

5 Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war, Aussagen über den Einfluss der mechanischen Rahmenbedingungen von osteochondralen Implantaten auf die Rekonstruktion des subchondralen Knochens und des Knorpels zu machen. Die Variation der Versorgung osteochondraler Defekte spiegelt den Zusammenhang zwischen den unterschiedlichen Steifigkeiten der Implantate und den Heilungsergebnissen immunhistochemisch, histologisch und histomorphometrisch wider.

Die eingangs aufgestellte Hypothese, dass erstens eine ausreichende strukturelle Stabilität und zweitens eine mechanische Stabilität der subchondralen Auffüllung die Voraussetzung für eine schnelle und komplikationsarme Wiederherstellung der subchondralen Lamelle und damit des hyalinen Knorpels ist, konnte bestätigt werden. Die OCT-Gruppe zeigte die besten Heilungsergebnisse im Vergleich zu den anderen drei Operationsmethoden. Bei der OCT-Gruppe wurde ein Knorpel-Knochenzylinder in den Defekt eingebracht, der nach zwölf Wochen ein sehr gutes Einwachsverhalten im knöchernen Bereich zeigte. Der Zylinder konnte der Belastungssituation im Gelenk standhalten und die Qualität des transplantierten Knorpels war zufrieden stellend, obwohl keine Verbindung zwischen dem transplantierten und angrenzenden Knorpel bestand. Die SC-Gruppe zeigte nach zwölf Wochen einen ungenügend aufgefüllten Defekt. Die in den Defekt eingebrachten Spongiosacluster wurden nicht integriert. Der Organismus musste zunächst die eingebrachten Spongiosacluster abbauen, bevor der Defekt wieder aufgebaut werden konnte. Die SC-Gruppe konnte keine kongruente Gelenkfläche bilden und der prozentuale Anteil des hyalinen Knorpel lag im Median auch nur zwischen 0-20%. Bei den Scaffolds erzielte die PH-Gruppe, deren Implantate eine höhere Steifigkeit aufwiesen, die besseren Heilungsergebnisse im Vergleich zur PW-Gruppe. Die PH-Gruppe zeigte bei nahezu allen Präparaten ein ununterbrochene subchondrale Lamelle und eine Knorpelschicht über dem Defektbereich ohne Spaltbildungen zum umliegenden Knorpel. Nach zwölf Wochen waren jedoch makroskopisch noch sehr viele Scaffoldreste, vorwiegend im basalen Defektbereich, und Fremdkörperriesenzellen zu beobachten.

5.1 Diskussion der Methoden

Um eine Interpretation der Ergebnisse vorzunehmen, ist es notwendig, den Versuchsaufbau und die Methoden kritisch zu betrachten und entstandene Fehlerquellen aufzuführen und zu eruieren.

5.1.1 Tiermodell

Um neuartige Implantate oder Operationsmethoden zu untersuchen, kann auf Tierversuche nicht verzichtet werden. Um die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen zu gewährleisten, musste ein geeignetes Tiermodell gefunden werden.

Für die Beurteilung der Knorpeldefektheilung ist das Alter der Tiere bedeutend. Die Regeneration der Defekte und besonders der subchondralen Knochenlamelle ist bei juvenilen Tieren schneller und besser als bei adulten Tieren (Calandruccio R et al., 1962; Frenkel S et al., 1997; Wei X et al., 1997). Aus diesem Grund wurden für diese tierexperimentelle Studie 3-jährige Merinomix-Schafe ausgewählt, da diese Tiere als ausgewachsen gelten. In der Knorpelforschung werden viele verschiedene Tiermodelle, unterschiedliche Defektgrößen und -lokalisationen verwendet, welches die Vergleichbarkeit der Ergebnisse beeinträchtigt. Viele Untersuchungen wurden an Kaninchen (Green W, 1977; Mommsen U et al., 1984; Amiel D et al., 1985; Moran M et al., 1992; Hunziker E et al., 1996; Günther K et al., 1998), aber auch an Schweinen (Whiteside R et al., 2003), Hunden (Thompson R, 1975; Altman R et al., 1992; Oates K et al., 1995; Breinan H et al., 1997; Nehrer S et al., 1998; Breinan H et al., 2000; Breinan H et al., 2001) und Ziegen (Shahgaldi B et al., 1991; Butnariu-Ephrat M et al., 1996; Niederauer G et al., 2000) durchgeführt. Im Gegensatz zum Kaninchen (Frenkel S et al., 1997; Jansson V et al., 2000) mit einer physiologischen Kniegelenkkrümmung von 135° bietet das Schaf aufgrund der geringeren Flexionshaltung der Hinterläufe eine dem Menschen ähnlere Belastungssituation (Bruns J, 1992). Beim Menschen wird als Richtwert für die großen Gelenke eine Knorpelstärke von 1-5 mm (Burkhart A et al., 1999) angegeben, während das Schaf im untersuchten Kniegelenk eine Knorpeldicke von im Mittel 0,8 mm aufweist. Die Knorpeldicke ist bei weitem nicht identisch, aber eine genaue Niveaueinpassung des Implantats ist möglich. Der Knorpel des Schafes ähnelt dem des Menschen im Hinblick auf Wachstum und Regeneration (Jansson V et al., 2000). Das prinzipielle Problem des üblich gebrauchten Tiermodells, dem Kaninchen, ist dass die Defekttiefe auf weniger als 0,5 mm begrenzt ist. Beim Hund sind diese Bedingungen besser, da die Defekttiefe annähernd 0,5-1

