum umliegenden Knorpel

Nach drei Monaten erreichten die Tiere der Gruppe OCT 1,5 Punkte (Median) und lagen damit etwas unter den Ergebnissen der Tiere mit sechs Monaten Standzeit (2 Punkte). Nach sechs Monaten erreichten vier Tiere die Höchstpunktzahl von zwei Punkten. In der Gruppe SC erreichten nach drei Monaten zwei Tiere die Höchstpunktzahl von 2 Punkten (Median: 1 Punkt). Nach sechs Monaten erreichten vier Tiere der Gruppe SC die Höchstpunktzahl von 2 Punkten.

Degenerative Veränderungen des Knorpels im Implantat

Gefüllte Defekte:

Kein einziges Tier der Gruppe SC erhielt nach drei Monaten Punkte, in der Gruppe OCT hingegen erreichten sogar zwei Tiere die Höchstpunktzahl von 2 Punkten. Nach sechs Monaten erzielten die Tiere der Gruppe OCT etwas schlechtere Werte als nach drei Monaten (Median: 1; nach drei Monaten: 2). Jedes Tier erhielt einen Punkt, während in der Gruppe SC manche Präparate gar keinen Knorpel enthielten und auch nach sechs Monaten fünf von sechs Tieren mit 0 Punkten bewertet werden mussten.

Leerdefekte:

Nach drei Monaten erhielten alle Präparate, mit Ausnahme eines aus der Gruppe OCT, 0 Punkte. Nach sechs Monaten erreichten zwei Tiere aus der Gruppe OCT 1 Punkt, alle anderen zehn Präparate erhielten keine Punkte.

Degenerative zelluläre Veränderungen im angrenzenden Knorpel

Gefüllte Defekte:

Der Median für den gefüllten Defekt lag nach drei Monaten bei den Tieren der Gruppe OCT (2) über dem der Gruppe SC (1). In der Gruppe OCT wurden maximal 2 Punkte (vier Tiere) und mindestens 1 Punkt (zwei Tiere) erreicht. In der Gruppe SC wurde maximal 1 Punkt (vier Tiere) erreicht. Zwei Tiere dieser Gruppe erhielten keine Punkte. Der Median der gefüllten Defekte lag nach sechs Monaten bei 2 (OCT) und 1 (SC). In der Gruppe OCT wurden

maximal 2 Punkte (vier Tiere) und mindestens 1 Punkt (zwei Tiere) erreicht. Diese Gruppe erhielt somit die gleiche Punkteverteilung wie die Gruppe OCT (drei Monate). In der Gruppe SC wurden maximal 2 Punkte (ein Tier) erreicht. Zwei Tiere erhielten keine Punkte. Kein Präparat erhielt in diesem Kriterium die volle Punktzahl.

Leerdefekte:

Der Median für den Leerdefekt nach drei Monaten war in beiden Gruppen gleich (1), maximal wurden 2 Punkte erreicht (OCT, zwei Tiere; SC, ein Tier). Nach sechs Monaten lag der Median für den Leerdefekt bei der Gruppe OCT (2) über dem der Gruppe SC (1). Die maximal erreichte Punktzahl betrug bei der Gruppe OCT 2 Punkte (fünf Tiere) und mindestens 1 Punkt (ein Tier), in der Gruppe SC wurden maximal 2 Punkte erreicht (zwei Tiere), ein Tier erhielt keine Punkte.

Rekonstruktion des subchondralen Knochens

Gefüllte Defekte:

Nach drei Monaten erreichten fünf Tiere der Gruppe OCT 1 Punkt. Ein Tier erhielt keinen Punkt, da der subchondrale Knochen des Transplantates unterhalb der Ebene des umliegende subchondrale Knochens lag. In der Gruppe SC fielen die Ergebnisse deutlich schlechter aus, hier erhielten fünf Tiere keine Punkte. Nach sechs Monaten wurde in der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl von 2 Punkten von vier Tieren erreicht. Zwei Tiere erhielten keine Punkte, da der subchondrale Knochen des Transplantates auch hier unterhalb der Ebene des umliegende subchondrale Knochens lag. In der Gruppe SC erhielten bis auf ein Tier (1 Punkt) alle Tiere 0 Punkte.

Leerdefekte:

Nach drei Monaten wurde in der Gruppe OCT maximal 1 Punkt erreicht (zwei Tiere). Kein Tier der Gruppe SC konnte mit mehr als 0 Punkten bewertet werden. Nach sechs Monaten Standzeit erhielten vier Tiere der Gruppe OCT 1 Punkt. Zwei Tiere erhielten keine Punkte. Das Ergebnis dieser Gruppe war so nur wenig besser als in der Gruppe mit drei Monaten Standzeit. In der Gruppe SC erhielten auch nach sechs Monaten alle Tiere 0 Punkte.

Verbindung zwischen regeneriertem/ transferiertem Knorpel und neu gebildetem subchondralen Knochen

Gefüllte Defekte:

Der Median für die gefüllten Defekte lag nach drei Monaten bei den Tiere der Gruppe OCT (1,5) über dem der Gruppe SC (0). In der Gruppe OCT wurde bei drei Tieren die Höchstpunktzahl (2 Punkte) vergeben. In der Gruppe SC erhielten zwei Tiere 1 Punkt und vier Tiere gar keine Punkte. Nach sechs Monaten lagen die Mediane der gefüllten Defekte bei 1 (OCT) bzw. 2 (SC). In der Gruppe OCT erreichte ein Tier die Höchstpunktzahl (2 Punkte). Fünf Tiere erhielten nur 1 Punkt, da der Knorpel des Transplantates sich vom unterliegenden Knochen löste. In der Gruppe SC erreichten vier Tiere die Höchstpunktzahl von 2 Punkten. Bei diesen Tieren war die Verbindung zwischen neu gebildetem Knorpel und Knochen vollständig und ununterbrochen. Ein Tier erhielt keine Punkte.

Leerdefekte:

Nach drei Monaten erzielten die Tiere der Gruppe OCT (Median: 0,5) etwas schlechtere Ergebnisse als die Tiere der Gruppe SC (Median: 1). Drei Tiere der Gruppe OCT erhielten keine Punkte, in der Gruppe SC nur zwei Tiere. Ein Tier dieser Gruppe erhielt die Höchstpunktzahl von 2 Punkten. Nach sechs Monaten erhielten drei Tiere der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl (2 Punkte), der Median lag mit 1,5 Punkten unter dem der Gruppe SC (2). In der Gruppe SC erhielten fünf Tiere die Höchstpunktzahl.

Safranin-Orange-Anfärbung

In diesem Punkt wurde die Anfärbung des Knorpels mit Safranin-Orange beurteilt.

Gefüllte Defekte:

Bei den gefüllten Defekten lag der Median nach drei Monaten bei den Tieren der Gruppe OCT (2) deutlich über dem der Gruppe SC (0). Die Höchstpunktzahl von 2 Punkten wurde in der Gruppe OCT von vier Tieren erreicht. Der transplantierte Knorpel zeigte hier eine durchgehende kräftige Anfärbung. In der Gruppe SC erreichte kein Tier mehr als 0 Punkte.

Der Median der gefüllten Defekte lag nach sechs Monaten bei 1 (OCT) und 0 (SC). In der Gruppe OCT wurden maximal 2 Punkte (ein Tier), fünf Tiere erhielten 1 Punkt. In der Gruppe SC erhielten bis auf ein Tier (1 Punkt) alle Tiere 0 Punkte. In der Gruppe OCT war die Anfärbbarkeit nach sechs Monaten damit deutlich schlechter als nach drei Monaten. Der transplantierte Knorpel wies vermehrt schwächer gefärbte Inseln auf.

Leerdefekte:

In beiden Gruppen lag der Median für die Leerdefekte nach drei Monaten bei 0 Punkten, maximal wurde 1 Punkt erreicht (OCT und SC je ein Tier). Nach sechs Monaten lag der Median für den Leerdefekt bei der Gruppe OCT mit 0,5 über dem der Gruppe SC (0) und damit etwas höher als der Median der Tiere mit drei Monaten Standzeit. Die maximal erreichte Punktzahl betrug bei beiden Gruppen 1 Punkt (OCT, drei Tiere/ SC, ein Tier).

Score B

Auffüllungsgrad der Defekte

Gefüllte Defekte:

In diesem Punkt wurde der Auffüllungsgrad des Defektes bewertet, unabhängig davon, um welches Gewebe es sich handelte. Die Tiere der Gruppe OCT erhielten sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten deutlich höhere Punktzahlen als die Tiere der Gruppe SC. Drei Tiere der Gruppe OCT erhielten die Höchstpunktzahl von 4 Punkten. In der Gruppe SC erreichte ein Tier maximal 3 Punkte. Nach sechs Monaten erreichten fünf Tiere der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl (4 Punkte), ein Tier erhielt 3 Punkte. In der Gruppe SC erhielten drei Tiere 3 Punkte, zwei Tiere erhielten 1 Punkt. In beiden Gruppen lag der Median nach sechs Monaten höher als in den Gruppen mit drei Monaten Standzeit.

Leerdefekte:

In der Gruppe OCT wurden nach drei Monaten maximal 4 Punkte erreicht (ein Tier), in der Gruppe SC höchstens 2 Punkte (zwei Tiere). Nach sechs Monaten waren die Mediane für den Leerdefekt bei beiden Gruppen gleich (1,5) und lagen damit in der Gruppe OCT unter und in der Gruppe SC über dem Wert der Gruppen mit drei Monaten Standzeit. Die maximal erreichte Punktzahl betrug in der Gruppe OCT 4 Punkte (ein Tier), in der Gruppe SC 3 Punkte (ein Tier).

Laterale knöcherne Integration

Gefüllte Defekte:

Die laterale Integration war in der Gruppe OCT nach drei Monaten etwas besser als in der Gruppe SC. In der Gruppe OCT wurde die Höchstpunktzahl (2 Punkte) von zwei Tieren erreicht, die anderen vier Tiere erhielten 1 Punkt. Die Gruppe SC erreichte maximal 1 Punkt (drei Tiere). Nach sechs Monaten erreichten vier Tiere der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl (2 Punkte), zwei Tiere erhielten 1 Punkt. In der Gruppe SC erhielten drei Tiere 2 Punkte, ein Tier erhielt keine Punkte. In beiden Gruppen lag der Median höher als in den Gruppen mit drei Monaten Standzeit.

Leerdefekte:

Nach drei Monaten unterschieden sich die Ergebnisse der beiden Gruppen kaum voneinander. In beiden Gruppen erhielten drei Tiere keine Punkte. Nach sechs Monaten schnitten die Tiere der Gruppe OCT etwas besser ab als die Tiere der Gruppe SC, alle Tiere erhielten 1 Punkt, in der Gruppe SC hingegen wurden vier Tiere mit 0 Punkten bewertet.

Basale knöcherner Integration

Gefüllte Defekte:

Die Tiere der Gruppen OCT zeigten sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten Standzeit deutlich bessere basale Integration des Transplantats als die der Gruppe SC. In der Gruppe OCT wurde die Höchstpunktzahl (3 Punkte) von zwei Tieren erreicht, die Gruppe SC erreichte maximal 1 Punkt (zwei Tiere), vier Tiere erhielten keine Punkte. Nach sechs Monaten erreichten vier Tiere der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl (3 Punkte), in der Gruppe SC wurden fünf von sechs Tieren mit 0 Punkten bewertet und lagen so sogar unter den Ergebnissen nach drei Monaten.

Leerdefekte:

Der Median für die Leerdefekte nach drei und sechs Monaten war in beiden Gruppen gleich (0). In der Gruppe OCT wurde jeweils von einem Tier die Höchstpunktzahl von 3 Punkten erreicht, in der Gruppe SC wurde nach drei Monaten höchstens 1 Punkt erreicht (ein Tier), nach sechs Monaten erhielt kein Tier mehr als 0 Punkte.

Entzündungsreaktionen im Defektbereich

Gefüllte Defekte:

In der Gruppe OCT zeigten drei Tiere nach drei Monaten Standzeit leichte Entzündungsreaktionen. In der Gruppe SC zeigten drei Tiere starke Entzündungsreaktionen (0 Punkte). Nach sechs Monaten wurde in der Gruppe OCT die Höchstpunktzahl (2 Punkte) von drei Tieren erreicht, in der Gruppe SC erhielten drei Tiere keine Punkte.

Leerdefekte:

In der Gruppe OCT zeigten nach drei Monaten fünf Tiere geringe Entzündungsreaktionen, in der Gruppe SC gab es vier Tiere mit starken Entzündungsreaktionen (0 Punkte). Nach sechs Monaten Standzeit wurden drei Tiere der Gruppe OCT mit der Höchstpunktzahl (2 Punkte) bewertet, in der Gruppe SC waren zwei Tiere entzündungsfrei (2 Punkte), ein Tier zeigte starke Entzündungsreaktionen (0 Punkte).

Fremdkörperreaktionen

Kein einziges Präparat wies Fremdkörperreaktionen auf.

Gesamtwertung

Im Score A waren maximal 27 Punkte erreichbar. Je höher die erreichte Punktzahl eines Präparates war, desto ähnlicher war es dem nativen Gewebe.

Gefüllte Defekte:

Nach drei Monaten erreichte die Gruppe OCT durchschnittlich 18,5 Punkte (Median), ein Tier erhielt sogar 21 Punkte. In der Gruppe SC lag die durchschnittliche Punktzahl bei 2,5, ein Tier erhielt gar keine Punkte im gesamten Score A. Damit waren die Ergebnisse der Gruppe SC nach drei Monaten Standzeit signifikant schlechter als die der Gruppe OCT ($p=0,004$). Nach sechs Monaten lag der Median in der Gruppe OCT bei 12 ($p=0,132$) und damit etwas schlechter als nach drei Monaten Standzeit, auch in dieser Gruppe erreichte ein Tier 21 Punkte. In der Gruppe SC wurden durchschnittlich 6 Punkte erreicht und somit signifikant bessere Ergebnisse als nach drei Monaten ($p=0,029$) Standzeit. Die erreichte Höchstpunktzahl in dieser Gruppe (ein Tier) lag bei 13 Punkten. Die Gruppe OCT erhielt nach sechs Monaten im Score A signifikant bessere Ergebnisse als die Gruppe SC ($p=0,029$).

Leerdefekte:

Nach drei Monaten lag der Median für die Leerdefekte in der Gruppe OCT bei 4,5 Punkten, in der Gruppe SC bei 4 Punkten. Nach einer Standzeit von sechs Monaten lag der Median in der Gruppe OCT bei 9,5 Punkten und in der Gruppe SC bei 6 Punkten.

Im Score B waren maximal 12 Punkte erreichbar.

Gefüllte Defekte:

Im Score B erreichte die Gruppe OCT durchschnittlich 9,5 Punkte, ein Tier erhielt die Höchstpunktzahl. In der Gruppe SC wurden durchschnittlich 4 Punkte erreicht, die Ergebnisse waren somit signifikant schlechter als in der Gruppe OCT ($p= 0,004$). Nach sechs Monaten lag der Median in der Gruppe OCT bei 11 Punkten, in der Gruppe SC bei 4,5 Punkten. Auch hier erzielte die Gruppe OCT signifikant bessere Ergebnisse als die Gruppe SC ($p= 0,006$).

Leerdefekte:

In der Gruppe OCT erhielten die Leerdefekte nach drei Monaten durchschnittlich 5 Punkte, ein Tier erhielt die Höchstpunktzahl. In der Gruppe SC waren die Ergebnisse ähnlich, hier wurden 3,5 Punkte erzielt. Nach sechs Monaten lag der Median in der Gruppe OCT unverändert bei 5 Punkten, in der Gruppe SC bei 4,5 Punkten und damit etwas besser als nach drei Monaten Standzeit. Weder nach drei noch nach sechs Monaten konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Operationstechniken gefunden werden. Auch beim Vergleich innerhalb der Gruppen zwischen den beiden Standzeiten wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt.

Es folgt die Darstellung der Mediane der Summen beider einzelner Scores als Balkendiagramme (Abb. 42, 43).

Zusammenfassend ließ sich folgendes feststellen:

- Die Gruppe OCT erzielte im Score A (Qualität des Gewebes) nach sechs Monaten schlechtere Scoreergebnisse als nach drei Monaten, in der Gruppe SC wurden nach sechs Monaten Standzeit höhere Scoreergebnisse erzielt als nach drei Monaten.
- Die Gruppe OCT erzielte sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten signifikant höhere Punktzahlen im Score A als die Gruppe SC (gefüllte Defekte).
- Beide Gruppen erzielten nach sechs Monaten bei den gefüllten Defekten höhere Ergebnisse im Scores B (Integration des Transplantats) als nach drei Monaten.
- Bei der Gruppe OCT war zu jeder Standzeit ein höherer Anteil hyalinen Knorpels im Gelenkflächenbereich nachweisbar als bei der Gruppe SC.
- In der Gruppe OCT war die Anfärbbarkeit mit Safranin-Orange nach sechs Monaten damit deutlich geringer als nach drei Monaten. Der transplantierte Knorpel wies vermehrt schwächer gefärbte Inseln auf.
- In der Gruppe SC war die Verbindung der Defektfüllung zum umliegenden, gesunden Knorpel generell besser als in der Gruppe OCT.
- In beiden Scores und zu beiden Standzeiten erzielten die Defektfüllungen der Gruppe SC signifikant schlechtere Ergebnisse als in der Gruppe OCT.

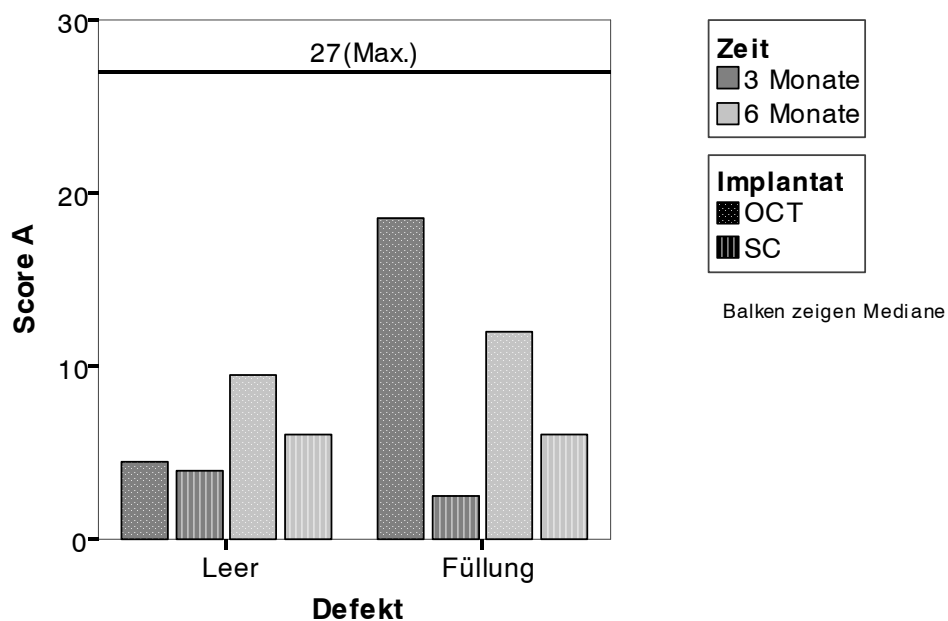


Abbildung 42: Vergleich der Scoreergebnisse (Score A, Qualität des Gewebes) zwischen Leerdefekt und gefülltem Defekt nach drei und sechs Monaten.

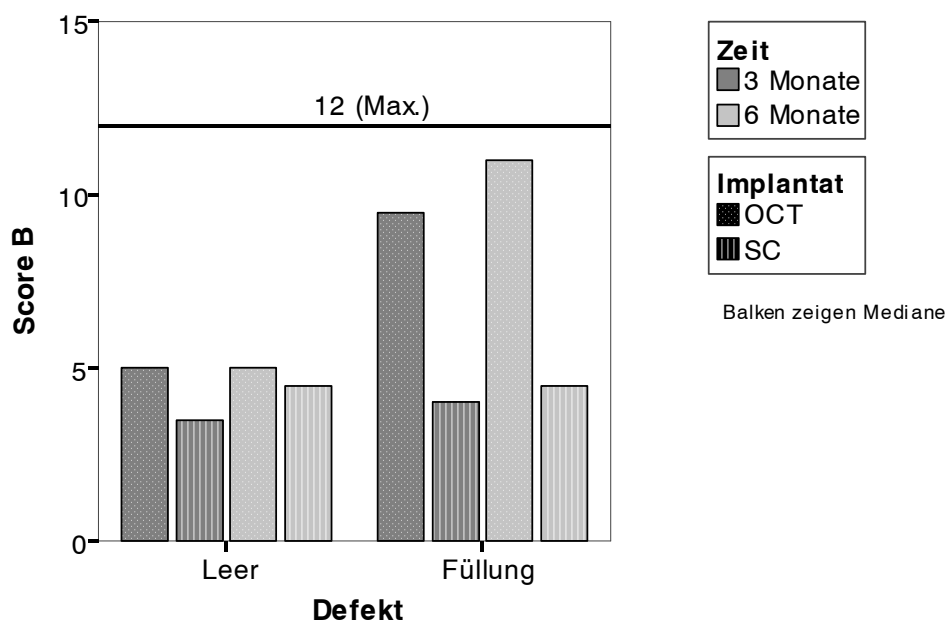


Abbildung 43: Vergleich der Scoreergebnisse (Score B, Integration) zwischen Leerdefekt und gefülltem Defekt nach drei und sechs Monaten.

5. Diskussion

Der komplexe Aufbau synovialer Gelenke ermöglicht eine lebenslange reibungsarme Beweglichkeit der Gelenkpartner (Rudert und Wirth, 1998). Die Gewährleistung der Kongruenz, die Übertragung von Druck und Scherkräften auf die subchondrale Knochenlamelle, die Minimierung des Reibungskoeffizienten sowie der Erhalt von Elastizität, Steifigkeit und Viskosität wird vom hyalinen Knorpel in einzigartiger Weise vereinigt (Burkhart und Imhof, 1999; Mankin, 1974a; Marlovits und Véscei, 2000a; Marlovits und Véscei, 2000b; Steinwachs et al., 1999). Oftmals ist Arthrose eine altersbedingte Erkrankung (Buckwalter und Mankin, 1998a; Ulrich-Vinther et al., 2003), aber auch mangelnde Bewegung, Übergewicht oder Fehl- und Überbelastung der Gelenke sowie genetisch bedingte oder entzündliche Ursachen (Lyyra et al., 1999) führen dazu, dass immer häufiger junge Menschen von Gelenkschmerzen betroffen sind. Der Verschleiß von Gelenken hat sich zu einer Volkskrankheit entwickelt und Arthroseerkrankungen, aber auch sportbedingte Verletzungen am Gelenkknorpel, führen jährlich zu erheblichen volkswirtschaftlichen Einbußen. Verletzungen des hyalinen Gelenkknorpels, v.a. im Kniegelenk, stellen schwer zu behandelnde Präarthrosen dar und erfordern gerade bei jüngeren Patienten eine gezielte Therapie, um einen langlebigen, möglichst physiologischen Knorpelersatz zu gewährleisten. Aufgrund seiner Avaskularität und mangelnder Migrationsfähigkeit der Chondrozyten ist das Selbstheilungspotential von Knorpelgewebe begrenzt (Alford und Cole, 2005a; Buckwalter, 1983; Mankin, 1982). Bei oberflächlichen Verletzungen, die den Gelenkknorpel nicht penetrieren, fehlt eine üblicherweise folgende inflammatorische Reaktion völlig (Mankin, 1974a; Marlovits und Véscei, 2000b). Um eine schmerzfreie Funktion des Gelenkes wiederherzustellen, bleiben chirurgische Maßnahmen oft unumgänglich. Verschiedene Operationstechniken zielen auf Eröffnung des vaskularisierten Knochenmarksraumes ab, um ein Einbluten in den Defekt zu provozieren und den Zugang zu pluripotenten mesenchymalen Stammzellen herzustellen. Durch den zusätzlichen Einsatz verschiedener autologer oder allogener Transplantate kann das Gelenkflächenniveau wiederhergestellt werden. Das gebildete Ersatzgewebe ist jedoch häufig von minderer Qualität und zeigt oft bereits nach drei Monaten erste Degenerationszeichen (Furukawa et al., 1980). Häufig wird statt hyalinem Knorpel Faserknorpel gebildet (Buckwalter, 1983). Faserknorpel hat jedoch nicht die gleichen biomechanischen Eigenschaften wie hyaliner Knorpel und kann so den Anforderungen, v.a. der Langzeitbelastung im Gelenk, nur unzureichend gerecht werden (Buckwalter, 1998; Buckwalter und Mankin, 1998b; Furukawa et al., 1980; Shapiro et al., 1993; Ulrich-Vinther et al., 2003), so dass Folgeoperationen nach ca. 10 bis 15 Jahren zu erwarten sind. Bei chirurgischen Techniken ist neben die Wiederherstellung der Gelenkoberfläche, Linderung der Schmerzhaftigkeit und der Verbesserung der Beweglichkeit außerdem entscheidend, ob und wie lange transplantierte hyaliner Knorpel seine typische Struktur und Eigenschaften aufrechterhält (Marlovits und Véscei, 2000a). Ziel dieses Projektes war, zwei verschiedene Therapieverfahren mit autologen Implantaten hinsichtlich ihres Einheilungsverhaltens, der Gewebequalität des Regenerats und der Wiederherstellung der Gliedmaßenbelastung zu vergleichen. Die gefüllten Defekte wurden mit unbehandelten Kontrolldefekten verglichen. Die ausgewählten Untersuchungszeitpunkte waren nach drei und sechs Monaten Standardzeit festgelegt.

5.1 Diskussion der Methoden

In diesem Projekt wurden bei Schafen standardisierte Knorpelknochendefekte im linken Kniegelenk gesetzt und mit zwei ausgewählten chirurgische Auffüllungsmethoden von osteochondralen Defekten therapiert. Im selben Knie wurde zusätzlich auf der kontralateralen Femurkondyle ein unbehandelter Kontrolldefekt gesetzt. Nach drei bzw. sechs Monaten wurden die Defekte histologisch und histomorphometrisch auf wesentliche Kriterien für einen guten Gelenkknorpelersatz untersucht. Außerdem wurde die Transplantateinheilung und Gewebequalität in allen Versuchsgruppen mit einem semiquantitativen Scoresystem zur Beurteilung osteochondraler Defekte bewertet und die Belastung aller Gliedmaßen über den gesamten Beobachtungszeitraum mittels Messung der Bodenreaktionskräfte ermittelt.

5.1.1 Tiermodell

Die Studie war Teil eines Tierversuchsprojektes am Schaf, in dem das Einheilungsverhalten verschiedener autologer Füllungen in osteochondralen Defekten untersucht wurde. In Projekten zum Heilungsverhalten von osteochondralen Defekten werden oft Tiermodelle verwendet. Der Vorteil an Tiermodellen ist, dass sie die Möglichkeit geben, standardisierte Rahmenbedingungen zu schaffen sowie standardisierte Defekte zu setzen. Häufig eingesetzte Tiermodelle sind z.B. Ratten und Kaninchen (Caplan et al., 1997; Kettunen und Rokkanen, 1973; Nam et al., 2004; Shapiro et al., 1993; Wakitani et al., 1994), Hunde (Calandruccio und Gilmer, 1962; DePalma et al., 1966; van Dyk et al., 1998), Ziegen (Butnariu-Ephrat et al., 1996; Jackson et al., 2001a; Niederauer et al., 2000) oder Schafe (Allen et al., 1998; Akens et al., 2001; Appleyard et al., 2003; Homminga et al., 1991; Leniz et al., 2004; Rothwell, 1990; Russlies et al., 2003; Siebert et al., 2001; Siebert et al., 2003a; Siebert et al., 2003b; Uhl et al., 2005; von Rechenberg et al., 2003; Weiler et al., 1996). Das Schaf wurde für dieses Projekt ausgewählt, da das Schafsknie in seinen knöchernen Dimensionen und den Belastungsverhältnissen im Gelenk dem des Menschen vergleichbar ist (Russlies et al., 2003). Das Schafsknie stellt ein ideales Model für verschiedene orthopädische Behandlungsmethoden dar und ist chirurgisch gut zugänglich (Allen et al., 1998; Nunamaker, 1998; Russlies et al., 2003), allerdings setzt die Haltung von Schafen als Versuchstiere gewisse Rahmenbedingungen voraus, wie z.B. genügend Platz zur Unterbringung ausreichend großer Gruppen. Für dieses Projekt wurden ausschließlich ausgewachsene Tiere mit geschlossenen Epiphysenfugen ausgewählt. Der Epiphysenfugenschluss wurde durch postoperative Röntgenaufnahmen bestätigt. Die Beurteilung der Heilung von Knorpeldefekten ist nur dann sinnvoll, wenn der Defekt während des Heilungsverlaufes einer physiologischen Be- und Entlastung unterliegt (Buckwalter, 1995; Salter et al., 1980; Shimizu et al., 1987). Deshalb ist es auch nur im Tierversuch möglich, das Einheilen von Knorpeldefektimplantaten oder -transplantaten zu beurteilen. Schafe belasten für gewöhnlich die operierte Gliedmaße post operationem sofort wieder (Nunamaker, 1998). Innerhalb der Herde kann es allerdings zu einer unkontrollierten und zu starken Belastung kommen, was sich nachteilig auf die Defektheilung auswirken könnte. Außerdem ist zu berücksichtigen, dass bei Versuchstieren Umbauprozesse teilweise schneller ablaufen als beim Menschen (Coulson, 1983; Frankenburg et al., 1998) und daher die Ergebnisse nicht ohne Einschränkung auf den Menschen übertragen werden können (Binnet et al., 2001; Breinan et al., 2001; Reinholz et al., 2004; Roach et al., 1989). Die Möglichkeit der Untersuchung großer Tiergruppen unter Einsatz invasiver Methoden ist jedoch im Vergleich zu den Untersuchungen am Menschen ein großer Vorteil.

5.1.2 Operation und postoperativer Beobachtungszeitraum

In diesem Tierversuchsprojekt sollte gezeigt werden, dass für eine schnelle und komplikationsarme Heilung eines Knorpeldefektes die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und dessen mechanischer Funktion wesentlich sind. Vor allem wurde erwartet, dass der Heilerfolg größer ist, je ähnlicher das Implantat zum nativen Gewebe ist.

Es wurden osteochondrale Defekte im lasttragenden Bereich beider Femurkondylen des linken Knies gesetzt. Die Defektgröße 7,3 mm und 8,3 mm orientierte sich an der etablierten Technik der Mosaikplastik und der Größe der erhältlichen Werkzeuge sowie an der kritischen Größe osteochondraler Defekte. Früheren zahlreichen Studien zufolge heilen Knorpel-Knochen-Defekte ab einer Größe von 6-7 mm Durchmesser im Tierversuch nicht spontan aus (Bruns et al., 1997; Convery et al., 1972; Shahgaldi et al., 1991). Um die Implantate miteinander zu vergleichen, musste eine Spontanheilung ausgeschlossen werden. Die Tiefe wurde mit 10 mm bemessen, um zu gewährleisten, dass die Implantate mittels press-fit Technik im Defekt fest verankert waren, zudem musste die Eröffnung des Knochenmarkraums sichergestellt werden. Durch individuelle Unterschiede der Kniegelenke war der chirurgische Zugang nicht immer gleich einfach. Dies hatte teilweise gering unterschiedliche Positionierung der Defekte zur Folge. Bei der Entnahme der Knorpel-Knochen-Zylinder bestand immer die Gefahr des Abbrechens in der Tiefe. Manche Zylinder wiesen eine schräge Basis auf. Dieser Umstand und die teilweise unterschiedliche Krümmung der Empfängerseite hatten zur Folge, dass manche Zylinder nicht kongruent zum

umliegenden Gewebe eingesetzt werden konnten. Erhebungen oder Vertiefungen stellten eine Irritation des Gelenkes dar und hatten möglicherweise Einfluss auf den Heilungsverlauf. Bei der Operationstechnik der autologen Spongiosacluster bestand die Gefahr, dass sich Spongiosafragmente aus dem Defekt in den Gelenkspalt bewegen. Dieser Gefahr wurde mittels aufgenähter Kollagenmembran und Fibrinkleber entgegengewirkt, auszuschließen ist eine Reizung durch Knochenfragmente nicht. Fibrinkleber und Kollagenmembran stellten außerdem in das Gelenk eingebrachte Fremdkörper dar und erhöhten die Gefahr der Fremdkörperreaktion, Gelenkirritation und Entzündung.

In dieser Studie wurden nur zwei ausgewählte Zeitpunkte in der Knorpeldefektheilung beschrieben. Andere Studien bieten gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse, doch ist zu beachten, dass in Hinsicht auf den Einsatz der Operationstechniken am Menschen vor allem der Langzeiterfolg einer Therapie von Interesse ist. Studien über einen Zeitraum von mehreren Jahren oder Jahrzehnten wären sinnvoll (Gross et al., 2005; Rittmeister et al., 2005). Shapiro (Shapiro et al., 1993) beschreibt bei einer ähnlichen Studie an Kaninchen auftretende Komplikationen von unbehandelten Defekten nach einer Standzeit von sechs bis zwölf Monaten. Über etwaige spätere Komplikationsgefahr oder Langzeiterfolge der in dieser Studie angewendeten Verfahren lässt sich in dieser Arbeit keine Aussage treffen.

5.1.3 Aufarbeitung der Proben

Bei der Aufarbeitung vieler Präparate war es schwierig, den Verlauf des ursprünglichen Bohrkanals von außen zu erkennen. Es ist nicht auszuschließen, dass manche Präparate nicht exakt in der Mitte des Defektes gesägt wurden und dadurch möglicherweise leichte Abweichungen des Präparatdurchmessers verursacht wurden. Manche Präparate verbanden sich nicht richtig mit dem Einbettmaterial und konnten erst nach wiederholtem Auflösen und nochmaligem Einbetten geschnitten werden. Diese zusätzliche Bearbeitung könnte zu Veränderungen in den Gewebeanteilen der Präparate geführt haben. Bei der weiteren Bearbeitung kann ein leichtes Verschieben oder Verzerren, zum Beispiel bei Aufziehen auf die Objektträger, nicht ausgeschlossen werden.

5.1.4 Messung der Bodenreaktionskräfte

Für die Messung der Bodenreaktionskräfte wurden ausschließlich Schafe ausgewählt, die gut trainierbar waren. Die Untersucher mussten sicherstellen, dass die Tiere trotz postoperativer Schmerzen weiterhin freiwillig die Messläufe mitmachen würden. Scheue Tiere wurden von Anfang an von den Messungen ausgeschlossen.

Literaturangaben über Messungen von Bodenreaktionskräften beim Schaf waren nicht recherchierbar, am hiesigen Institut wurden jedoch ähnliche Untersuchungen an Schafen und Yucatan Minischweinen mit osteochondralen Läsionen im Kniegelenk durchgeführt (<http://www.diss.fu-berlin.de/2002/301>). Ein Tier der Gruppe SC musste von der Auswertung ausgeschlossen werden. Vor diesem Hintergrund sowie angesichts der geringen verfügbaren Literatur sollten die Ergebnisse dieser Untersuchung kritisch beurteilt werden. Zu beachten bleibt, dass auf statistische Tests verzichtet wurde. Die Ergebnisse wurden nur deskriptiv ausgewertet, eine gewisse Subjektivität kann nicht ausgeschlossen werden.

Die Untersuchung ergab eine deutliche Entlastung der operierten Hintergliedmaße sowie eine Mehrbelastung der gesunden Hintergliedmaße, wobei die Maximalkraft der operierten Gliedmaße nach drei Monaten wieder Ausgangswerte erreichte. Die Mehrbelastung der kontralateralen Gliedmaße nahm zwar ab, blieb jedoch über den gesamten Beobachtungszeitraum über den Ausgangswerten. Der anfängliche Anstieg der Maximalkraft dieses Beines lässt sich durch kompensatorisches Verhalten erklären. Die Tiere entlasteten die operierte Gliedmaße und verlagerten zunehmend Gewicht auf das gesunde Bein. Da allerdings auch nach Wiedererlangen der ursprünglichen Kraft das rechte Bein weiterhin mehr belastet wurde, lässt sich ein gewisser Lern- oder Trainingseffekt nicht ausschließen.