mm betragen kann (Breinan H et al., 2001). In der eigenen Studie wurde eine Defekttiefe von 10 mm gewählt, um kliniknahe Bedingungen zu schaffen und um eine gute Verankerung des Transplantats zu gewährleisten.

Die Schafe dieser Studie wiesen ein mittleres Gewicht von 68,9 kg auf. Dieses Gewicht entspricht eher einem adulten Menschen, als die in Studien verwendeten Hunde von 30 kg (Breinan H et al., 2001). In Bezug auf die Größenverhältnisse der Knochen kann mit den in der Humanmedizin gebräuchlichen Instrumentarien unter Verwendung handelsüblicher Implantate gearbeitet werden. Der Knochen des Schafes ist im Bereich des Kniegelenkes in Größe, Struktur und Regenerationsfähigkeit mit dem des Menschen vergleichbar. Die Geschwindigkeit der Heilungsvorgänge beim Schaf ist im Vergleich zum Kaninchen und Hund am ehesten mit der menschlichen Knochenregeneration zu vergleichen (Wissing H et al., 1990). Jedoch laufen Umbauprozesse beim Schaf zum Teil schneller als beim Menschen ab (Frankenburg E et al., 1998), da die Gewebe verschiedener Spezies unterschiedlich metabolisch aktiv sind (Coulson R, 1983). Die differente Knochenfeinstruktur und daran gebundene Unterschiede der Gefäßversorgung bedingen kein belegbar unterschiedliches Regenerationsverhalten (Wissing H et al., 1990).

Vor diesem Hintergrund bietet das Schaf als Versuchstier akzeptable Voraussetzungen für ein Tiermodell zur Knorpeldefektbehandlung, zumal es bereits für ähnliche Versuche (Hesse I et al., 1985; Homminga G et al., 1991; Siebert C et al., 2001; Russlies M et al., 2003; Leniz P et al., 2004) eingesetzt wurde. Jedoch lassen sich die Ergebnisse nicht ohne Einschränkungen auf den Menschen übertragen.

5.1.2 Operationsmethode

Zur Eröffnung des Kniegelenkes beim Schaf wurde wie beim Menschen der mediale parapatellare Zugang gewählt. Um die laterale Femurkondyle sichtbar zu machen musste die derbe Sehne des Musculus extensor digitorum longus mit einem Haken verschoben werden. Diese Sehne ist eine auffällige strukturelle Besonderheit des ovinen Kniegelenkes, die ihren Ursprung kranial lateral an der Femurkondyle hat und intraartikulär durch das Kniegelenk verläuft (Allen M et al., 1998). Sie führte nicht nur zu einer kontinuierlichen Sichtbehinderung, sondern stellte auch ein technisches Problem dar, so dass erschwerte Operationsbedingungen auftraten. Diese bestanden darin, dass der Defekt nicht immer senkrecht zur Oberfläche und nicht immer vollständig in der Hauptbelastungszone gesetzt

werden konnte. Der Defekt sollte im lasttragenden Bereich der Femurkondyle gesetzt werden, weil die Aufrechterhaltung der Knorpelzusammensetzung von der Bewegung und Belastung abhängig ist (Buckwalter J, 1995) und die größte Anzahl von Knorpeldefekten, die Probleme verursachen, im lasttragenden Bereich zu finden sind. Zusätzlich weist der unbelastete Knorpelbereich gegenüber den belasteten Bezirken eine dünnere Knorpeldicke und eine größere Elastizität auf (Rasanen et al., 1996).