Die Kontaktfläche der operierten Gliedmaße nahm postoperativ ebenfalls ab, viele Tiere belasteten beim Laufen nur noch die Klauenspitze, die Kontaktfläche der rechten Gliedmaße vergrößerte sich zeitgleich. Auch die Kontaktzeit beider Hintergliedmaßen verkürzte sich in beiden Gruppen postoperativ und blieb bis zum Ende des Beobachtungszeitraums unterhalb des Ausgangswertes. Bei der operierten Gliedmaße lässt sich die Abnahme der Kontaktzeit

durch Schmerzen und eingeschränkte Funktion des Beines erklären, doch auch das andere, gesunde Bein zeigte einen ähnlichen Verlauf. Auch hier kann ein Trainingseffekt nicht ausgeschlossen werden. Es konnte kein Unterschied zwischen den beiden Behandlungsmethoden hinsichtlich der Belastungsfähigkeit der operierten Gliedmaße festgestellt werden. Die meisten Parameter erreichten nach acht Wochen wieder Ausgangswerte und alle Tiere zeigten einen komplikationslosen Heilungsverlauf. Es ließ sich nicht nachvollziehen, ob der Wundschmerz oder der Schmerz durch die gesetzten Knorpelläsionen hauptsächlich für die Entlastung der operierten Gliedmaße verantwortlich ist. Da sowohl der gefüllte Defekt als auch der Kontrolldefekt im selben Knie gesetzt wurden, ließ sich nicht nachvollziehen, welcher Defekt welchen Einfluss auf die Belastung nimmt. Schmerzen oder Lahmheit lassen sich nicht kausal nachvollziehen. Beim Einsatz am Menschen könnten aber mehr Parameter erfragt werden, wie z.B. Schmerzen oder eine genauere Beschreibung der Funktionseinschränkungen.

5.1.5 Histologie und Histomorphometrie

Histologie

Die Präparate wurden mit den Färbungen Safranin-Orange/von Kossa, Safranin-Orange/Lichtgrün-Färbung und Masson-Goldner-Trichrom gefärbt. So ließen sich einzelne Gewebetypen in verschiedenen Färbungen besser voneinander abgrenzen. Safranin-Orange/von Kossa färbt Knochen und Mineralisationsfronten schwarz, Knorpel und Osteoid rot, die Safranin-Orange/Lichtgrün-Färbung hingegen Bindegewebe und Knochen grün sowie Knorpel, Osteoid und Zellkerne rot und Masson-Goldner schließlich Bindegewebe und mineralisiertes Knochengewebe grün, Zytoplasma und Osteoid rot und Zellkerne braunschwarz. Safranin-Orange wird häufig in der Knorpelhistologie angewendet (Naumann et al., 2002; Niederauer et al., 2000; O'Driscoll und Salter, 1986; Shapiro et al., 1993). Mit Hilfe dieser Färbung ließ sich der Proteoglykangehalt anhand der Intensität der Anfärbung in den verschiedenen Präparaten vergleichen. Die Färbungen wurden ausschließlich von der Autorin durchgeführt, jedoch waren in manchen Präparaten teilweise entfärbte Stellen, vor allem an den Schnittkanten des Präparates, zu erkennen. Dabei handelte es sich vermutlich um Artefakte, die während der Bearbeitung entstanden sind.

Für die deskriptive Histologie wurden die gefüllten Defekte aller vier Gruppen mit den Leerdefekten sowie untereinander verglichen. Da es sich um einen hauptsächlich auf optischen Merkmalen beruhenden Vergleich handelte, ist hier eine mögliche Subjektivität der Bewertung nicht ausgeschlossen.

Histomorphometrie

In der Histomorphometrie wurden die Gewebeanteile am Computer markiert und erfasst und mit Hilfe eines eigens für dieses Projekt entwickelten Makros errechnet.

Sowohl die Eichung der Größenverhältnisse am Rechner sowie das Platzieren der ROI mussten durch den Untersucher vorgenommen werden. Möglicherweise wurde die ROI hier nicht in jedem Präparat exakt an der gleichen Stelle platziert. Dies könnte zu Abweichungen der gemessenen Gewebeanteile geführt haben. Zudem war die ROI rechteckig angelegt, die Gelenkfläche der Präparate jedoch konvex. Je nach Krümmung musste mehr oder weniger Anteil der überstehenden ROI von der Analyse ausgeschlossen werden. Die ROI wurde so bei jedem Präparat unterschiedlich verkleinert. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden die Messergebnisse in relativen Bezug zur Gesamtgröße der ROI gesetzt. In der Histomorphometrie wurden nur je ein Safranin-Orange/von Kossa und Safranin-Orange/Lichtgrün gefärbtes Präparat analysiert. Die Berechnung des mineralisierten Knochens (schwarz) und des Gesamtbindegewebes fand in der Safranin-Orange/von Kossa-Färbung durch Farberkennung des Programms statt. Der genaue Anteil hyalinen Knorpels wurde erst in der Safranin-Orange/Lichtgrün Färbung vom restlichen Bindegewebe abgegrenzt. Teilweise entfärbte Stellen im hyalinen Knorpel, die von der Farberkennung nicht markiert wurden, mussten per Computermaus unter lichtmikroskopischer Kontrolle nachmarkiert werden. In manchen Präparaten wurde der Gelenkknorpel durch die Bearbeitung und Färbung von der unterliegenden Fläche abgelöst. In diesen Fällen wurde die ROI zunächst normal platziert und anschließend die Stellen

markiert, an denen sich das Knorpelgewebe normalerweise befindet. Abgelöste oder verrutschte Fragmente wurden so an der ursprünglichen Stelle gemessen und an der tatsächlichen Lokalisation von der Analyse ausgeschlossen. Trotz sorgfältigen Markierens sind leichte Ungenauigkeiten hier nicht auszuschließen. Die Summe der gemessenen einzelnen Gewebe war in vielen Fällen etwas größer als die vom Programm gemessene Gesamtdefektfläche. Dies erklärten sich die Untersucher mit einer Überlappung der in beiden Färbungen jeweils aufgelegten ROI. Es ist möglich dass dadurch, vor allem an den Übergängen und Grenzen einzelner Gewebeanteile, Flächen doppelt markiert und erfasst wurden.

5.1.6 Scoren der Defekte

Die Ergebnisse basieren auf einem semiquantitativen Score, der ursprünglich von Wakitani erarbeitet und von Pineda (Wakitani et al., 1994) und O'Driscoll (O'Driscoll et al., 1988) modifiziert wurde. Zusätzlich wurde der Score für diese Arbeit noch weiter angepasst und erweitert, da nicht alle für diese Studie relevanten Kriterien in den vorhandenen Scores berücksichtigt wurden. Zusätzlich zur Scorevorlage von Wakitani wurde der prozentuale Anteil des hyalinen Knorpels, die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und die Verbindung zwischen dem subchondralen Knochen und neu gebildete Knorpel im Defektbereich erfasst.

Der gesamte Score B wurde hinzugefügt. Hier wurde die allgemeine Auffüllung des Defektbereiches, die laterale und basale Integration der Defektfüllung, Entzündungs- und Fremdkörperreaktion mit Punkten bewertet. Es war wichtig, beide Scores zu verwenden, um möglichst viele Kriterien der Knorpel-Knochenheilung zu erfassen. Alle Präparate wurden von zwei Untersuchern unabhängig voneinander bewertet. Zu beachten ist, dass jeder Untersucher bei der Beurteilung subjektive Entscheidungen treffen musste. Besonders die Einschätzung von Auffüllungsgrad und Gewebeanteilen stellen mögliche Fehlerquellen dar. Bei Kriterien wie z.B. dem prozentualen Anteil hyalinen Knorpels erhielten viele Präparate eine schlechte Bewertung, da nur Knorpel auf Gelenkflächenniveau beurteilt wurde. Präparate, die möglicherweise im Defekt hyalinen Knorpel enthielten, wurden trotzdem mit 0 Punkten bewertet, da dieser Knorpel keinen Teil der Gelenkfläche bildete und daher nicht zur Gelenkfunktion beitrug. Im Punkt Knorpeldicke erhielt die Gruppe SC weniger Punkte, da sich im Defektbereich auf Gelenkflächenniveau noch kein neuer Knorpel gebildet hatte. Die Tiere der Gruppe OCT hingegen erhielten meistens durch das Knorpeltransplantat die volle Punktzahl. Bei der Beurteilung der Verbindung zum umliegenden Knorpel erzielten die Tiere der Gruppen SC vergleichsweise gute Ergebnisse. Hier muss jedoch berücksichtigt werden, dass zwar die Verbindung des Füllgewebes zum Gelenkknorpel im Randbereich vergleichsweise besser war, sich dieses Gewebe allerdings seltener auf Gelenkflächenniveau befand als bei den transplantierten Zylindern. Auch bei der Beurteilung der Rekonstruktion des subchondralen Knochens ist zu beachten, dass in der Gruppe OCT ein kompletter Knorpel-Knochenzylinder transplantiert wurde, wodurch unversehrter hyaliner Gelenkknorpel mit subchondraler Knochenplatte und darunter liegendem intaktem Knochen direkt in den Defekt eingebracht wurden. Daraus resultierend erreichten diese Tiere auch bessere Ergebnisse bei der Beurteilung der Verbindung zwischen subchondralem Knochen und Knorpel im Defektbereich und der Auffüllung des Defektes. Die Safranin-Orange Anfärbung wurde an den Safranin-Orange/ von Kossa gefärbten Präparaten beurteilt. Auch hier wurde der Knorpel auf Gelenkflächenniveau beurteilt. Da in den Gruppen SC dort wenig neuer hyaliner Knorpel entstanden war, erhielten diese Gruppen vergleichsweise schlechte Werte. Bemerkenswert war, dass in der Gruppe OCT die Anfärbbarkeit nach sechs Monaten schlechter war als nach drei Monaten. Eine geringere Anfärbbarkeit durch Safranin-Orange weist auf einen gesunkenen Proteoglykangehalt im Knorpel hin. Das bedeutet, dass bereits nach sechs Monaten Degenerationserscheinungen im transplantierten Knorpel auftraten. Der Verlust von Proteoglykanen führt auch zum Verlust der knorpelspezifischen Eigenschaften. Die Beurteilung der Defektauffüllung bezog sich allein auf die Menge neu gebildeten Gewebes. So erhielten manche Tiere der Gruppe SC eine recht hohe Bewertung, obwohl der Defekt nur bindegewebig gefüllt war. Die reinen Scoreergebnisse sollten mit Berücksichtigung der Ergebnisse der Histomorphometrie und der Histologie beurteilt werden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Osteochondraler Transfer

Die Implantation eines kompletten Knorpel-Knochen-Zylinders mittels der „press-fit“ Technik gewährleistete eine sichere Fixierung im Defekt (Alford und Cole, 2005b; Burkart et al., 2001; Martinek und Imhof, 2003; Wagner, 1972). Diese Operationstechnik wird sowohl experimentell als auch klinisch vielfach eingesetzt und stellt heute eine etablierte chirurgische Behandlungsoption osteochondraler Defekte dar (Bentley et al., 2003; Berlet et al., 1999; Bugbee und Convery, 1999; Convery et al., 1994; Delcogliano et al., 2002; Ghazavi et al., 1997; Goldberg und Stevenson, 1987; Horas et al., 2003; Horas und Schnettler, 2002; Outerbridge et al., 1995). Diese Studie bestätigt vorangegangene Ergebnisse anderer Studien, dass der transplantierte Zylinder auf der Knochenseite gut im umliegenden Gewebe integriert wird (Gotterbarm et al., 2003; Hangody, 1997; Laprell und Petersen, 2001; Siebert et al., 2001; Siebert et al., 2003b). Die Implantatintegration spielt eine wesentliche Rolle für eine gute Defektheilung. So war bereits nach drei Monaten in den meisten Präparaten der ehemalige Bohrkanaal nicht mehr zu erkennen. Der eingesetzte Zylinder füllte den Defekt komplett aus und sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten konnte im Defektbereich ein signifikant höherer Knochenanteil als in der anderen Gruppe gemessen werden. Dieser Umstand ist dadurch erklärbar, dass hier ein kompletter Knorpel-Knochen-Zylinder transplantiert wurde. Die Entnahme im lasttragenden Bereich der kontralateralen Kondyle ermöglichte es, einen Spenderzylinder mit einer annähernd gleichen Krümmung und Beschaffenheit zu entnehmen und den Defekt optimal zu füllen. In der Humanmedizin ist dies nicht immer möglich. Hier wird meist Spendergewebe im nicht lasttragenden Bereich aus dem erkrankten oder anderen, gesunden Gelenken entnommen (Bobic, 1996; Imhof et al., 1999a; Bodo et al., 2000; Brucker et al., 2002; Hangody et al., 2001a; Hangody et al., 2001b; Hangody, 2003; Hangody et al., 2004; Marlovits und Véscei, 2000b; Martinek und Imhof, 2003; Schöttle et al., 2001; Yamashita et al., 1985). Unterschiedliche anatomische Voraussetzungen, wie z.B. die Krümmung der Gelenkoberfläche zwischen Spender und Empfängergewebe, machen eine exakte Anpassung des Zylinders schwierig. Auch ist eine erhöhte Morbidität der Entnahmestelle zu beachten (Newman, 1998). Der Knochen im ehemaligen Defektbereich zeigte nach drei und sechs Monaten eine im Vergleich zum umliegenden Gewebe eher ungeordnete und verdickte Trabekelstruktur. Der subchondrale Knochen des Transplantats war ebenfalls verdickt. Dieses Phänomen wurde bereits von anderen Arbeitsgruppen beobachtet (Day et al., 2004; Dew und Martin, 1992; Li et al., 1999; Radin und Rose, 1986; von Rechenberg et al., 2003; Siebert et al., 2001; Siebert et al., 2003b). Laut Schenk (Schenk, 1991) bildet der transplantierte Zylinder mit seiner erhaltenen, ursprünglichen Trabekelstruktur eine Art Leitschiene für einwandernde, pluripotente Stammzellen aus dem Knochenmarkraum, die sich je nach Umgebung und Art des verletzten Gewebes in Fibroblasten, Osteoblasten oder Chondrozyten differenzieren (Ashton et al., 1980; Caplan, 1990; Sato und Urist, 1984; Shapiro et al., 1993). Einsprossende Gefäße, mesenchymale Stammzellen und überlebende, transferierte Osteoblasten siedeln sich in den Knochenlakunen an (Burchardt, 1983) und ermöglichen eine Knochenneubildung ohne vorangegangene Resorption (Kübler, 1997). Jede Traumatisierung von Knochengewebe löst eine lokale Aktivierung der Knochenbildung aus, die bereits nach Stunden beginnt und während der ersten zwei Monate nach Traumatisierung ihre höchste Aktivität aufweist (Schenk, 1991). Es entsteht ein ungeordnetes Gerüst aus Geflechtknochen zwischen den Trabekeln des Transplantats und das neue Knochengewüst wird zu einer dem umgebenden Knochen angepassten Architektur umgebaut (Schweiberer, 1971; Schweiberer et al., 1986), während das umliegende Gewebe durch Umbauvorgänge mit dem Transplantat verbunden wird (Schweiberer et al., 1986). Durch die „press-fit“ Technik lag das Implantat fest im Empfängergewebe. Durch die mechanische Stabilität können sich mesenchymale Stammzellen direkt zu Knochenzellen differenzieren (Caplan, 1990). Wenn Bewegung zwischen den Geweben herrscht, findet sekundäre Knochenheilung (enchondrale Ossifikation) statt. In der Tiefe der gefüllten Präparate konnte kein Knorpelgewebe nachgewiesen werden, das als Anzeichen einer enchondralen Ossifikation hätte gewertet werden können. Die Umbauvorgänge im

transplantierten Knochen waren auch nach sechs Monaten noch nicht abgeschlossen, jedoch waren die Grenzen zwischen Transplantat und umliegendem Knochengewebe schwerer auszumachen (Siebert et al., 2001; Siebert et al., 2003b). Das Transplantat fügte sich im umliegenden Gewebe zu beiden Standzeiten gut ein.

Eine regelmäßige Oberfläche ist essentiell für einen guten Gelenkknorpelersatz (Marlovits und Véscei, 2000a), und der autologe Zylinder bildete in den meisten Präparaten einen nahezu nahtlosen Übergang mit dem umliegenden Knorpel. Allerdings wiesen viele Präparate leichte Unregelmäßigkeiten der Gelenkoberfläche auf, Spaltbildungen zwischen neuem und altem Knorpelgewebe waren die Regel. Ein Zylinder war unter das Gelenkflächenniveau eingesunken. Diese Stufenbildung kann zur vorzeitigen Degeneration des transplantierten Gewebes sowie zur Irritation und Schädigung des umliegenden Knorpels beitragen (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek und Imhof, 2003). In anderen Studien wurde ebenfalls fehlende Randintegration des transplantierten Knorpels bzw. ein Absinken der Zylinder unter Gelenkflächenniveau beobachtet (Lane et al., 2004; Siebert et al., 2001; von Rechenberg et al., 2003). Die fehlende Randintegration hat zur Folge, dass das kompliziert aufgebaute Maschenwerk der Knorpelmatrix nicht durchgehend wiederhergestellt wurde bzw. nicht zusammengewachsen ist. Der Spalt wird vermutlich immer eine Schwachstelle bleiben, da an dieser Stelle die knorpeltypische Struktur, die essentiell für optimale Druckverteilung ist, zerstört ist.

Nach sechs Monaten war die Safranin-Orange Anfärbung des Knorpels, vor allem in den Randbereichen des transplantierten Zylinders, deutlich schwächer als nach drei Monaten. Dieses Phänomen zeigte sich auch im benachbarten, gesunden Gelenkknorpel. Schwächere Anfärbbarkeit mit Safranin-Orange gilt als Hinweis auf einen gesunkenen Proteoglykangehalt (O'Driscoll und Salter, 1986), und sowohl der transplantierte Knorpel, als auch der gesunde Knorpel des Defektrandes zeigten in allen Präparaten Clusterbildung und Verlust der gewebetypischen Struktur. Der Verlust von Proteoglykanen bedeutet eine Abnahme der Kompressionskraft (Buckwalter et al., 1988; DiSilvestro und Suh, 2002; Martinek, 2003), und der Knorpel kann seine Aufgaben im Gelenk nur noch unzureichend erfüllen. Da der Beobachtungszeitraum dieser Studie nur sechs Monate betrug, wären Studien über einen längeren Zeitraum sinnvoll (Alparslan et al., 2001; Uhl et al., 2005). Außerdem ist zu beachten, dass Gelenkknorpel im menschlichen Kniegelenk eine Dicke von ca. 2-4 mm besitzt (Binnert et al., 2001) und damit mehr als doppelt so dick wie der Knorpel im Schafsknie. Die größere Diffusionsstrecke könnte die Heilung verzögern. Bei den Tieren, die mit dem osteochondralen Zylinder versorgt wurden, war ein signifikant höherer Anteil an hyalinem Knorpel messbar. Dies ist dadurch erklärbar, dass hier gesunder, vitaler Knorpel verpflanzt wurde. In dieser Gruppe war so nicht nur deutlich mehr Knorpelgewebe vorhanden, die Gruppe erhielt auch bei der Scorebewertung bei den Kriterien Oberflächenbeschaffenheit und Auffüllungsgrad deutlich mehr Punkte als die Tiere der Vergleichsgruppe. Es war nach drei Monaten nur in einigen Präparaten Entzündungszellen zu finden, nach sechs Monaten gar nicht. Eventuelle postoperative Entzündungsvorgänge könnten aber zum Zeitpunkt von drei Monaten bereits wieder abgeklungen sein. Nach drei Monaten Standzeit wiesen die Tiere im umliegenden Gewebe einen signifikant höheren Anteil an Bindegewebe auf als die Tiere mit sechs Monaten Standzeit. Die Umbauvorgänge schienen also nach sechs Monaten weitgehend abgeschlossen zu sein. In allen Präparaten schien der angrenzende, gesunde Knorpel in den Defektbereich zu fließen. Dieses „cartilage-flow“ Phänomen wurde auch in anderen Studien beobachtet und könnte Ergebnis einer vermehrten Belastung und vorzeitigen Degeneration des Knorpels im Bereich der Defektränder sein (Marlovits und Véscei, 2000a; Martinek und Imhof, 2003; Siebert et al., 2001). Ein Knorpelersatz sollte Dauerhaftigkeit gewährleisten. Leider zeigte der transplantierte Knorpel bereits nach sechs Monaten Degenerationserscheinungen in Form von Proteoglykanverlust (Messner, 1999). In dieser Studie zeigte sich eine relativ große Variation der Heilungsergebnisse, so scheint die Heilung von osteochondralen Defekten neben der Therapie auch von individuellen Faktoren abzuhängen (Marlovits und Véscei, 2000a; Siebert et al., 2003b).

5.2.2 Autologe Spongiosacluster

Die Tiere, die mit den autologen Spongiosaclustern behandelt wurden, zeigten sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten einen schlechteren Heilungserfolg als die Tiere der Vergleichsgruppe, die mittels OCT therapiert wurden. Nach beiden Standzeiten war der ursprüngliche Defektbereich noch zu erkennen. Drei Präparate (drei Monate Standzeit) zeigten eine Defektauffüllung auf das ursprüngliche Gelenkniveau, der Auffüllungsgrad blieb jedoch auch nach sechs Monaten signifikant schlechter als in der Vergleichsgruppe. Entsprechend schlechte Punktzahlen wurden in dieser Gruppe bei den Scores für Kriterien wie Auffüllung des Defektes oder Oberflächenbeschaffenheit vergeben. Zwar war der Anteil an hyalinem Knorpel in den gefüllten Defekten nach sechs Monaten nicht mehr signifikant unterschiedlich zu der Gruppe OCT, jedoch befand sich dieser neu gebildete Knorpel meist in der Tiefe des Defektes und hatte keinen Anteil an der Gelenkfläche. Van Dyk (van Dyk et al., 1998) führte ähnliche Studien an Hunden durch. Hier wurden ebenfalls mit Spongiosa aufgefüllte Defekte mit Leerdefekten verglichen. In dieser Studie wurden die Defekte mit einem Durchmesser von 10 mm allerdings nicht im lasttragenden Bereich gesetzt und wurden nicht mit einer Kollagenmembran abgedeckt. Van Dyk berichtet, dass sich nach acht Wochen eine faserknorpelige Gelenkoberfläche gebildet hatte. In dieser Studie wurde dies jedoch nicht beobachtet, was vermutlich auf die unterschiedlichen Lokalisation der Defekte oder die differenten Spezies zurückzuführen ist. Die von van Dyk beschriebene komplette Erneuerung des Knochens im Defekt nach zwölf Wochen konnte in dieser Studie ebenfalls nicht beobachtet werden. Im Defektbereich war signifikant weniger mineralisierter Knochen messbar als in der Gruppe OCT, was dadurch erklärt werden kann, dass in der anderen Gruppe ein vollständiger Knochenzylinder mit seiner ursprünglichen Struktur transplantiert und erhalten wurde. Die Spongiosacluster hingegen wurden *intra operationem* verdichtet. Es kam also zum vollständigen Verlust der ursprünglichen Knochenstruktur. Nach drei Monaten zeigten alle Präparate knöcherner laterale Zubildungen und ein mehr oder weniger ausgeprägtes aufeinander Zuwachsen der Defektränder, in zwei Fällen kam es in der Nähe der Gelenkfläche zu einer knöchernen Brückenbildung. Bei den meisten Defekten war hauptsächlich bindegewebiges Material im Defektbereich und zum Teil, wie auch von van Dyk und Leniz beobachtet, Faserknorpel zu sehen (Leniz et al., 2004; van Dyk et al., 1998). Das bindegewebige Material befand sich immer auf einer knöchernen Unterlage, bei einigen Präparaten war der Bereich unterhalb der knöchernen Füllung resorbiert und mit Bindegewebe aufgefüllt. Nach sechs Monaten waren die Defekte etwas weiter knöchern aufgefüllt als nach drei Monaten, wenn der Unterschied auch nicht signifikant war. Die Füllung war nach sechs Monaten stärker umgebaut als nach drei Monaten, in vielen Bereichen zeigte sich massive Ossifikationsaktivität und die Grenzen zwischen umliegendem Gewebe und Füllung war schwieriger auszumachen. Es waren viele Osteoklasten im Defektbereich zu sehen, vor allem in der Peripherie (Leniz et al., 2004). Osteoklasten werden durch ausgesendete Signale von aktiven Osteoblasten in die beschädigten Regionen gerufen (Bonewald, 2002). Osteoblasten produzieren auch den Macrophage Colony-Stimulating Factor (M-CSF), der bewirkt, dass Osteoklastogenese aus mesenchymalen Stammzellen induziert wird (Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil et al., 2006). Die Knochen trabekel in der Tiefe des Defektes wirkten unorganisiert und verdickt im Vergleich zum umliegenden Gewebe. Auch bei den Spongiosaclustern schien in allen Präparaten der angrenzende, gesunde Knorpel in den Defektbereich zu fließen. Im Bereich der Defektränder fiel bei allen Präparaten eine Verdickung des subchondralen Knochens auf (Day et al., 2004; Li et al., 1999; Miclau et al., 1996). Der Anteil an hyalinem Knorpel war nach sechs Monaten signifikant höher als nach drei Monaten. Dieses Knorpelgewebe befand sich je nach Auffüllungsgrad eher in der Tiefe, mittig oder im proximalen Bereich des Defektes, jedoch selten direkt an der Gelenkfläche. Alle Präparate zeigten eine unregelmäßige Oberfläche, was zu Irritationen im Gelenk und zur frühzeitigen Degeneration des gesunden Knorpels führen könnte (Martinek und Imhof, 2003).

Gerade in den Punkten Oberflächenbeschaffenheit und Wiederherstellung der Gelenkfläche erreichte die Technik der Spongiosacluster zu beiden Standzeiten deutlich schlechtere Ergebnisse als die Vergleichsgruppe, was sich vor allem in den Scoreergebnissen widerspiegelt. Die verwendete Kollagenmembran und das Fadenmaterial stellen in das

Gelenk eingebrachte Fremdkörper dar und könnten ebenfalls zu Irritationen im Gelenk und zu möglichen Komplikationen führen. In vielen Präparaten waren Entzündungszellen zu sehen, vor allem nach einer Standzeit von drei Monaten. Ferner könnte die in den Defekt eingebrachte Spongiosa in das Gelenk ausgeschwemmt werden und das Gelenk reizen. In dieser Studie waren neben vereinzelt Entzündungszellen jedoch keine Fremdkörperreaktionen festzustellen. Es ist jedoch möglich, dass etwaige Entzündungsvorgänge nach drei Monaten bereits wieder abgeklungen waren. Neben der vergleichsweise schlechteren Auffüllung der Defekte war bei den Tieren der Gruppen SC auch signifikant mehr Bindegewebe in den Defekten nachzuweisen. Aufgrund der kleinen Gruppengrößen und der erheblichen Variation der Gewebeanteile innerhalb einer Gruppe, vor allem in den Gruppen SC, sollten diese Ergebnisse kritisch beurteilt werden. Ein Vorteil der Auffüllung mit spongiösem Knochen ist sicherlich die beinahe unbegrenzte Verfügbarkeit (Leniz et al., 2004; Mommsen et al., 1984; Navarro et al., 2002; Siebert et al., 2003a). Zudem enthält der eingebrachte Knochen Progenitorzellen (van Dyk et al., 1998) und hat eine hohe osteogenetische Potenz (Mommsen et al., 1984). Bei der Verwendung von autologer Spongiosa besteht nicht die Gefahr einer Stufenbildung, die über das Gelenkniveau hinausragt, wie dies z.B. bei fehlerhaft platzierten Knorpel-Knochenzylindern möglich ist. Andererseits birgt Spongiosa die Gefahr der Ablösung einzelner Fragmente, die dann wiederum zur Irritation im Gelenk und zu weiterer Knorpeldegeneration führen können (Marlovits und Véscei, 2000b). Auch der Verlust der ursprünglichen Trabekelstruktur ist ein Nachteil gegenüber der Technik des osteochondralen Transfers. Wie erwartet, zeigt die Technik der Spongiosacluster schlechtere Ergebnisse in Hinsicht auf einen guten Gelenkknorpelersatz als die Technik des osteochondralen Transfers. Die erforderliche mechanische Stabilität für einen guten Gelenkknorpelersatz konnte durch die Spongiosacluster anscheinend nicht erreicht werden. Die Ergebnisse bleiben aber vor dem Hintergrund der kleinen Gruppen sowie der starken individuellen Unterschiede im Heilungsverlauf kritisch zu hinterfragen.

Die Hypothese, dass die Operationstechnik des osteochondralen Transfers hinsichtlich der Belastungsfähigkeit der Gliedmaße zu besseren Ergebnissen führt als die der Spongiosacluster, konnte nicht bestätigt werden. Allerdings zeigten die Tiere, die mit einem autologen Knorpel-Knochenzylinder behandelt wurden, wie erwartet bessere Ergebnisse hinsichtlich der Transplantatintegration und der Wiederherstellung der Gelenkoberfläche als die Vergleichsgruppen. Die Hypothese, dass die Heilungsergebnisse nach einer Standzeit von sechs Monaten besser sind als nach drei Monaten, konnte bestätigt werden. Die Heilung des Kontrolldefektes verlief erwartungsgemäß in allen Gruppen weitgehend ähnlich.

5.2.3 Leerdefekte

Die Ergebnisse dieser Studie bestätigten die Annahme, dass sich die Heilung des Kontrolldefektes zwischen den Gruppen nicht unterscheidet. Außerdem konnte bestätigt werden, dass osteochondrale Defekte über einer kritischen Defektgröße nur begrenztes Heilungspotential aufweisen und eine *restitutio ad integrum* durch Spontanheilung nicht erreicht wird (Convery et al., 1972; Convery et al., 1994; DePalma et al., 1966; Jackson et al., 2001b; Shahgaldi et al., 1991). Van Dyk (van Dyk et al., 1998) beschreibt in seiner Studie an Hunden, dass nach zwölf Wochen kein Unterschied zwischen einem mit Spongiosa gefüllten Defekt und einem unversorgten Kontrolldefekt zu erkennen war. Nach sechs Monaten waren gefüllte Defekte und Leerdefekte komplett knöchern aufgefüllt. Shapiro (Shapiro et al., 1993) machte bei einer Studie mit Kaninchen ähnliche Beobachtungen. In dieser Studie konnte diese Beobachtung allerdings nicht bestätigt werden. Zwar waren manche Leerdefekte gut aufgefüllt, jedoch waren die individuellen Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren so groß, dass keine pauschale Aussage über die Spontanheilung der Leerdefekte getroffen werden kann. Insgesamt war zu keiner Zeit ein Unterschied im Zusammenhang mit der verwendeten Therapiemethode bezüglich der Spontanheilung festzustellen. In allen Präparaten war der ursprüngliche Defektbereich noch deutlich zu erkennen. Alle Leerdefekte zeigten laterale, vorzugsweise proximal im Defektbereich gelegene sowie basale knöcherne Zubildungen im Defektbereich auf, die nach sechs

Monaten zwar nur in der Gruppe SC signifikant aber auch in der Gruppe OCT stärker ausgeprägt waren. Diese von basal beginnende Heilung eines unversorgten tiefen osteochondralen Defektes wurde bereits von anderen Arbeitsgruppen beschrieben (Calandruccio und Gilmer, 1962; DePalma et al., 1966; Mankin, 1982; Messner, 1999; Nakajima et al., 1998; Wakitani et al., 1994). Stammzellen aus dem Knochenmark wandern in den Defekt ein und differenzieren sich in der Tiefe zu Osteoblasten (Nakajima et al., 1998; Shapiro et al., 1993), im proximalen Bereich des Defektes differenzieren sie sich zu Chondroblasten (Messner, 1999). In allen Präparaten war ein deutliches aufeinander Zuwachsen der Defektränder zu beobachten, doch in keinem Präparat ragte der neu gebildete Knochen über das Niveau des umgebenden Knochens hinaus. Diese Beobachtungen decken sich mit anderen Studienergebnissen (Jackson et al., 2001a; Mankin, 1982). Die Trabekel im neu gebildeten Knochen schienen ungeordnet, die Zwischenräume erschienen verhältnismäßig klein. Unmittelbar an den Defekträndern war der subchondrale Knochen bei allen Präparaten verdickt. Der Anteil an Bindegewebe war in der Gruppe OCT nach drei Monaten signifikant höher als nach sechs Monaten. Bei allen Präparaten schien es, als würde der angrenzende gesunde Knorpel in den Defektbereich fließen (Ghadijally et al., 1977), und der gesunde Knorpel zeigte vor allem im Randbereich den Verlust seiner typischen Struktur und eine verstärkte Bildung von Chondrozytenclustern (Fuller und Ghadijally, 1972; Shapiro et al., 1993). Für dieses „cartilage-flow“ Phänomen sind vermutlich eine Kombination aus proliferierenden Zellen an der Gelenkoberfläche und im Kniegelenk auftretender Druck- und Scherkräfte bei Belastung verantwortlich (Calandruccio und Gilmer, 1962; Fuller und Ghadijally, 1972; Ghadijally und Ghadijally, 1975). In keinem einzigen Leerdefekt kam es zur Wiederherstellung einer physiologischen Gelenkoberfläche, wenn auch vereinzelt eine bindegewebige Auffüllung auf Gelenkniveau festgestellt wurde. Die Oberfläche war jedoch in allen Präparaten unregelmäßig. Eine Heilung solch ausgedehnter Defekte scheint nur durch Implantation von geeigneten Materialien erreichbar zu sein (Kübler, 2002).