Die verwendeten Hohlfräsen waren mit äußerer Millimetermarkierung ausgestattet, so dass jeder Zylinder mit korrekter Höhe entnommen werden konnte und somit bei der Transplantation einer Stufenbildung entgegen gewirkt wurde. Jeder Zylinder sollte in korrekter Höhe zur umgebenen Gelenkoberfläche und somit perfekt in den Defekt passen. Bei ausreichender Zylinderlänge von mindestens 10 mm ist die Stabilität des Implantats gewährleistet (Duchow J et al., 2000). Zusätzlich stellt die Press-fit-Technik ein geläufiges Prinzip zur Verankerung des Implantats im Defektbereich dar (Hangody L et al., 1997; Niederauer G et al., 2000; Laprell H et al., 2001; O'Driscoll S et al., 2001). Diese Methode gewährleistet, dass keine Schäden im Gelenk oder im Regenerat durch Mobilisation des Implantats hervorgerufen werden. Die Hohlfräsen unterscheiden sich vom Leerdefekt- zum Füllungsdurchmesser um 0,9 mm und bieten somit eine sichere Press-fit-Verankerung und ermöglichen eine einfache und standardisierte Durchführung. Dadurch war eine zusätzliche Fixation nicht erforderlich (Horas U et al., 2000), die weitere Nachteile, wie Fremdkörperreaktionen und einen Zweiteingriff zur Entfernung von Osteosynthesematerial hervorgerufen hätten. Die Entnahme des Knorpel-Knochen-Zylinders, sowie das Einbringen des Spenderzylinders waren mit dem Spezialwerkzeug einfach durchführbar.

Bei der Entnahme des Spenderzylinders muss die Oberflächenkontur und -krümmung der Empfängerregion, sowie der Entnahmewinkel berücksichtigt werden (Bös L et al., 2000; Schöttle P et al., 2001). Bei drei Schafen war die Oberflächenkrümmung des Spenderzylinders nicht mit der des Empfängers identisch. Kaudolateral bzw. kranialateral war der Zylinder mit höchstens 0,5 mm über dem Niveau, ansonsten bündig abgeschlossen. Das Hauptproblem der osteochondralen Autografts ist die Inkongruenz der Knorpeloberfläche, da der Zylinder aus einem Bereich mit anderer Oberflächenform entnommen wird. Das Schicksal des Knorpels wird maßgeblich von der Passform des Zylinders und der Kongruenz der Oberfläche bestimmt. Anderenfalls bildet sich Bindegewebe zwischen dem transplantierten und umgebenen Knorpel (Imhof A et al., 1999).

Um den Defekt bei der SC-Operationstechnik vollständig zu verschließen, wurde eine Kollagenmembran mit sechs Einzelheften auf den Gelenkknorpel aufgenäht. Dieses stellte sich als schwierig dar, da der Knorpel beim Schaf im Mittel mit 0,8 mm sehr dünn ist. Bei einigen Schafen konnte die Kollagenmembran nur mit vier oder fünf Heften befestigt werden. Jedoch wurde bei allen Schafen ein vollständiger Verschluss des Defektes gewährleistet und somit ein Herausfallen der Spongiosa in den Gelenkspalt verhindert.

Aufgrund der kurzen Beobachtungsphase von nur 12 Wochen können nur Aussagen über die initiale Heilung der osteochondralen Defekte und keine Aussagen über die Langzeit-Qualität der Gelenkoberfläche getroffen werden.