5.2.4 Vergleich der Operationstechniken und der Leerdefekte in dieser Studie

In dieser Studie wurden zwei ausgewählte Therapieverfahren zur Behandlung osteochondraler Defekte mit der Heilung eines unbehandelten Defektes verglichen. Um einen guten Gelenkknorpelersatz zu bilden, muss das Regenerat verschiedenen Ansprüchen gerecht werden. Die Integration im umliegende Gewebe ist wesentlich für eine Wiederherstellung einer schmerzfreien Gelenkfunktion (Marlovits und Véscei, 2000a). Fehlende Integration stellt eine Schwachstelle im Gelenk dar, Scherkräfte können schlechter abgefangen werden und neues sowie natives Gewebe vorzeitig degenerieren. Nach zwölf Wochen war in allen Präparaten, gefüllten und unbehandelten Defekten, noch der ursprüngliche Bohrkanal zu erkennen. Keines der Präparate zeigte eine so innige Verbindung zum umliegenden Gewebe, dass man die Grenzen nicht mehr hätte erkennen können. Auch die transplantierten Knorpel-Knochen-Zylinder der Gruppe OCT waren noch deutlich vom umliegenden Gewebe abgrenzbar. Nach sechs Monaten zeigten nur drei der sechs transplantierten Zylinder eine so gute, vorwiegend laterale Integration im umliegenden Gewebe, dass der ursprüngliche Defekt nicht mehr zu erkennen war. Die Spongiosacluster und die unbehandelten Defekte waren auch nach sechs Monaten deutlich makroskopisch vom nativen Gewebe abgrenzbar. Im Gegensatz dazu lagen die osteochondralen Zylinder fest verankert im Implantatbett und bildeten einen engen Kontakt zum umliegenden Gewebe. Dadurch erzielte die Gruppe OCT im Scorekriterium „strukturelle Integrität“ bessere Ergebnisse als die Vergleichsgruppe. Auch die basale knöcherne Integration war in der Gruppe OCT besser als in der Gruppe SC. Nach sechs Monaten erreichten vier von sechs Tieren der Gruppe OCT die erreichbare Höchstpunktzahl für basale Integration. Die guten Ergebnisse der Gruppen OCT verschleiern jedoch die Tatsache, dass der transplantierte Knorpel neben beginnenden Degenerationserscheinungen auch nach sechs Monaten keine Verbindung zum umliegenden Gewebe zeigte. Auch eine minimale Spaltbildung zwischen transplantiertem Gewebe und umliegendem Knorpel wird immer zu Irritationen im Gelenk und zwangsläufig zu Veränderungen an den Knorpelrändern, sowohl im Zylinder als auch im angrenzenden gesunden Gewebe führen. Laut Lewandowska (Lewandowska et al., 1987)

erschweren negativ geladene Proteoglykane des Gelenkknorpels eine Anheftung von Zellen. Dies könnte die fehlende Integration des transplantierten Knorpels erklären. Der Bereich dieser Kontaktstelle zum nativen Knorpel füllt sich mit Bindegewebe, das die Wundränder locker miteinander verbindet und in enger Verbindung mit dem unterliegenden Gewebe steht (Calandruccio und Gilmer, 1962; Convery et al., 1972; DePalma et al., 1966). Bei dem Präparat der Gruppe OCT, bei dem der Zylinder unter Gelenkflächenniveau gerutscht war, wurde der Zylinder komplett mit Bindegewebe bedeckt. In der Gruppe SC war nach drei Monaten in drei von sechs Präparaten eine deutliche basale und laterale knöcherne Verbindung zwischen Defektfüllung und umliegendem gesunden Gewebe erkennbar. Es ist allerdings unklar, ob die Spongiosacluster im Gewebe integriert wurden oder aber abgebaut und durch neues Knochengewebe vollständig ersetzt wurden. Nach sechs Monaten war in den meisten Präparaten eine fortschreitende knöcherne basale Auffüllung des Defektes zu beobachten. Viele Defekte waren noch nicht bis auf Gelenkflächenniveau aufgefüllt und konnten so nur die Integration entsprechend ihres Auffüllungsgrades zeigen. Die Heilung der Kontrolldefekte wies erwartungsgemäß keinen Unterschied zwischen den beiden Therapiemethoden auf. Einige Leerdefekte waren hauptsächlich bindegewebig auf das Niveau der Gelenkoberfläche aufgefüllt und zeigten sowohl basale, vorzugsweise jedoch laterale knöcherne Zubildungen im Defekt. Die lateralen Zubildungen befanden sich vorwiegend proximal im Defekt, nahe der Gelenkfläche. Bei einigen Präparaten kam es hier zu einer knöchernen Brückenbildung, teilweise bedeckt von bindegewebigem Material. In vielen Fällen, vor allem nach sechs Monaten, waren die Defekte bis auf Gelenkflächenniveau aufgefüllt. Die Oberfläche war jedoch in allen Fällen unregelmäßig. Auch bei der Operationstechnik des osteochondralen Transfers waren trotz des beinahe nahtlosen Übergangs zwischen Transplantat und umliegendem Gewebe Unregelmäßigkeiten der Oberfläche zu erkennen. Bei der Gruppe SC war nach drei Monaten kein einziger Defekt auf Gelenkflächenniveau aufgefüllt, nach sechs Monaten nur zwei. Die Auffüllung war hauptsächlich bindegewebig und in keinem einzigen Präparat wurde eine glatte, regelmäßige Oberfläche gebildet. Zwar war nach sechs Monaten zwischen den beiden Therapieformen kein signifikanter Unterschied bezüglich des Anteils an hyalinem Knorpel im Defektbereich feststellbar, jedoch befand sich dieser in der Gruppe SC meist in der Tiefe des Defektes und trug nicht zur Gelenkflächenbildung bei. Damit bestätigt sich die Hypothese, dass die Operationstechnik der OCT zu einer besseren Transplantatintegration und einer besseren Wiederherstellung der Gelenkfläche führt als die Technik der Spongiosacluster. Zu berücksichtigen bleibt, dass auch die Technik der OCT nicht zu einer *restitutio ad integrum* führte. Trotz der guten Fixierung und Positionierung der Zylinder konnte eine vollständig glatte und regelmäßige Gelenkfläche nicht wiederhergestellt werden. Unregelmäßigkeiten und Rauigkeiten auf der Gelenkfläche können Präarthrosen darstellen (Martinek und Imhof, 2003). Die ungefüllten Defekte zeigten noch schlechtere Heilungsergebnisse. Nach drei Monaten waren die Defekte hauptsächlich bindegewebig aufgefüllt. Nur ein Präparat zeigte eine Auffüllung bis auf das Niveau der Gelenkoberfläche. Nach einer Standzeit von sechs Monaten war der Auffüllungsgrad deutlich besser, wenn auch in keinem Präparat, weder nach drei noch nach sechs Monaten, eine glatte und regelmäßige Oberfläche gebildet wurde. Durch laterale knöcherne Zubildungen kam es in vielen Präparaten zu einer Brückenbildung an der Gelenkfläche. Unterhalb dieser Brücke bildeten sich allerdings teilweise Hohlräume, und so ist fraglich, ob die rekonstruierte Gelenkfläche die notwendige Steifigkeit aufweist, um den Anforderungen im Gelenk gerecht zu werden. Die wichtigsten Funktionen des Gelenkknorpels sind Lastenverteilung und Verringerung der Gelenkfraktion bei Bewegung. Dies setzt eine gewisse Steifigkeit des Regenerats voraus, welches im Idealfall dieselbe Steifigkeit wie das umliegende Knorpelgewebe erreicht (Marlovits und Véscei, 2000a). Bleibt es weicher als das umliegende Knorpelgewebe, führt dies zu einer vermehrten Belastung des gesunden benachbarten Knorpels mit der Möglichkeit der vorzeitigen Degeneration. Für die besonderen Eigenschaften hyalinen Knorpels sind zum einen seine Struktur und zum anderen der unterliegende subchondrale Knochen entscheidend (Marlovits und Véscei, 2000a). Bei der Technik der OCT war es möglich, nativen Knorpel und Knochen in der ursprünglichen Struktur zu transplantieren. Bei der Technik der SC hingegen wurde die ursprüngliche Trabekelstruktur des Knochens durch

Zerkleinern und Verdichten zerstört. Zwar wurde der Defekt bis zur Knorpel-Knochen Grenze aufgefüllt, das mechanische Gerüst sowie der hyaline Knorpel wurden jedoch nicht ersetzt. In der Gruppe OCT war nach drei und sechs Monaten der transplantierte subchondrale Knochen noch erhalten, was sich in dem signifikant höheren Anteil an Knochengewebe zeigt. Ferner enthielten die Füllungen der Gruppe OCT zu beiden Standzeiten signifikant weniger Bindegewebe und einen besseren Auffüllungsgrad. Nach sechs Monaten war die transplantierte subchondrale Knochenplatte in zwei Präparaten nicht mehr zu erkennen. In allen Präparaten war eine Verdickung des subchondralen Knochens im Zylinder zu erkennen, bei manchen auch im umliegenden Gewebe. Die Knochen trabekel im angrenzenden gesunden Gewebe und teilweise auch innerhalb der Implantate erschienen ebenfalls verdickt und ungeordnet im Vergleich zum nativen Gewebe. Nach drei Monaten hatte sich in einem Präparat eine Höhle am Defektrand gebildet, wovon sowohl der transplantierte Zylinder als auch das benachbarte Gewebe betroffen waren. Ein bindegewebig gefüllter Hohlraum war auch in einem Präparat nach sechs Monaten zu sehen. Der gesunde hyaline Knorpel schien bei fast allen Präparaten in den Defektbereich zu fließen. Möglicherweise ist dies eine Folge von im Gelenk auftretenden Scherkräften, denen der gesunde Knorpel in den Defektbereich ausweicht. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass der Knorpel in der Safranin-Orange Färbung an den Defekträndern und im transplantierten Knorpel etwas schwächer gefärbte Inseln aufwies, was auf einen gesunkenen Proteoglykangehalt hinweist (O'Driscoll und Salter, 1986). An diese Stellen könnte die Versorgung des Knorpels durch den operativen Eingriff so beeinflusst worden sein, dass sich die Zusammensetzung im Gewebe nachhaltig änderte. Proteoglykanverlust führt zwangsläufig auch zu Veränderungen der knorpelspezifischen Eigenschaften. Bei der Technik der Spongiosacluster war nach drei und sechs Monaten in allen Defekten bindegewebiges Material auf einer knöchernen Grundlage zu sehen, wobei nach sechs Monaten der Anteil an Knochen höher und der Anteil an Bindegewebe niedriger war als nach drei Monaten. Die knöchernen Zubildungen ragten jedoch nie über das Gelenkniveau. Vereinzelt waren auch noch Fadenfragmente am Rand des Defektes zu finden. Nach drei Monaten war in drei von sechs Präparaten der Bereich unterhalb der knöchernen Füllung resorbiert und mit Bindegewebe aufgefüllt, in einem Präparat war der knöcherne Defektrand an beiden Seiten unterhöhlt und die Defektränder eingebrochen. Möglicherweise ist dies bei Belastung des Gelenkes geschehen und Folge mangelnder Stabilität des umgebauten Gewebes (Marlovits und Véscei, 2000b). Auch nach sechs Monaten waren in drei von sechs Präparaten recht große, bindegewebig gefüllte Hohlräume in der Tiefe des Defektes zu erkennen. Wie auch in der Gruppe OCT schien der angrenzende Knorpel in den Defektbereich zu fließen. Das knöcherne Gewebe in der Tiefe des Defektes wirkte verdickt im Vergleich zu den Trabekeln des gesunden Gewebes und die Knochenlakunen waren deutlich kleiner. Im angrenzenden gesunden Gewebe fiel zu beiden Standzeiten eine Verdickung des subchondralen Knochens auf (Duda et al., 2005). Die Leerdefekte der Gruppen unterschieden sich erwartungsgemäß nicht voneinander. Sie waren nach sechs Monaten mehr aufgefüllt als nach drei Monaten, eine Wiederherstellung der Gelenkoberfläche fand jedoch in keinem der Präparate statt. Wie in der Literatur beschrieben, fand hier eine Defektheilung durch das Eröffnen des Knochenmarkraums statt. Nach dem Einbluten in den Defekt bildet sich zunächst ein Fibrinpfropf und später dann aus rekrutierten Knochenmarkszellen Faserknorpel (Alford und Cole, 2005b; Burkart et al., 2001; DePalma et al., 1966; Duda et al., 2005; Friedman et al., 1984; Furukawa et al., 1980; Mankin, 1982; Minas und Nehrer, 1997; Steadman et al., 1997; Steadman et al., 2002), der in vielen Präparaten messbar war. Dieser Faserknorpel wurde stellenweise auch zu hyalinem Knorpel umgewandelt (Alford und Cole, 2005b; Burkart et al., 2001; DePalma et al., 1966; Furukawa et al., 1980), bildete aber keinen Teil der Gelenkfläche, sondern wird durch enchondrale Ossifikation zu Knochengewebe umgewandelt. Während sich bei OCT und SC das Knorpelgewebe eher proximal im Defektbereich bildete, fand sich dieses Gewebe in den Leerdefekten eher im unteren Bereich. Knorpel in tieferen Bereichen ist ein Zeichen für mechanische Unruhe im Defektbereich. Durch die fehlende Stabilität differenzieren sich die Stammzellen erst zu Chondrozyten und dann zu Knochenzellen (Caplan, 1990).

Bei allen Leerdefekten war das „cartilage-flow Phänomen“ zu beobachten. Der defektnahe Knorpel schien in den Defektbereich zu fließen, zu erkennen waren deutliche degenerative Veränderungen wie schwindende Chondrozytenzahl, Proteoglykanverlust, Verlust der gewebetypischen Struktur und Bildung von Chondrozytenclustern. Diese Schäden könnten beim Setzen des Defektes entstanden sein, möglicherweise sind aber auch hemmende Faktoren durch die Synovia verantwortlich (Calandruccio und Gilmer, 1962). Ein Knorpelersatz sollte neben Funktionalität auch Dauerhaftigkeit gewährleisten. Da zunehmend jüngere Patienten unter Knorpelverschleiß leiden, stellt der Knorpelersatz besondere Ansprüche an die Langlebigkeit des Regeneratgewebes. Leider zeigt Füllgewebe in osteochondralen Defekten nur eine sehr begrenzte Überlebensdauer (Marlovits und Véscei, 2000a; Messner, 1999). In dieser Studie lassen sich nur Aussagen über die Heilungsergebnisse der verschiedenen Therapieverfahren nach drei bzw. sechs Monaten treffen. Es wäre sinnvoll, ähnliche Projekte über einen Zeitraum von fünf, zehn oder mehr Jahren zu beobachten.

Auch ist die Erfolgsaussicht des Heilungserfolges nach solchen Operationen wenig vorhersagbar. Allein in dieser Studie zeigte die Heilung vor allem der Leerdefekte, aber auch der Spongiosacluster, erhebliche individuelle Unterschiede (Marlovits und Véscei, 2000a; Siebert et al., 2003b). Bei den Leerdefekten kam es lediglich zu einer Vernarbung, und das Regeneratgewebe hat eine nur mittelfristige Lebenserwartung (Bert und Maschka, 1989; Buckwalter und Mankin, 1998b; Easley und Scranton, 2003; Ulrich-Vinther et al., 2003). Die vernarbte Stelle auf dem Gelenkknorpel stellt außerdem eine mögliche Präarthrose dar (Martinek und Imhof, 2003). Weder bei den Spongiosaclustern noch bei den unbehandelten Defekten wurde ein dem nativen Gewebe ähnliches, hyalines Knorpelregenerat gebildet. Dies bestätigt die Hypothese, dass die Technik der OCT die besten Heilungsergebnisse zeigt. Der Zylinder gewährleistete einen geeigneten Ersatz für das fehlende Gewebe im Defekt, wobei er die native Knochenstruktur und nativen, hyalinen Knorpel bereitstellte. Ebenfalls bestätigt wurde die Hypothese, dass die Heilungsergebnisse nach sechs Monaten besser sind als nach drei Monaten, so fand sich in der Gruppe OCT und in den Leerdefekten nach sechs Monaten signifikant weniger Bindegewebe im umliegenden Gewebe als nach drei Monaten. Der Verlust der Proteoglykane im transplantierten Knorpel und im Transplantatbett ist jedoch ein Faktor, der bei der Beurteilung berücksichtigt werden muss. Eine Heilung solch ausgedehnter Defekte ist nur durch Implantation von geeigneten Materialien erreichbar (Kübler, 2002; Naumann et al., 2002), da in diesem Fall das Selbstheilungspotential des Gewebes nicht ausreicht. Unklar bleibt allerdings, welche Therapie bezüglich der Schmerzhaftigkeit und Wiederherstellung der Gelenkfunktion die größte Linderung verspricht. Bei der Messung der Bodenreaktionskräfte wurde kein Unterschied zwischen beiden Therapieverfahren festgestellt. Nach anfänglicher Entlastung wurde die operierte Gliedmaße ab der zwölften Woche wieder mit der ursprünglichen Kraft belastet. Mit Hilfe des Scores sollten einzelne Kriterien, die einen guten Knorpelersatz ausmachen, beurteilt werden. Im ersten Teil des Scores, bei der Beurteilung der Gewebequalität im Defektbereich, erzielten die Gruppe OCT zu jeder Standzeit signifikant bessere Werte als die Gruppe SC. Auffallend war, dass nach drei Monaten (OCT) bessere Werte erzielt wurden als nach sechs Monaten, während die Gruppe SC nach sechs Monaten signifikant bessere Ergebnisse zeigte als nach drei Monaten Standzeit. In der Gruppe OCT verschlechterte sich vor allem die Qualität des transplantierten Knorpels während sich in der Gruppe SC der Auffüllungsgrad und die Integration verbesserte. An der erreichten Punktzahl lässt sich nur schwer nachvollziehen, wie das entsprechende Tier in den Einzelkriterien bewertet wurde. Viele Defekte, vor allem Leerdefekte, waren zum Zeitpunkt der Untersuchung noch nicht ausreichend aufgefüllt, um eine gute Bewertung beim Auffüllungsgrad und bei der Beurteilung der Gewebequalität an der Gelenkfläche zu erreichen. Viele schlecht aufgefüllte Defekte waren bindegewebig mit den Rändern verbunden und erhielten recht hohe Werte, obwohl die Gelenkfläche nicht wiederhergestellt war. Der zweite Teil des Scores sollte die Integration des Transplantats bewerten. Auch hier erzielten die Gruppen OCT bessere Werte als die Vergleichsgruppen, doch ist hierbei zu bedenken, dass bei erstgenannten Tieren ein kompletter Zylinder verpflanzt wurde, der von

Beginn an vollständigen Kontakt zum umliegenden Gewebe hatte. Die guten Ergebnisse der Gruppen OCT verschleiern die Tatsache, dass der transplantierte Knorpel neben Degenerationserscheinung auch nach sechs Monaten keine Verbindung zum umliegenden Gewebe zeigte.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Technik des osteochondralen Transfers sowohl bei der Gewebequalität im Defektbereich als auch bei der Integration des Transplantates bessere Ergebnisse zeigt als die Vergleichsgruppe. Nach längerer Standzeit zeigt der transplantierte Knorpel allerdings erste Degenerationserscheinungen. Folgeprojekte, die die Entwicklung über einen längeren Zeitraum untersuchen, wären sinnvoll. Auch ist zu bedenken, dass die Gruppengröße mit sechs Tieren pro Gruppe relativ klein gewählt war. Innerhalb der Gruppen traten z.T. erhebliche Unterschiede auf die eine pauschale Aussage über den genauen Heilungserfolg erschweren.