5.1.3 Gewinnung und Aufarbeitung der Proben

Die Sägeebene wurde parallel zur Femurlängsachse gewählt. Diese sagittale Ebene gibt einen Längsschnitt durch den gefüllten Defekt und den Leerdefekt. Diese Sägeebene ermöglicht die Beurteilung kranial, kaudal und basal des Defektes. Da der Verlauf des Bohrkanals von außen nicht zu erkennen war, besteht die Möglichkeit, dass einige Präparate nicht in sagittaler Ebene gesägt wurden. Diese nicht sagittal gesägten Kondylen wiesen somit unterschiedliche Ebenen im Defekt auf. Zusätzlich war das Sägeblatt mit einer Schnittdicke von einem Millimeter in Relation zum Defekt relativ groß. Da einerseits das Regenerat makroskopisch dem umliegenden Gewebe in Struktur und Farbe ähnlich war, und sich andererseits Defekte durch Knochenresorptionsprozesse vergrößert hatten, war die Mitte der Defekte nicht immer leicht auszumachen. Einige Paraplastblöcke, besonders die der nativen Kondylen, waren mit dem Mikrotom nicht schneidbar. Diese Paraplastblöcke mussten wieder aufgelöst, nochmals durch die Alkoholreihe geführt und neu eingebettet werden, welches möglicherweise zu Veränderungen der Bestandteile und der Struktur des Knorpel-Knochen-Blockes geführt haben könnte. Bei der Fixierung der Scaffold-Präparate wurde das synthetische Implantatmaterial durch die aufsteigende Alkoholreihe aufgelöst, so dass bei der makroskopischen Beurteilung mehr Scaffoldreste zu sehen waren, als sie in der Bildanalyse ausgewertet wurden.

5.1.4 Histologie

5.1.4.1 Safranin-Orange Färbung

Die Safranin-Orange Färbung ermöglicht eine Beurteilung des Glykosaminoglykangehaltes im Knorpel und wird standardmäßig in der Knorpel- und Knochenhistologie eingesetzt (Minnus R et al., 1982; Shapiro F et al., 1993; Niederauer G et al., 2000; Roberts S et al., 2003). Die Auswertung konnte nur deskriptiv erfolgen, da keine statistische Auswertung zu der Intensität der Safranin-Orange Färbung durchgeführt wurde. Bei deskriptiven Beurteilungen durch unterschiedliche Untersucher können auch verschiedene Beschreibungen auftreten. Da es sich um subjektive Beurteilungen handelte, stellt dieses eine Fehlerquelle dar.

5.1.4.2 TRAP-Färbung

Die TRAP-Färbung ist ein etabliertes Verfahren und dient der Darstellung der Osteoklasten. Nur die TRAP positiven Zellen, die Knochenkontakt hatten, wurden erfasst. Die Osteoklasten wurden in einer definierten ROI gezählt, die auf einem Plastikplättchen eingefräst war. Die Schwierigkeit bestand darin, dass die ROI nicht immer exakt auf den Defekt aufgelegt werden konnte, da der Bohrkanal teilweise nicht mehr deutlich zu erkennen war. Die Aussagekraft der Ergebnisse ist aber unbeeinflusst, da die Präparate zweimal vom gleichen Untersucher gezählt und dann gemittelt wurden und dieser Fehler bei allen Präparaten identisch war.

5.1.5 Immunhistochemie

Um zusätzlich Aussagen über die Qualität des Knorpels zu machen, wurden immunhistochemische Färbemethoden angewandt (Roberts S et al., 2003). Die in dieser Studie verwendete Kollagen I und II Färbung mit Avidin-Biotin ist eine etablierte Methode. Um die Epitope des Primärantikörpers für Kollagen II zu demaskieren, wurden die Enzyme Hyaluronidase und Pepsin eingesetzt. Dabei zeigte sich in Vorversuchen, dass eine 4-stündige Hyaluronidase- und 30-minütige Pepsininkubation die besten Ergebnisse lieferten. Aus diesen Gründen wurden für diese Studie die erwähnten Inkubationszeiten gewählt. Für Kollagen I wurde lediglich eine Vorbehandlung mit Hyaluronidase für 4 Stunden festgelegt. Da bei den Vorversuchen auf einigen Präparaten unspezifische Hintergrundfärbungen auftraten, wurden in jeder Versuchsreihe Negativkontrollen durchgeführt. Diese Negativkontrollen bestätigten die Spezifität der Färbung.

Die α -smooth muscle actin Färbung ist ein etabliertes Verfahren zur Gefäßdarstellung. Der verwendete Antikörper gegen α -smooth muscle actin ist nicht in der Lage, neu gebildete Gefäße, die nur aus Endothelzellen bestanden und ein Lumen formten, zu erfassen. Alle größeren Gefäße, die Muskelzellen besaßen, wurden zuverlässig bei geringer Hintergrundfärbung dargestellt. Die neu gebildeten Gefäße blieben bei der Verwendung des α -sma Antikörpers unbeachtet und wurden nicht miterfasst. Die gezählte Gefäßanzahl ist dadurch vermutlich niedriger als die tatsächliche. Die Aussagekraft der Ergebnisse ist aber unbeeinflusst, da dieser Fehler bei allen Präparaten identisch war. In Abhängigkeit von der Gefäßgröße wurden die Gefäße eingeteilt und somit bestand die Möglichkeit, dass einige Gefäße doppelt erfasst wurden. Da der Fehler bei allen Präparaten gleich war, sind die Ergebnisse aussagekräftig. Die definierte ROI war auf einem Plastikplättchen eingefräst und birgt dadurch keine Fehlerquelle. Die Schwierigkeit bestand, wie auch bei den Osteoklasten darin, dass die ROI nicht immer exakt auf den Defekt aufgelegt werden konnte, da der Bohrkanal teilweise nicht mehr deutlich zu erkennen war. Da die Präparate zweimal vom gleichen Untersucher gezählt und dann gemittelt wurden und diese Fehlerquelle bei allen Präparaten identisch war, ist sie als vernachlässigbar einzuschätzen.

5.1.6 Histomorphometrie

Der Vorteil einer computergestützten Auswertung liegt in der vom Untersucher unabhängigen (Farbton und Farbtintensität) und einfachen Bedienung und somit einer vergleichbaren Auswertung durch unterschiedliche und histologisch wenig geschulte Personen. Es gab nur dann Fehlerquellen, wenn subjektive Entscheidungen getroffen werden mussten. Von jedem Schaf wurde ein Kollagen I- und Kollagen II-Präparat ausgewertet, wobei das Kollagen I Präparat zusätzlich zur Scaffoldrest-Auswertung herangezogen wurde. Die Verwendung von Serienschnitten oder von mehreren Präparaten die von unterschiedlichen Ebenen des Paraplastblockes stammten, hätten vielleicht zu genaueren Aussagen der Gewebeanteile führen können. Diese Serienschnitte wären aber sehr zeitaufwendig gewesen. Stattdessen wurden die gleichen Präparate von zwei unabhängigen Untersuchern ausgewertet und somit wurde die Fehlerquelle minimiert. Da die Präparate aus verschiedenen Ebenen gefertigt wurden und zusätzlich die ROI bei allen Präparaten manuell auf den Bohrkanal und somit nicht identisch aufgelegt werden konnten, durfte die ermittelte Leerfläche von den Kollagen I, II und den Scaffold Präparaten eines Tieres nicht mehr als 5% abweichen. Die ROI konnte nicht immer exakt auf den Bohrkanal gelegt werden, da diese Grenzen teilweise durch die

Heilungsprozesse nicht mehr eindeutig zu erkennen waren. Da die ROI rechteckig war und der Knorpel eine konvexe Oberflächenkontur aufweist, war die ermittelte Leerfläche bei allen Präparaten größer, als sie tatsächlich ist. Somit besaßen die nativen Kondylen auch eine Leerfläche. Die Aussagekraft der Ergebnisse ist unbeeinflusst, da die Leerfläche durchgehend bei allen Präparaten höher ist, als die tatsächliche Leerfläche. Eine Kollagenmaske wurde für die jeweilige Färbung eingesetzt, so dass der rote Knorpel bei der Kollagen II Färbung (bzw. der Knochen bei der Kollagen I Färbung) zunächst automatisch erfasst wurde. Es bestand jedoch die Möglichkeit, bei zu schwacher Anfärbung, die Präparate manuell zu bearbeiten. Somit war eine Korrektur der Kollagenmaske möglich.