5.3 Schlussfolgerung

Diese Untersuchung hat ergeben, dass osteochondrale Defekte dieser Größe ohne chirurgische Intervention innerhalb von sechs Monaten nicht vollständig ausheilen. Die unversorgten Defekte zeigten in beiden Therapiegruppen einen ähnlichen Heilungsverlauf und bestätigen viele vorangegangene Studien zur Knorpelheilung. Eine Knorpelersatztherapie ist bei Knorpeldefekten dieser Größe also unumgänglich. Außerdem konnte festgestellt werden, dass die Implantate, die der nativen Struktur des Gewebes am ähnlichsten waren, die besten Heilungsergebnisse zeigten. Die mechanische Stabilität des transplantierten subchondralen Knochens bei der Technik der OCT erlaubte eine funktionelle Belastung des Knorpels und konnte die normale Ernährung des transplantierten Knorpels durch Synovia und transplantierte Gefäße, zumindest am Anfang, gewährleisten. Das wichtigste Ziel nach einer Verletzung des Gelenkknorpels ist die möglichst schnelle Wiederherstellung der Gelenkfläche. Dieses Ziel wurde in dieser Studie von den autologen osteochondralen Transplantaten am besten erreicht. Die Tiere, die mit den Spongiosaclustern versorgt wurden, zeigten nach sechs Monaten einen besseren Auffüllungsgrad als nach drei Monaten und der Knorpelanteil unterschied sich nach sechs Monaten nicht mehr von dem der Gruppe OCT, in einigen Fällen konnte sogar die Gelenkfläche wiederhergestellt werden. Hinsichtlich der speziellen Anforderungen im Kniegelenk schien aber die Technik der OCT besser geeignet zu sein. Die Umbauprozesse bei den osteochondralen Zylindern schienen nach drei Monaten weitgehend abgeschlossen zu sein, doch auch die mit Spongiosaclustern gefüllten Defekte enthielten nach sechs Monaten deutlich mehr Knochen und Knorpelgewebe als nach drei Monaten. Möglicherweise wären die Spongiosacluster nach einer längeren Standzeit noch besser im umliegenden Gewebe integriert und würden eine gleichmäßigere Gelenkoberfläche bilden, während der transplantierte Knorpel der OCT weitere Degenerationserscheinungen zeigen würde. Eine sofortige Wiederherstellung der Gelenkfläche wurde von den autologen Zylindern erreicht, jedoch bereits nach sechs Monaten zeigten sich Degenerationserscheinung im transplantierten Knorpel. Das gebildete Regeneratgewebe der Gruppe SC und der Leerdefekte bestand hauptsächlich aus Bindegewebe und Faserknorpel. Klar wurde in dieser Studie, dass eine Auffüllung auf jeden Fall bessere Ergebnisse zeigt als keine Behandlung. Trotz verschiedener klinischer Verfahren stellt die operative Behandlung von Knorpeldefekten nach wie vor eine Herausforderung dar. Die individuellen Faktoren eines jeden Patienten müssen berücksichtigt werden und das für ihn geeignete Verfahren sorgfältig ausgewählt werden. Inwiefern Schmerzhaftigkeit, eingeschränkte Funktion und die Lebensqualität von den jeweiligen Therapieverfahren beeinflusst werden, konnte in dieser Studie nicht evaluiert werden.

6. Zusammenfassung

Histologische und histomorphometrische Untersuchung zur Regeneration osteochondraler Defekte im Kniegelenk zu ausgewählten Zeitpunkten: Vergleich zwischen autologem osteochondralen Transfer, autologer Spongiosa und unbehandelten Defekten. Eine Studie im Schafmodell.

Gelenkknorpel verfügt über ein sehr begrenztes Selbstheilungspotential. Viele Studien zeigen, dass eine Defektheilung nur durch Eröffnen des Knochenmarkraumes und Anschluss an das Gefäßsystem induziert werden kann. Entscheidend sind außerdem die Ausdehnung und Tiefe des Defektes. Zahlreiche Behandlungsmethoden werden klinisch eingesetzt, doch meist wird nur ein Ersatz durch Faserknorpel erreicht, der hinsichtlich seiner biomechanischen Eigenschaften dem hyalinen Knorpel unterlegen ist. Ziel dieser Studie war, die klinisch etablierte Methode des osteochondralen Transfers mit einer Defektfüllung aus autologer Spongiosa zu vergleichen. Die Knorpelregeneration der beiden Behandlungsmethoden wurde histologisch und histomorphometrisch mit unbehandelten Defekten verglichen. Bei 24 ausgewachsenen Merino-Mix Schafen wurden im linken Knie in beiden Femurkondylen osteochondrale Defekte gesetzt. Die Defekte wurden randomisiert medial oder lateral entweder mit einem autologen Knorpel-Knochen Zylinder oder autologer Spongiosa aufgefüllt. Der Entnahmedefekt verblieb unbehandelt und diente als Kontrolle. Die ausgewählten Beobachtungszeitpunkte dieser Studie betragen drei und sechs Monate. Zur histologischen und histomorphometrischen Auswertung wurden Safranin-Orange/von Kossa und Safranin-Orange/Lichtgrün gefärbte Präparate verwendet. Zusätzlich wurde die Belastung der Gliedmaßen durch Messung der Bodenreaktionskräfte über den gesamten Beobachtungszeitraum gemessen.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die Behandlungsmethode der autologen Spongiosacluster der des autologen osteochondralen Transfers unterlegen war. Das Implantat konnte die nötige mechanische Stabilität nicht gewährleisten und histologisch sowie histomorphometrisch eine geringere knöcherne Auffüllung sowie das Fehlen hyalinen Knorpels an der Gelenkfläche gemessen werden.

Der positive Einfluss einer erhaltenen Knochenstruktur und die gute knöcherne Integration des Implantats spiegelt sich vor allem in den Scoreergebnissen der OCT Gruppe wider.

Fazit dieser Studie ist, dass trotz beginnender degenerativer Veränderungen im transplantierten Knorpel die Technik des autologen osteochondralen Transfers der der Spongiosacluster und der unbehandelten Defekte überlegen war.

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 autologous osteochondral transfer, crushed cancellous bone and untreated defects.

Articular cartilage lacks an intrinsic ability to heal completely. Many studies have shown that the repair process can be initiated by the creation of a penetrating defect into the marrow cavity. The amount and quality of healing is dependent on the lesion size and depth. There are numerous treatment options for focal cartilage defects but most techniques only induce a fibrocartilage healing response which is biomechanically inferior to true hyaline cartilage.

The objective of this study was to compare the clinically established method of osteochondral autografts with crushed autologous cancellous bone as a cartilage defect filling. The aim of the study was to histologically and histomorphometrically examine the cartilage regeneration in the group of the osteochondral transfer, the crushed cancellous bone and untreated defects. Two osteochondral defects were created in both condyles of the left stifle joint in 24 adult Merino-Mix sheep. The defects were randomised filled either on the lateral or medial side with an osteochondral autograft or autologous crushed cancellous bone. The harvesting defect remained untreated and served as a naturally healing control defect. Postoperative observation periods of three and six months were chosen. The histological and histomorphometrical evaluation of the specimen has been carried out after Safranin-Orange/von Kossa and Safranin-Orange/lightgreen staining. Additionally, the load of the operated and healthy limbs have been measured during the whole observation period.

The results of the study showed that the treatment of crushed cancellous bone was inferior to the treatment of the osteochondral autograft. The implant was not able to provide the necessary mechanical support. Histologically and histomorphometrically, there was a suboptimal osseous support of the defect as well as a lack of hyaline cartilage at the articular surface.

A positive influence of good osseous support, provided by the native structure of the autografts was demonstrated in the OCT group after three and six months. A good bony ingrowth correlated with good results in the scoring system.

The conclusion is that despite of beginning degenerative evidence in the transplanted cartilage, the autologous osteochondral transfer was superior to the defect filling with cancellous bone and no treatment at all.

8. Anhang

<u>Färbereihe Safranin-Orange/von Kossa:</u>	
1.	kurzes eintauchen der Schnitte in 100%igen, 96%igen, 80%igen und 70%igen Alkohol;
2.	kurzes eintauchen in Aqua dest.
3.	5 min färben in 3%iger Silbernitratlösung ⁴¹
4.	3-mal spülen in Aqua dest.
5.	2 min reduzieren in Natrium-Formaldehydlösung ⁴²
6.	10 min wässern mit Leitungswasser
7.	5 min einlegen in 5%igem Natriumthiosulfat ⁴³
8.	10 min wässern mit Leitungswasser
9.	kurzes spülen in Aqua dest.
10.	8 min färben mit Safranin-Orange ⁴⁴
11.	kurzes spülen in Aqua dest.
12.	zweimaliges entwässern für je 2 min in 96%igem und 100%igem Alkohol
13.	2 mal 5 min einlegen in Xylol

Tabelle 3: Färbereihe Safranin-Orange/ von Kossa

<u>Färbereihe Safranin-Orange/Lichtgrün:</u>	
1.	kurzes eintauchen der Schnitte in 100%igen, 96%igen, 80%igen und 70%igen Alkohol;
2.	kurzes eintauchen in Aqua dest.
3.	8 min färben in Safranin-Orange
4.	kurzes spülen in Aqua dest.
5.	15 min färben in Pikrinsäure ⁴⁵
6.	kurzes spülen in Aqua dest.
7.	kurzes spülen in 1%iger Essigsäure ⁴⁶
8.	8 min färben mit Lichtgrün ⁴⁷
9.	kurzes spülen in 1%iger Essigsäure
10.	kurzes spülen in 100%igem Alkohol
11.	2 mal 5 min einlegen in Xylol
12.	eindecken der gefärbten Präparate mit Vitro-Clud®

Tabelle 4: Färbereihe Safranin-Orange/ Lichtgrün

⁴¹ 3g Silbernitrat, Fa. Merck 1512, in 100ml Aqua dest.

⁴² 5g Na-karbonat, Fa. Merck 6392 (wasserfrei), in 25ml 35-40% Formaldehyd und 75ml Aqua dest.

⁴³ 50g Na-thiosulfat, Fa. Merck 6516, auf 1000ml Aqua dest.

⁴⁴ 10g Safranin-Orange, Fa. Merck 1382, auf 1000ml Aqua dest.

⁴⁵ Pikrinsäure, Fa. Riedel-de-Haën®

⁴⁶ 10ml Eisessig auf 1000ml Aqua dest.

⁴⁷ 1-2g Lichtgrün, Fa. Chroma 1B-211, in 1000ml Aqua dest. + 2ml Eisessig

<u>Färbereihe Masson-Goldner-Trichrom:</u>	
1.	Kurzes eintauchen der Schnitte in 100%igen, 96%igen, 80%igen und 70%igen Alkohol;
2.	kurzes eintauchen in Aqua dest.
3.	4 min Kernfärbung mit Weigerts Eisenhämatoxylin ⁴⁸
4.	10 min wässern mit Leitungswasser
5.	5 min färben in Säurefuchsin-Ponceau ⁴⁹
6.	kurzes spülen in 1%iger Essigsäure
7.	20 min differenzieren in Phosphormolybdänsäure-Orange G ⁵⁰
8.	kurzes spülen in 1%iger Essigsäure
9.	10 min gegenfärben mit Lichtgrün
10.	kurzes spülen in 1%iger Essigsäure
11.	kurzes entwässern in 3 Portionen 100%igen Alkohols
12.	2 mal 5 min einlegen in Xylol
13.	eindecken der gefärbten Präparate mit Vitro-Clud®

Tabelle 5: Färbereihe Masson-Goldner-Trichrom

Implantat		Kontaktfläche (%)	Maximalkraft (%)	Kontaktzeit (%)
OCT	Minimum	57.52	59.27	53.14
	Maximum	116.76	137.96	121.90
	Median	97.43	99.75	90.98
SC	Minimum	62.32	51.09	62.10
	Maximum	123.93	146.63	141.37
	Median	97.63	100.61	92.11

Tabelle 6: Messung der Bodenreaktionskräfte: Median, Minimal- und Maximalwerte der Gruppen SC und OCT der gemessenen Kontaktfläche, Maximalkraft und Kontaktzeit

⁴⁸ Waldeck GmbH&Co. KG, 48161 Münster, Deutschland

⁴⁹ Säurefuchsin=Ponceau Fuchsin, Fa. Chroma 2 C 149

⁵⁰ 3-5g Phosphormolybdänsäure, Fa. Merck 100532, + 2g OrangeG, Fa. Merck 15925 in 100ml Aqua dest.

Standzeit	Implantat	Präparat		Knorpel	Knochen	Binde- gewebe	Leerfläche	Rest
3 Monate	OCT	Füllung	Minimum	4	28	9	0	11
			Maximum	10	51	47	6	46
			Median	8,04	39,99	14,04	2,28	30,96
		LD	Minimum	1	2	9	3	2
			Maximum	8	38	71	40	44
			Median	5,3	15,23	48,13	12,7	21,72
		Nativ	Minimum	3	31	0	0	40
			Maximum	12	52	3	0	60
			Median	5,18	37,38	1,38	0	55,19
6 Monate	OCT	Füllung	Minimum	4	39	0	0	25
			Maximum	10	67	16	3	47
			Median	5,03	46,33	5,75	1,4	34,11
		LD	Minimum	2	13	1	1	20
			Maximum	11	50	45	9	60
			Median	5,54	37,67	24,85	3,7	29,58
		Nativ	Minimum	3	33	0	0	35
			Maximum	12	54	1	0	63
			Median	3,41	38,75	0,15	0	56,8
3 Monate	SC	Füllung	Minimum	1	11	28	6	8
			Maximum	7	27	56	25	35
			Median	2,42	24,71	44,75	14,54	15,78
		LD	Minimum	1	7	34	3	13
			Maximum	5	40	79	11	41
			Median	1,65	18,7	49,14	10,39	28,01
		Nativ	Minimum	3	31	0	0	38
			Maximum	10	53	1	0	66
			Median	6,59	48,07	0	0	44,63
6 Monate	SC	Füllung	Minimum	4	11	6	4	9
			Maximum	11	41	54	14	44
			Median	5,74	29,7	36,26	5,55	24,94
		LD	Minimum	2	14	4	2	10
			Maximum	10	43	59	49	45
			Median	5,79	26,72	38,15	7	19,34
		Nativ	Minimum	5	44	0	0	34
			Maximum	16	55	3	0	47
			Median	8,77	50,07	0,24	0	41,46

Tabelle 7: Ergebnisse der Bildanalyse: Median, Minimal- und Maximalwerte der Gruppen SC und OCT (Gewebeanteil an Gesamtgewebe (%))

		Gewebe										
		Knorpel		Knochen		Binde- gewebe		Leerfläche		Rest		
Standzeit	Präparat		ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD
3 Monate	Füllung	Mann-Whitney-U	7,0	17,0	14,0	11,0	16,0	9,0	14,0	15,5	15,0	17,0
		Wilcoxon-W	28,0	38,0	35,0	32,0	37,0	30,0	35,0	36,5	36,0	38,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,078	,873	,522	,262	,749	,150	,522	,688	,631	,873
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	2,0	10,0	,00	10,0	3,0	4,0	,00	13,5	7,0	1,0
		Wilcoxon-W	23,0	31,0	21,0	31,0	24,0	25,0	21,0	34,5	28,0	22,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,010	,20	,004	,20	,016	,025	,004	,463	,078	,006
	Nativ	Mann-Whitney-U	17,0	14,0	11,0	12,0	7,0	9,0	18,0	18,0	13,0	13,0
		Wilcoxon-W	38,0	35,0	32,0	33,0	28,0	30,0	39,0	39,0	34,0	34,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,873	,522	,262	,337	,050	,135	1,0	1,0	,423	,423
6 Monate	Füllung	Mann-Whitney-U	16,0	13,0	11,0	9,0	12,0	17,0	9,0	11,5	9,0	10,0
		Wilcoxon-W	37,0	34,0	32,0	30,0	33,0	38,0	30,0	32,5	30,0	31,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,749	,423	,262	,150	,337	,872	,150	,297	,150	,200
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	16,0	14,0	1,0	7,0	3,0	9,0	,00	5,0	7,0	4,0
		Wilcoxon-W	37,0	35,0	22,0	28,0	24,0	30,0	21,0	26,0	28,0	25,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,749	,522	,006	,078	,016	,150	,004	,034	,078	,025
	Nativ	Mann-Whitney-U	9,0	10,0	5,0	8,0	15,0	14,5	18,0	18,0	5,0	5,0
		Wilcoxon-W	30,0	31,0	26,0	29,0	36,0	35,5	39,0	39,0	26,0	26,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,150	,200	,037	,109	,625	,550	1,0	1,0	,037	,037

Tabelle 8: Ergebnisse der Bildanalyse: Statistischer Vergleich des Einflusses der Therapie auf die Gewebeanteile im Defektbereich zu drei bzw. sechs Monaten Standzeit. (Vergleich zwischen OCT und SC nach drei und sechs Monaten. Gruppenvariable: Implantat)

			Gewebe									
			Knorpel		Knochen		Binde- gewebe		Leerfläche		Rest	
Implantat	Präparat		ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD	ROI AB	ROI CD
OCT	Füllung	Mann-Whitney-U	18,0	13,0	7,0	16,0	9,0	4,0	8,0	15,5	11,0	13,0
		Wilcoxon-W	39,0	34,0	28,0	37,0	30,0	25,0	29,0	36,5	32,0	34,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	1,00	,423	,078	,749	,150	,025	,109	,688	,262	,423
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	11,0	17,0	10,0	16,0	5,0	10,0	15,0	13,0	17,0	18,0
		Wilcoxon-W	32,0	38,0	31,0	37,0	26,0	31,0	36,0	34,0	38,0	39,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,262	,873	,20	,749	,037	,20	,631	,372	,873	1,0
	Nativ	Mann-Whitney-U	13,0	13,0	15,0	17,0	10,0	10,0	18,0	18,0	16,0	16,0
		Wilcoxon-W	34,0	34,0	36,0	38,0	31,0	31,0	39,0	39,0	37,0	37,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,423	,423	,631	,873	,192	,184	1,0	1,0	,749	,749
SC	Füllung	Mann-Whitney-U	2,0	14,0	11,0	12,0	11,0	11,0	15,0	10,5	15,0	13,0
		Wilcoxon-W	23,0	35,0	32,0	33,0	32,0	32,0	36,0	31,5	36,0	34,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,010	,522	,262	,337	,262	,261	,631	,229	,631	,423
	Leerdefekt	Mann-Whitney-U	5,0	14,0	6,0	10,0	13,0	9,0	4,0	18,0	11,0	16,0
		Wilcoxon-W	26,0	35,0	27,0	31,0	34,0	30,0	25,0	39,0	32,0	37,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,037	,522	,055	,200	,423	,150	,025	1,0	,262	,749
	Nativ	Mann-Whitney-U	10,0	10,0	13,0	15,0	9,0	15,5	18,0	18,0	11,0	12,0
		Wilcoxon-W	31,0	31,0	34,0	36,0	30,0	36,5	39,0	39,0	32,0	33,0
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,20	,20	,423	,631	,108	,669	1,0	1,0	,262	,337

Tabelle 9: Ergebnisse der Bildanalyse: Statistischer Vergleich des Einflusses der Standzeit auf die Gewebeanteile im Defektbereich innerhalb der Gruppen. (Gruppenvariable: Zeit)