5.1.7 Scoring

Schwierigkeiten treten bei der Beurteilung der Geweberegeneration im Knorpel-Knochen-Bereich auf. Für die Wiedergabe der Bewertung bietet sich ein Score an, im Rahmen dessen für definierte Kriterien Punkte vergeben werden. Dieser modifizierter Score nach O'Driscoll (Frenkel S et al., 2005) und der eigens entworfene Score ermöglichen einen Vergleich zwischen den Gruppen bei verschiedenen Untersuchern. Der Vergleich verschiedener Gruppen wird unter der Annahme gemacht, dass der höchste Scorewert in jeder Kategorie akkurat die vollständige Regeneration in dieser Kategorie widerspiegelt. Jedoch liegen die Nachteile eines semiquantitativen Scores in der subjektiven Beurteilung des Bewerter (Breinan H et al., 2001) und stellen somit eine Fehlerquelle dar. Zusätzlich ist die Anzahl der Abstufungen im Auswertschema ausschlaggebend. Je mehr Abstufungen und Kriterien beurteilt werden, desto genauer werden die Ergebnisse. In der Literatur wird bezüglich der Untersuchungskriterien selten festgelegt, an welcher Stelle im Defektbereich die Beurteilung vorgenommen werden soll. Es entstehen grundlegend unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit davon, ob der Heilungserfolg am Rand oder im Zentrum des gesetzten Defektes gewertet wird. Am Defektrand sind oft bessere Ergebnisse erzielt worden als im zentralen Defektbereich.

Es gibt zahlreiche Auswertschemata zur Beurteilung von Knorpelregeneration bei Mensch und Tier in der aktuellen Literatur. Jedoch wird beim Menschen zum größten Teil der Knorpel makroskopisch beurteilt und eher selten histologischen Untersuchungen am explantierten Gelenk unterzogen. Weiterhin wird beim Menschen der Schmerz als Kriterium angeführt, der jedoch bis jetzt in einem Tiermodell kaum objektiv bewertet werden kann. Im

Tiermodell werden Leistungen und mögliche Probleme bei der Reparatur des neuen Knorpels neutral erfasst, da die Schmerzbeurteilung nicht möglich ist (Breinan H et al., 2001). Aus diesem Grund kann diese Studie nur mit anderen tierexperimentellen Studien verglichen werden und nicht uneingeschränkt auf den Menschen bezogen werden.

Der modifizierte Score nach O'Driscoll (Frenkel S et al., 2005) wurde in dieser Studie verwendet, da der Score ein großes Spektrum verschiedener Kriterien abdeckt und somit eine umfassende Beurteilung des neu gebildeten Gewebes ermöglicht. Es werden sowohl morphologische Kriterien des Regenerats, als auch Degenerationszeichen und die Hypozellularität im Defektbereich und auch im defekt angrenzenden Gewebe beurteilt. Da der Untersuchungszeit mit 12 Wochen erfolgte, konnte bei der SC-Gruppe und den Leerdefekten keine vollständigen Defektheilungen beobachtet werden. Aus diesem Grund wurden nur degenerative Veränderungen im Randbereich des Defektes bewertet. Das führte dazu, dass der Score nach O'Driscoll (Score A) in vielen Punkten bei der SC-Gruppe und den Leerdefekten nicht anwendbar war und somit dieser Score durch zusätzliche Bewertungskriterien (Score B) erweitert wurde. Die zusätzlichen Kriterien umfassen die prozentuale Auffüllung im Defektbereich, die laterale und basale knöcherne Integration, Entzündung- und Fremdkörperreaktionen.

Im Score B wurde die höchste Punktzahl durch den Auffüllungsgrad im Defektbereich erreicht, egal von welcher Art das Regeneratgewebe war. Aus diesem Grund wiesen einige Präparate eine hohe Punktzahl auf, obwohl das Regeneratgewebe von minderwertiger Qualität war. Insofern war es von Bedeutung, beide Scores zu verwenden, um ein Gesamtbild von der Knorpel-Knochenheilung darzustellen und um die verschiedenen Gruppen zu unterscheiden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 OCT-Operationsmethode

Wagner schrieb bereits 1964 über osteochondrale Transplantationen zur Deckung von Gelenkknorpeldefekten. Der Vorteil dieser Methode ist, dass ein vitaler, funktionstüchtiger hyaliner Knorpel transferiert wird und die Einheilung über den im Verbund transplantierten Knochen erfolgt (Wagner, 1964).

In den ersten Stunden nach der Transplantation teilen sich die Knochenzellen und produzieren Grundsubstanz. Parallel dazu wird die transplantierte Knochengrundsubstanz zellulär und

enzymatisch abgebaut, wodurch die verpflanzten Osteoblasten in ihrer Zellteilung stimuliert und die pluripotenten Mesenchymzellen zu Osteoblasten differenziert werden (Schweiberer, 1981). Eine osteoblastische Zellproliferation kommt nur dann zustande, wenn die Knochengrundsubstanz unverändert, d.h., auch mit der ungeformten Interzellulärsubstanz überpflanzt wird (Schweiberer L et al., 1986). Schon nach 3-4 Tagen ist eine Proliferation osteoblastischer Zellen mit geflechtartigem Knochenaufbau zu erkennen (Axhausen W, 1962). Auch in dieser Studie konnte eine Knochenneubildung beobachtet werden. Durch die verpflanzten und neu geformten Osteoblasten entstand eine verdichtete Trabekelstruktur mit kleinen Lumen im Defektbereich und an den Defekträndern, welches zu einer Zunahme der Knochendichte führte. Histomorphometrisch konnte ein erhöhter Knochenanteil, der an der Kollagen I Färbung gemessen wurde, bei den gefüllten OCT-Präparaten im Vergleich zur nativen Kondyle bestätigt werden.

Der transplantierte Knorpel-Knochenzylinder dient als Leitgerüst für die einsprossenden Gefäße, über die die Osteoprogenitorzellen (mesenchymale Stammzellen) in das Transplantat gelangen. Die Spongiosaarchitektur des Zylinders schafft, auch ohne eine begleitende osteoklastische Resorption, ausgezeichnete Voraussetzungen für das Einsprossen von Blutgefäßen und Begleitzellen. Bedingungen für den Knochenaufbau ist eine reichliche Gefäßversorgung, denn Osteoblasten können ihre Aufgabe nur in unmittelbarer Nachbarschaft zu Blutkapillaren erfüllen (Schenk R, 1991). Einige Untersucher haben darauf hingewiesen, dass die Revaskularisation von spongiösen Transplantaten innerhalb von Stunden nach der Transplantation stattfindet, als ein Ergebnis von Anastomosen der Lagergefäße mit den Gefäßen des Transplantats (Zeiss et al., 1960; Deleu J et al., 1965; Weiland A et al., 1983). In dieser Studie haben sich möglicherweise auch Anastomosen gebildet, da die Gefäßanzahl bei der OCT-Gruppe im Vergleich zu den anderen Operationsmethoden geringer war. Das gesetzte Trauma im Knorpel- und Knochenbereich hat eine Entzündung zur Folge, so dass Entzündungszellen angelockt (Winet H, 1996) und Wachstumsfaktoren freigesetzt werden (Aspenberg P et al., 1996). Diese Wachstumsfaktoren stimulieren die Angiogenese (Cunningham N et al., 1992). Bei der OCT-Gruppe wurden nur vereinzelt Entzündungsreaktionen beobachtet, so dass vermutlich nur in der initialen Heilungsphase Entzündungen auftraten und nach 12 Wochen diese wieder zurückgegangen waren. Da die Angiogenese von einer Entzündungsreaktion begleitet wird, könnte diese für den Abschluss der Gefäßneubildung sprechen. Dafür spricht die Tatsache, dass in der OCT-Gruppe nur eine gering höhere Anzahl von Gefäßen gezählt wurde im Vergleich zur nativen Kondyle.

Durch den gesetzten Defekt wurden Zellen, Grundsubstanz und Blutgefäße an den Randbereichen zerstört, welches auch in anderen Studien beschrieben wurde (Calandruccio R et al., 1962). Daraufhin sterben bedingt durch die Minderversorgung die Osteozyten und Osteoblasten ab, wodurch Osteoklasten angelockt werden (Soost F, 2001). Zusätzlich produzieren Osteoblasten den Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) und bewirken somit die Osteoklastengnese aus den Stammzellen (Fernandez-Tresguerres-Hernandez-Gil I et al., 2006). Schweiberer berichtet, dass bereits nach einer Woche Umbauvorgänge von Osteoblasten und Osteoklasten nachgewiesen wurden, die sich auf den Knochenbälkchen in der Nähe der Gefäße abspielten (Schweiberer L, 1971). Die Knochenbälkchen des Zylinders müssen sich der neuen Umgebung anpassen und entsprechend der Beanspruchung neu ausrichten. Folglich kommt es zum Knochenumbau mit Osteoklasten und Osteoblasten. Aus diesen Gründen war vermutlich die Osteoklastenzahl bei der OCT-Gruppe im Vergleich zur nativen Kondyle signifikant höher.