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

Tabelle 10: Minimal- und Maximalwerte sowie Mediane der Scoreergebnisse. (Score A)

SCORE B		OCT				Spongiosacluster			
		3 Monate		6 Monate		3 Monate		6 Monate	
		Leer-defekt	Füllung	Leer-defekt	Füllung	Leer-defekt	Füllung	Leer-defekt	Füllung
Auffüllung im Defektbereich	Minimum	1	3	1	3	1	1	0	1
	Maximum	4	4	4	4	3	3	3	3
	Median	2	3,5	1,5	4	1	2	1,5	2,5
Laterale knöcherner Integration	Minimum	0	1	1	1	0	0	0	0
	Maximum	2	2	1	2	1	1	1	2
	Median	0,5	1	1	2	0,5	0,5	0	1,5
Basale knöcherner Integration	Minimum	0	1	0	1	0	0	0	0
	Maximum	3	3	3	3	1	1	0	1
	Median	0	2	0	3	0	0	0	0
Entzündungsreaktion	Minimum	1	1	1	1	0	0	0	0
	Maximum	2	2	2	2	1	1	2	2
	Median	1	1,5	1,5	2	0	0,5	1	0,5
Fremdkörperreaktion	Minimum	1	1	1	1	1	1	1	1
	Maximum	1	1	1	1	1	1	1	1
	Median	1	1	1	1	1	1	1	1

Tabelle 11: Minimal- und Maximalwerte sowie Mediane der Scoreergebnisse. (Score B)

Standzeit	Defekt		Score A	Score B	ScoreGes
3 Monate	Leer	Mann-Whitney-U	16,500	9,500	13,000
		Wilcoxon-W	37,500	30,500	34,000
		Z	-,250	-1,386	-,808
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,802	,166	,419
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,818(a)	,180(a)	,485(a)
6 Monate	Leer	Mann-Whitney-U	,000	,000	,000
		Wilcoxon-W	21,000	21,000	21,000
		Z	-2,908	-2,918	-2,892
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,004	,004	,004
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,002(a)	,002(a)	,002(a)
3 Monate	Füllung	Mann-Whitney-U	10,000	10,000	9,000
		Wilcoxon-W	31,000	31,000	30,000
		Z	-1,288	-1,341	-1,446
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,198	,180	,148
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,240(a)	,240(a)	,180(a)
6 Monate	Füllung	Mann-Whitney-U	4,500	1,000	3,000
		Wilcoxon-W	25,500	22,000	24,000
		Z	-2,181	-2,771	-2,406
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,029	,006	,016
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,026(a)	,004(a)	,015(a)

a Nicht für Bindungen korrigiert.

b Gruppenvariable: Implantat

Tabelle 12: Statistischer Vergleich der Scoreergebnisse (Vergleich zwischen OCT und SC nach drei und sechs Monaten, Gruppenvariable: Implantat).

Implantat	Defekt		Score A	Score B	ScoreGes
OCT	Leer	Mann-Whitney-U	8,000	16,000	9,500
		Wilcoxon-W	29,000	37,000	30,500
		Z	-1,618	-,327	-1,366
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,106	,744	,172
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,132(a)	,818(a)	,180(a)
	Füllung	Mann-Whitney-U	13,500	10,000	15,500
		Wilcoxon-W	34,500	31,000	36,500
		Z	-,728	-1,306	-,403
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,466	,191	,687
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,485(a)	,240(a)	,699(a)
SC	Leer	Mann-Whitney-U	10,000	12,000	11,500
		Wilcoxon-W	31,000	33,000	32,500
		Z	-1,316	-,994	-1,065
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,188	,320	,287
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,240(a)	,394(a)	,310(a)
	Füllung	Mann-Whitney-U	4,500	11,500	5,000
		Wilcoxon-W	25,500	32,500	26,000
		Z	-2,181	-1,120	-2,111
		Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,029	,263	,035
		Exakte Signifikanz [2*(1-seitig Sig.)]	,026(a)	,310(a)	,041(a)

a Nicht für Bindungen korrigiert.

b Gruppenvariable: Zeit

Tabelle 13: Statistischer Vergleich der Scoreergebnisse (Gruppenvariable: Zeit).

9. Literaturverzeichnis

Akens, M., 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.

Alford, J., und Cole, B. (2005a)

Cartilage restoration, part 1: basic science, historical perspective, patient evaluation, and treatment options.

Am J Sports Med **33** (2), 295-306.

Alford, J., und Cole, B. (2005b)

Cartilage restoration, part 2: techniques, outcomes, and future directions.

Am J Sports Med **33** (3), 443-460.

Allen, M., Houlton, J., und Adams, S. (1998)

The surgical anatomy of the stifle joint in sheep.

Vet Surg **27** 596-605.

Alparslan, L., Winalski, C. S., Boutin, R. D., und Minas, T. (2001)

Postoperative magnetic resonance imaging of articular cartilage repair.

Semin Musculoskelet Radiol **5** (4), 345-363.

Amstutz, H., Dorey, F., und O'Carroll, P. (1986)

THARIES resurfacing arthroplasty. Evolution and long-term results.

Clin Orthop Relat Res (213), 92-114.

Appleyard, R., Burkhardt, D., Ghosh, P., Read, R., Cake, M., Swain, M., und Murrell, 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.

Ashton, B., Allen, T., Howlett, C., Eaglesom, C., Hattori, A., und Owen, M. (1980)

Formation of bone and cartilage by marrow stromal cells in diffusion chambers in vivo.

Clin Orthop Relat Res (151), 294-307.

Aydelotte, M., Greenhill, R., und Kuettner, K. (1988)

Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. II. Proteoglycan metabolism.

Connect Tissue Res **18** (3), 223-234.

Bailey, A., Mansell, J., Sims, T., und Banse, X. (2004)

Biochemical and mechanical properties of subchondral bone in osteoarthritis.

Biorheology **41** (3-4), 349-358.

Baumgaertner, M., Cannon, W., Vittori, J., Schmidt, E., und Maurer, R. (1990)

Arthroscopic debridement of the arthritic knee.

Clin Orthop (253), 197-202.

Bentley, G., Biant, L., Carrington, R., Akmal, M., Goldberg, A., Williams, A., Skinner, J., und Pringle, J. (2003)

A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee.

J Bone Joint Surg Br **85** 223-230.

Berlet, G., Mascia, A., und Miniaci, A. (1999)

Treatment of unstable osteochondritis dissecans lesions of the knee using autogenous osteochondral grafts (mosaicplasty).
Arthroscopy **15** (3), 312-316.

Bert, J., und Maschka, K. (1989)

The arthroscopic treatment of unicompartmental gonarthrosis: a five-year follow-up study of abrasion arthroplasty plus arthroscopic debridement and arthroscopic debridement alone.
Arthroscopy **5** (1), 25-32.

Binnet, M., Gurkan, I., Karaka, Scedil, Yilmaz, C., Erekul, S., und Cetin, C. (2001)

Histopathologic assessment of healed osteochondral fractures.
Arthroscopy **17** (3), 278-285.

Bobic, V. (1996)

Arthroscopic osteochondral autograft transplantation in anterior cruciate ligament reconstruction: a preliminary clinical study.
Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc **3** (4), 262-264.

Bodo, G., Hangody, L., Szabo, Z., Peham, C., Schinzel, M., Girtler, D., und Sotonyi, P. (2000)

Arthroscopic autologous osteochondral mosaicplasty for the treatment of subchondral cystic lesion in the medial femoral condyle in a horse.
Acta Vet Hung **48** (3), 343-354.

Bodo, G., Kaposi, A., Hangody, L., Toth, J., Bakos, Z., Lukacs, Z., und Pentek, G. (2001)

The surgical technique and the age of the horse both influence the outcome of mosaicplasty in a cadaver equine stifle model.
Acta Vet Hung **49** (1), 111-116.

Bonewald, L. (2002)

Osteocytes: a proposed multifunctional bone cell.
J Musculoskelet Neuronal Interact **2** (3), 239-241.

Breinan, H., 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** 482-492.

Breinan, H., Minas, T., Hsu, H., Nehrer, S., Sledge, C., und Spector, M. (1997)

Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model.
J Bone Joint Surg Am **79** (10), 1439-1451.

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.

Brown, T., Radin, E., Martin, R., und Burr, B. (1984)

Finite element studies of some iuxta-articular stress changes due to localized subchondral stiffening.
J Biomech 11-14.

Brucker, P., Agneskirchner, J., Burkart, A., und Imhof, A. (2002)

Mega-OATS. Technique and outcome.
Unfallchirurg **105** (5), 443-449.

Bruns, J., Behrens, P., und Silbermann, M. (1997)

The principle of autogeneic rib perichondrial transplantation in the treatment of deep articular cartilage defects.
Z Orthop Ihre Grenzgeb **135** (2), 138-144.

Bruns, J., und Steinhagen, J. (1999)

[Transplantation of chondrogenic tissue in the treatment of lesions of of the articular cartilage].
Orthopade **28** (1), 52-60.

Buckwalter, J. (1983)

Articular cartilage.
Instr Course Lect **32** 349-370.

Buckwalter, J. (1995)

Activity vs. rest in the treatment of bone, soft tissue and joint injuries.
Iowa Orthop J **15** 29-42.

Buckwalter, J. (1998)

Articular cartilage: injuries and potential for healing.
J Orthop Sports Phys Ther **28** (4), 192-202.

Buckwalter, J. (2002)

Articular cartilage injuries.
Clin Orthop Relat Res (402), 21-37.

Buckwalter, J., und Brown, T. (2004)

Joint injury, repair, and remodeling: roles in post-traumatic osteoarthritis.
Clin Orthop Relat Res (423), 7-16.

Buckwalter, J., Hunziker, E., und Rosenberg, L. (1988)

Articular Cartilage. Composition and structure.
Am Acad Orthop Surg. 405-425.

Buckwalter, J., und Mankin, H. (1998a)

Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation.
Instr Course Lect **47** 487-504.

Buckwalter, J., und Mankin, H. (1998b)

Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions.
Instr Course Lect **47** 477-486.

Buckwalter, J., Mow, V. und Ratcliffe, A. (1994)

Restoration of Injured or Degenerated Articular Cartilage.
J Am Acad Orthop Surg **2** (4), 192-201.

Buckwalter, J., und Rosenberg, L. (1982)

Electron microscopic studies of cartilage proteoglycans. Direct evidence for the variable length of the chondroitin sulfate-rich region of proteoglycan subunit core protein.
J Biol Chem **257** (16), 9830-9839.

Bugbee, W., und Convery, F. (1999)

Osteochondral allograft transplantation.
Clin Sports Med **18** (1), 67-75.

Burchardt, H. (1983)

The biology of bone graft repair.
Clin Orthop Relat Res (174), 28-42.

Burkart, A., Schöttle, P., und Imhof, A. (2001)

Surgical therapeutic possibilities of cartilage damage.
Unfallchirurg 104 (9), 798-807.

Burkhart, A., und Imhof, A. (1999)

Therapie des Knorpelschadens Heute und Morgen.
Arthroskopie 12 279-288.

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), 234-243.

Calandruccio, R., und Gilmer, W. (1962)

Proliferation, Regeneration, and Repair of Articular Cartilage of Immature Animals.
J Bone Joint Surg Am 44A (3), 431-455.

Caplan, A. (1990)

Cartilage begets bone versus endochondral myelopoiesis.
Clin Orthop Relat Res (261), 257-267.

Caplan, A., Elyaderani, M., Mochizuki, Y., Wakitani, S., und Goldberg, V. (1997)

Principles of cartilage repair and regeneration.
Clin Orthop Relat Res (342), 254-269.

Chandler, H., Reineck, F., Wixson, R., und McCarthy, J. (1981)

Total hip replacement in patients younger than thirty years old. A five-year follow-up study.
J Bone Joint Surg Am 63 (9), 1426-1434.

Chen, F., Frenkel, S., und Di Cesare, P. (1999)

Repair of articular cartilage defects: part II. Treatment options.
Am J Orthop 28 (2), 88-96.

Cheung, H., Cottrell, W., 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.

Chu, C., Convery, F., Akeson, W., Meyers, M., und Amiel, D. (1999)

Articular cartilage transplantation. Clinical results in the knee.
Clin Orthop (360), 159-168.

Convery, F., Akeson, W., und Keown, G. (1972)

The repair of large osteochondral defects. An experimental study in horses.
Clin Orthop 253-262.

Convery, F., Botte, M., Akeson, W., und Meyers, M. (1994)

Chondral defects of the knee.
Contemp Orthop 28 (2), 101-107.

Coulson, R. (1983)

Relationship between fluid flow and O₂ demand in tissues in vivo and in vitro.
Perspect Biol Med 27 (1), 121-126.

Curl, W., Krome, J., Gordon, E., Rushing, J., Smith, B., und Poehling, G. (1997)

Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies.

Arthroscopy **13** (4), 456-460.

Day, J., Van Der Linden, J., Bank, R., Ding, M., Hvid, I., Sumner, D., und Weinans, H. (2004)

Adaptation of subchondral bone in osteoarthritis.

Biorheology **41** (3-4), 359-368.

Dekel, S., und Weissman, S. (1978)

Joint changes after overuse and peak overloading of rabbit knees in vivo.

Acta Orthop Scand **49** (6), 519-528.

Delcogliano, A., Caporaso, A., Menghi, A., Rinonapoli, G., und Chiossi, S. (2002)

Results of autologous osteochondral grafts in chondral lesions of the knee.

Minerva Chir **57** (3), 273-281.

DePalma, A., McKeever, C., und Subin, D. (1966)

Process of repair of articular cartilage demonstrated by histology and autoradiography with tritiated thymidine.

Clin Orthop Relat Res **48** 229-242.

Dew, T., und Martin, R. (1992)

Functional, radiographic, and histologic assessment of healing of autogenous osteochondral grafts and full-thickness cartilage defects in the talus of dogs.

Am J Vet Res **53** (11), 2141-2152.

DiSilvestro, M., und Suh, J. (2002)

Biphasic poroviscoelastic characteristics of proteoglycan-depleted articular cartilage: simulation of degeneration.

Ann Biomed Eng **30** (6), 792-800.

Dorotka, R., Windberger, U., Macfelda, K., Bindreiter, U., Toma, C., und Nehrer, S. (2005)

Repair of articular cartilage defects treated by microfracture and a three-dimensional collagen matrix.

Biomaterials **26** (17), 3617-3629.

Drerup, B., Tilkorn, D., und Wetz, H. H. (2003)

Effect of weight load and carrying conditions on plantar peak.

Orthopade **32** (3), 207-212.

Duda, G. N., Maldonado, Z. M., Klein, P., Heller, M. O., Burns, J., und Bail, H. (2005)

On the influence of mechanical conditions in osteochondral defect healing.

J Biomech **38** (4), 843-851.

Easley, M., und Scranton, P. (2003)

Osteochondral autologous transfer system.

Foot Ankle Clin **8** (2), 275-290.

Ekman, S., und Heinegard, D. (1992)

Immunohistochemical localization of matrix proteins in the femoral joint cartilage of growing commercial pigs.

Vet Pathol **29** (6), 514-520.

Eyre, D. (2002)

Collagen of articular cartilage.
Arthritis Res **4** (1), 30-35.

Eyre, D., McDevitt, C., Billingham, M., und Muir, H. (1980)

Biosynthesis of collagen and other matrix proteins by articular cartilage in experimental osteoarthritis.
Biochem J **188** (3), 823-837.

Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil, I., Alobera-Gracia, M., del-Canto-Pingarron, M., und 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.

Firth, J., Turner, D., Smith, W., Woodburn, J., und Helliwell, P. (2007)

The validity and reliability of PressureStat for measuring plantar foot pressures in patients with rheumatoid arthritis.
Clin Biomech (Bristol, Avon) **22** (5), 603-606.

Frankenburg, E., Goldstein, S., 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.

Franzen, A., Inerot, S., Hejderup, S., und Heinegard, D. (1981)

Variations in the composition of bovine hip articular cartilage with distance from the articular surface.
Biochem J **195** (3), 535-543.

Frenkel, S., und Di Cesare, P. (1999)

Degradation and repair of articular cartilage.
Front Biosci **4** D671-685.

Friedman, M., Berasi, C., Fox, J., Del Pizzo, W., Snyder, S., und Ferkel, R. (1984)

Preliminary results with abrasion arthroplasty in the osteoarthritic knee.
Clin Orthop Relat Res (182), 200-205.

Fuller, J., und Ghadially, F. (1972)

Ultrastructural observations on surgically produced partial-thickness defects in articular cartilage.
Clin Orthop Relat Res **86** 193-205.

Furukawa, T., Eyre, D., Koide, S., und Glimcher, M. (1980)

Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee.
J Bone Joint Surg Am **62** (1), 79-89.

Ghadially, J., und Ghadially, F. (1975)

Evidence of cartilage flow in deep defects in articular cartilage.
Virchows Arch B Cell Pathol **18** (3), 193-204.

Ghadially, J., Ghadially, R., und Ghadially, F. (1977)

Long-Term results of deep defects in articular cartilage. A electron microscope study.
Virchows Arch B Cell Pathol 125-136.

Ghazavi, M., Pritzker, K., Davis, A., und Gross, A. (1997)

Fresh osteochondral allografts for post-traumatic osteochondral defects of the knee.
J Bone Joint Surg Br **79** (6), 1008-1013.

Gille, J., Ehlers, E., Okroi, M., Russlies, M., und Behrens, P. (2002)

Apoptotic chondrocyte death in cell-matrix biocomposites used in autologous chondrocyte transplantation.

Ann Anat **184** (4), 325-332.

Gogolewski, S. (2000)

Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery.

Int J Care Injured **28**-32.

Goldberg, V., und Stevenson, S. (1987)

Natural history of autografts and allografts.

Clin Orthop (225), 7-16.

Gotterbarm, T., Reizel, T., Schneider, U., Voß, H., Stofft, E., und Breusch, S. (2003)

Einwachsverhalten von periostgedeckten Knochendübeln mit und ohne autologe Knorpelzellen.

Orthopäde **32** 65-73.

Green, W. (1977)

Articular cartilage repair. Behavior of rabbit chondrocytes during tissue culture and subsequent allografting.

Clin Orthop (124), 237-250.

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.

Gross, A., 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), 79-87.

Gross, J. (1961)

Collagen.

Sci Am **204** 121-130.

Hagg, R., Bruckner, P., und Hedbom, E. (1998)

Cartilage fibrils of mammals are biochemically heterogeneous: differential distribution of decorin and collagen IX.

J Cell Biol **142** (1), 285-294.

Hangody (1997)

Experimental basis for autologous osteochondral pegs transfer, the technique of autologous osteochondral mosaicplasty.

2nd Fribourg International Symposium on Cartilage Repair.

Hangody, L. (2003)

The mosaicplasty technique for osteochondral lesions of the talus.

Foot Ankle Clin **8** (2), 259-273.

Hangody, L., Feczko, P., Bartha, L., Bodo, G., und Kish, G. (2001a)

Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle.

Clin Orthop (391 Suppl), S328-336.

Hangody, L., Kish, G., Karpati, Z., Szerb, I., und Udvarhelyi, I. (1997)

Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report.
Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc **5** (4), 262-267.

Hangody, L., Kish, G., Modis, L., Szerb, I., Gaspar, I., Dioszegi, Z., und Kendik, Z. (2001b)

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.

Hangody, L., Rathonyi, G., 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.

Harris, E., Parker, H., Radin, E., und Krane, S. (1972)

Effects of proteolytic enzymes on structural and mechanical properties of cartilage.
Arthritis Rheum **15** (5), 497-503.

Hascall, V., und Sajdera, S. (1970)

Physical properties and polydispersity of proteoglycan from bovine nasal cartilage.
J Biol Chem **245** (19), 4920-4930.

Havelka, S., Horn, V., Spohrova, D., und Valouch, P. (1984)

The calcified-noncalcified cartilage interface: the tidemark.
Acta Biol Hung **35** (2-4), 271-279.

Hedbom, E., und Heinegard, D. (1993)

Binding of fibromodulin and decorin to separate sites on fibrillar collagens.
J Biol Chem **268** (36), 27307-27312.

Heinegard, D. (1977)

Polydispersity of cartilage proteoglycans. Structural variations with size and buoyant density of the molecules.
J Biol Chem **252** (6), 1980-1989.

Heinegard, D., und Axelsson, I. (1977)

Distribution of keratan sulfate in cartilage proteoglycans.
J Biol Chem **252** (6), 1971-1979.

Homminga, G., Bulstra, S., Kuijjer, 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.

Horas, U., Pelinkovic, D., Herr, G., Aigner, T., und Schnettler, R. (2003)

Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial.
J Bone Joint Surg Am **85-A** (2), 185-192.

Horas, U., und Schnettler, R. (2002)

Knorpeldefekte am Kniegelenk und autogene osteochondrale Zylindertransplantation.
Operative Orthopädie und Traumatologie **14** 237-252.

Hunter, W. (1995)

Of the structure and disease of articulating cartilages. 1743.
Clin Orthop Relat Res (317), 3-6.

Hunziker, E. (2002)

Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects.
Osteoarthritis Cartilage **10** (6), 432-463.

Imhof, A., Ottl, G., Burkart, A., und Traub, S. (1999a)

Autologous osteochondral transplantation on various joints.
Orthopade **28** (1), 33-44.

Imhof, H., Breitenseher, M., Kainberger, F., Rand, T., und Trattnig, S. (1999b)

Importance of subchondral bone to articular cartilage in health and disease.
Top Magn Reson Imaging **10** (3), 180-192.

Jackson, D., Lalor, P., Aberman, H., und Simon, T. (2001a)

Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study.
J Bone Joint Surg Am **83-A** 53-64.

Jackson, D., Simon, T., und Aberman, H. (2001b)

Symptomatic articular cartilage degeneration: the impact in the new millennium.
Clin Orthop Relat Res (391 Suppl), S14-25.

Kanatli, U., Yetkin, H., und Bolukbasi, S. (2003)

Evaluation of the transverse metatarsal arch of the foot with gait analysis.
Arch Orthop Trauma Surg **123** (4), 148-150.

Kettunen, K., und Rokkanen, P. (1973)

The repair of a full-thickness articular defect. An experimental study on growing rats.
Ann Chir Gynaecol Fenn **62** (3), 166-168.

Kruger, T., Wohlrab, D., Birke, A., und Hein, W. (2000)

Results of arthroscopic joint debridement in different stages of chondromalacia of the knee joint.
Arch Orthop Trauma Surg **120** (5-6), 338-342.

Kübler, N. (1997)

Osteoinduktion und Reparation.
Mund Kiefer GesichtsChir **1** 2-25.

Kübler, N. (2002)

Osteoinduktion: Ein Beispiel für die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen durch Bone Morphogenetic Proteins (BMPs).
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Landon, G., Galante, J., und Casini, J. (1985)

Essay on total knee arthroplasty.
Clin Orthop Relat Res (192), 69-74.

Lane, J., Massie, J., Ball, S., Amiel, M., Chen, A., Bae, W., Sah, R., und Amiel, D. (2004)

Follow-up of Osteochondral Plug Transfers in a Goat Model: A 6-Month Study.
Am J Sports Med **32** (6), 1440-1450.

Laprell, H., und Petersen, W. (2001)

Autologous osteochondral transplantation using the diamond bone-cutting system (DBCS): 6-12 years' follow-up of 35 patients with osteochondral defects at the knee joint.
Arch Orthop Trauma Surg **May** (121(5).), 248-253.

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.

Lewandowska, K., Choi, H., Rosenberg, L., Zardi, L., und Culp, L. (1987)

Fibronectin-mediated adhesion of fibroblasts: inhibition by dermatan sulfate proteoglycan and evidence for a cryptic glycosaminoglycan-binding domain.
J Cell Biol **105** (3), 1443-1454.

Li, B., Marshall, D., Roe, M., und Aspden, R. (1999)

The electron microscope appearance of the subchondral bone plate in the human femoral head in osteoarthritis and osteoporosis.
J Anat **195 (Pt 1)** 101-110.

Linn, F., und Sokoloff, L. (1965)

Movement and Composition of Interstitial Fluid of Cartilage.
Arthritis Rheum **8** 481-494.

Lyyra, T., Arokoski, J., Oksala, N., Vihko, A., Hyttinen, M., Jurvelin, J., und Kiviranta, I. (1999)

Experimental validation of arthroscopic cartilage stiffness measurement using enzymatically degraded cartilage samples.
Phys Med Biol **44** (2), 525-535.

Mankin, H. (1974a)

The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (first of two parts).
N Engl J Med **291** (24), 1285-1292.

Mankin, H. (1974b)

The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (second of two parts).
N Engl J Med **291** (25), 1335-1340.

Mankin, H. (1982)

The response of articular cartilage to mechanical injury.
J Bone Joint Surg Am **64** (3), 460-466.

Mankin, H., und Lippiello, L. (1971)

The glycosaminoglycans of normal and arthritic cartilage.
J Clin Invest **50** (8), 1712-1719.

Marlovits, S., und Véscei, V., (2000a)

Möglichkeiten zur chirurgischen Therapie von Knorpeldefekten Teil 1: Grundlagen der Knorpelbiologie und der Heilung von Knorpeldefekten
Acta Chirurgica Austriaca. 124

Marlovits, S., und Véscei, V. (2000b)

Möglichkeiten zur chirurgischen Therapie von Knorpeldefekten-Teil 2: Chirurgische Behandlungsoptionen zur biologischen Knorpelreparatur.
Acta Chirurgica.Austriaca **32** 185-194.

Martin, J., und Buckwalter, J. (1996)

Articular cartilage aging and degeneration.
Sports Med Arthros Rev **4** 263-275.

Martinek, V. (2003)

Anatomie und Pathophysiologie des hyalinen Knorpels.
Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin **54** (1), 166-170.

Martinek, V., und Imhof, A. (2003)

Therapie von Knorpelschäden.
Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin **54** 70-76.

Messner, K. (1999)

Cartilage replacement operation using pre-cultured cells.
Orthopade **28** (1), 61-67.

Miclau, T., Lindsey, R., Probe, R., Rahn, B., und Perren, S. (1996)

Autogenous cancellous bone graft incorporation in a gap defect in the canine femur.
J Orthop Trauma **10** (2), 108-113.

Minas, T. (2001)

Autologous chondrocyte implantation for focal chondral defects of the knee.
Clin Orthop Relat Res (391 Suppl), S349-361.

Minas, T., und Nehrer, S. (1997)

Current concepts in the treatment of articular cartilage defects.
Orthopedics **20** (6), 525-538.

Mittlmeier, T., Weiler, A., Sohn, T., Kleinhans, L., Mollbach, S., Duda, G., und Sudkamp, N. P. (1999)

novel Award Second Prize Paper. Functional monitoring during rehabilitation following anterior cruciate ligament reconstruction.
Clin Biomech (Bristol, Avon) **14** (8), 576-584.

Mommsen, U., Meenen, N., Osterloh, J., und Jungbluth, K. (1984)

Value of homologous spongiosa in filling up subchondral bone defects.
Unfallchirurgie **10** (6), 273-277.

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.

Mow, V., Holmes, M., und Lai, W. (1984)

Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review.
J Biomech **17** (5), 377-394.

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.

Nakajima, H., Goto, T., Horikawa, O., Kikuchi, T., und Shinmei, M. (1998)

Characterization of the cells in the repair tissue of full-thickness articular cartilage defects.
Histochem Cell Biol **109** (4), 331-338.

Nam, E., 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.

Naumann, A., Dennis, J., Awadallah, A., Carrino, D., Mansour, J., Kastenbauer, E., und Caplan, A. (2002)

Immunochemical and mechanical characterization of cartilage subtypes in rabbit.
J Histochem Cytochem **50** (8), 1049-1058.

Navarro, R., Cohen, M., Filho, M. C., und da Silva, R. (2002)

The arthroscopic treatment of osteochondritis dissecans of the knee with autologous bone sticks.

Arthroscopy **18** (8), 840-844.

Nehrer, S., und Minas, T. (2000)

Treatment of articular cartilage defects.

Invest Radiol **35** (10), 639-646.

Newman, A. (1998)

Articular cartilage repair.

Am J Sports Med **26** (2), 309-324.

Niederauer, G., Slivka, M., Leatherbury, 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.

Nunamaker, D. (1998)

Experimental models of fracture repair.

Clin Orthop Relat Res (355 Suppl), 56-65.

O'Driscoll, S., Keeley, F., und Salter, R. (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.

O'Driscoll, S., und Salter, R. (1986)

The repair of major osteochondral defects in joint surfaces by neochondrogenesis with autogenous osteoperiosteal grafts stimulated by continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit.

Clin Orthop Relat Res (208), 131-140.

Oddis, C. (1996)

New perspectives on osteoarthritis.

Am J Med **100** (2A), 10S-15S.

Outerbridge, H., Outerbridge, A., und Outerbridge, R. (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.

Peterson, L. (1996)

Articular cartilage injuries treated with autologous chondrocyte transplantation in the human knee.

Acta Orthop Belg **62 Suppl 1** 196-200.

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** 291-298.

Poole, A., 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.

Radin, E., und Rose, R. (1986)

Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage.
Clin Orthop (213), 34-40.

Redler, I., Mow, V., Zimny, M., und Mansell, J. (1975)

The ultrastructure and biomechanical significance of the tidemark of articular cartilage.
Clin Orthop Relat Res (112), 357-362.

Reinholz, G., Lu, L., Saris, D., Yaszemski, M., und O'Driscoll, S. W. (2004)

Animal models for cartilage reconstruction.
Biomaterials **25** 1511-1521.

Rittmeister, M., Hochmuth, K., Kriener, S., und Richolt, J. (2005)

[Five-year results following autogenous osteochondral transplantation to the femoral head].
Orthopade **34** (4), 320, 322-326.

Roach, H., Shearer, J., und Archer, C. (1989)

The choice of an experimental model. A guide for research workers.
J Bone Joint Surg Br **71** (4), 549-553.

Rothwell, A. (1990)

Synovium transplantation onto the cartilage denuded patellar groove of the sheep knee joint.
Orthopedics **13** (4), 433-442.

Roughley, P., und Lee, E. (1994)

Cartilage proteoglycans: structure and potential functions.
Microsc Res Tech **28** (5), 385-397.

Rudert, M., und Wirth, C. (1998)

Cartilage regeneration and substitution.
Orthopade **27** (5), W309-321.

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.

Salter, R., Simmonds, D., Malcolm, 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.

Sato, K., und Urist, M. (1984)

Bone morphogenetic protein-induced cartilage development in tissue culture.
Clin Orthop Relat Res (183), 180-187.

Schachar, N., Novak, K., Muldrew, K., Zernicke, R., und McGann, L. (1999)

Articular cartilage joint surface reconstruction techniques.
J Orthop Sci **4** 457-461.

Schenk, R. (1991)

Zur Problematik der Knochenersatzstoffe: Histophysiologie des Knochenumbaus und der Substitution von Knochenersatzstoffen.
Hefte zur Unfallheilkunde **216** 23-35.

Schöttle, P., Oetli, G., Agneskirchner, J., und Imhof, A. (2001)

Operative therapy of osteochondral lesions of the talus with autologous cartilage-bone transplantation.
Orthopade **30** (1), 53-58.

Schweiberer, L. (1971)

Der heutige Stand der Knochentransplantation.
Der Chirurg **42** (6), 252-257.

Schweiberer, L., Hallfeldt, K., und Mandelkow, H. (1986)

Osteoid induction.
Orthopade **15** (1), 3-9.

Shahgaldi, B., Amis, 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.

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.

Shimizu, T., Videman, T., Shimazaki, K., und Mooney, V. (1987)

Experimental study on the repair of full thickness articular cartilage defects: effects of varying periods of continuous passive motion, cage activity, and immobilization.
J Orthop Res **5** (2), 187-197.

Siebert, C., 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** 382-386.

Siebert, C., 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.

Siebert, C., Miltner, O., Weber, M., Sopka, S., Koch, S., und Niedhart, C. (2003b)

Healing of osteochondral grafts in an ovine model under the influence of bFGF.
Arthroscopy **19** 182-187.

Sprague, N. r. (1981)

Arthroscopic debridement for degenerative knee joint disease.
Clin Orthop Relat Res (160), 118-123.

Steadman, J., Rodkey, W., Singelton, S., und Briggs, K. (1997)

Microfracture Technique for Full-Thickness Chondral Defects: Technique and Clinical Results.
Operative Techniques in Orthopaedics **7** (4), 300-304.

Steadman, J., Rodkey, W., und Briggs, K. (2002)

Microfracture to treat full-thickness chondral defects: surgical technique, rehabilitation, and outcomes.

J Knee Surg **15** (3), 170-176.

Steinwachs, M., Erggelet, C., Lahm, A., und Guhlke-Steinwachs, U. (1999)

Klinische und zellbiologische Aspekte der autologen Chondrozytenimplantation.

Unfallchirurg **855-860**.

Stockwell, R. (1967)

The cell density of human articular and costal cartilage.

J Anat **753-763**.

Stove, J. (2005)

Conservative therapy of osteoarthritis.

Orthopade **34** (6), 613-622.

Uhl, M., Lahm, A., Bley, T. A., Haberstroh, J., Mrosek, E., Ghanem, N., und Erggelet, C. (2005)

Experimental autologous osteochondral plug transfer in the treatment of focal chondral defects: magnetic resonance imaging signs of technical success in sheep.

Acta Radiol **46** (8), 875-880.

Ulrich-Vinther, M., Maloney, M., Schwarz, E., Rosier, R., und O'Keefe, R. (2003)

Articular cartilage biology.

J Am Acad Orthop Surg **11** (6), 421-430.

van Dyk, G., Dejardin, L., Flo, G., und Johnson, L. (1998)

Cancellous bone grafting of large osteochondral defects: an experimental study in dogs.

Arthroscopy **14** (3), 311-320.

von Rechenberg, B., Akens, M., Nadler, D., Bittmann, P., Zlinszky, K., Kutter, A., Poole, A., und Auer, J. (2003)

Changes in subchondral bone in cartilage resurfacing--an experimental study in sheep using different types of osteochondral grafts.

Osteoarthritis Cartilage **11** (4), 265-277.

Wagner, H. (1972)

[Possibilities and experiences with cartilage transplantation].

Z Orthop Ihre Grenzgeb **110** (6), 705-708.

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.

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.

Yamashita, F., Sakakida, K., Suzu, F., und Takai, S. (1985)

The transplantation of an autogeneic osteochondral fragment for osteochondritis dissecans of the knee.

Clin Orthop (201), 43-50.

10. Danksagung

Zuallererst möchte ich meinen Eltern Manfred und Iris Bose danken, die mich jahrelang während des Studiums und danach unterstützt haben und mir meinen Traumberuf und das Schreiben dieser Arbeit ermöglichten. Des Weiteren möchte ich Professor Dr. Georg Duda und Professor Dr. Anja Sterner-Kock danken, die mir ermöglichten, eine fachbereichsfremde Dissertation anzufertigen. Dr. Hanna Schell und Dr. Ralf Kleemann danke ich für ihre konstruktive Kritik und das geduldige Korrekturlesen. Ebenfalls danken möchte ich den Mitarbeitern der Charité Campus Virchow Dr. Devakar Epari, Dr. Mark Thompson, Anna-Lena, Alexander Schill, Dr. Jasmin Lienau, Katharina Kaspar, Gabriele Hardung, Camilla Bergmann, Marzena Princ, Jan Hoffmann, Christian Kapitzke und Steffen Wellsandt für ihre technische und moralische Unterstützung. Vielen Dank vor allem an die Tierpfleger und Schwestern in der tierexperimentellen Einrichtung der Charité. Ferner möchte ich Dr. Brigitte Wegner und Dr. Konrad Neumann aus dem Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité Campus Mitte sowie Frau Rose Schmitz und den Mitarbeitern des Instituts für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin für ihre kompetente, geduldige und ausdauernde Hilfe danken. Auch danke ich meinen Mitdoktoranden Anne Ostermann, Julia Busse, Dorothea Jansen, Liv Matz und Thomas Nosewicz, ohne die die Arbeit an diesem gemeinsamen Projekt nur halb so viel Spaß gemacht hätte. Annette, Erika und Martin Kreil, Nicholas Rimon und Carsten und Ulrike Bose danke ich für den Zuspruch neben der Arbeit.

11. Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Berlin, den 17.07.2008

Christiane Bose