Die endgültige Struktur des Knochens wird erst durch den Abbau des Transplantats mit lokaler remodelierender Knochenneubildung möglich (Aldinger G et al., 1991). Der schleichende Ersatz des Knorpel-Knochenzylinders durch vitales Knochengewebe vollstreckt sich während der Umbauvorgänge längs der Transplantatachse vom angrenzenden Knochengewebe aus zur Mitte des Transplantats (Burchardt H, 1983), das mit den Resultaten der eigenen Studie übereinstimmt. Diese Vorgänge können sich in Abhängigkeit von der Transplantatgröße, vom Transplantattyp sowie vom Transplantatlager über mehrere Jahre erstrecken (Mankin et al., 1983). In dieser Studie war nach 12 Wochen die neue Spongiosastruktur in Bezug auf die trajektorielle Architektur nur teilweise remodelt. Gleichzeitig fanden zum Umbau im Knorpel-Knochenzylinder Umbauvorgänge im Lagerknochen statt. Der transplantierte Knorpel-Knochenzylinder zeigte hervorragende osseointegrative Eigenschaften, so dass eine Unterscheidung zwischen dem knöchernen Teil des Zylinders und dem Lagerknochen nach 12 Wochen häufig nicht eindeutig möglich war. Dieses Remodeling schweißte den Lagerknochen mit dem Transplantat zusammen, was bereits Schweiberer in seiner Studie bestätigte (Schweiberer L et al., 1986).

Entscheidende Bedingungen für den Einbau von Transplantaten sind Formstabilität und Primärstabilität. Erreicht wird dieses durch ein genaues Einpassen und Einpressen, so dass mit einer über einige Wochen anhaltenden mechanischen Ruhe im Implantatbett gerechnet werden kann. Eine absolute Stabilität kann zwar nicht gewährleistet werden, jedoch sollten

zwischen Transplantat und Lagergewebe keine Relativbewegungen auftreten. Diese würden die primäre knöcherne Einheilung stören (Braun A et al., 1983; Schenk R, 1991). Die in dieser Studie verwendete Press-fit-Technik gewährleistete dem Transplantat diese benötigte mechanische Ruhe. Durch diese mechanische Stabilität zwischen Transplantat und Lagerknochen konnte die primäre Knochenheilung gewährleistet werden, und die größte Anzahl der mesenchymalen Stammzellen differenzierten sich vermutlich zu Knochenzellen. Diese Phänomene wurde schon durch andere Autoren beschrieben (Caplan A, 1990; Schenk R, 1991).

Nach 12 Wochen waren die subchondrale Lamelle und der restliche knöcherne Anteil bereits vollständig integriert, obwohl nicht sicher beurteilt werden konnte, ob der Remodelingprozess vollständig abgeschlossen war. Das Problem der Heilung lag darin, dass der verpflanzte Knorpel nicht mit dem angrenzenden gesunden Knorpel homogen verschmelzen konnte. Laut Lewandowska erschweren die negativ geladenen Proteoglykane des Gelenkknorpels die Anheftung von Zellen an ihrer Oberfläche, was zu einer Spaltbildung zwischen transplantiertem und angrenzendem Knorpel führt (Lewandowska K et al., 1987). Der Heilungsmechanismus im Knorpelbereich ist abhängig von der Proliferation und Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen aus dem Knochenmark und nicht von den Chondrozyten vom angrenzenden Gelenkknorpel (Silver F et al., 1995). Vermutlich konnten sich die Knochenmarkszellen im gelenksnahen Teil des Schadens nicht zu Chondroblasten differenzieren, um den Spalt nahtlos mit Knorpelgewebe auszufüllen. In Übereinstimmung mit der Literatur war eine Fusion der subchondralen Knochenschicht mit dem Lagergewebe festzustellen, nicht aber eine Verbindung des Knorpels (Otte P, 1972). Das Fehlen von Faserstrukturen, die den Defektspace zwischen Zylinder und umliegendem Knorpel überbrücken, führt zu berechtigten Bedenken bezüglich der Langzeitergebnisse. Bereits Shapiro und Messner haben darauf hingewiesen, dass die mangelnde Einbindung des Regenerationsgewebes in den Verbund zu biomechanischen Störungen und somit zu frühzeitigen degenerativen Veränderungen führt (Shapiro F et al., 1993; Messner K, 1999). In dieser Studie konnten bereits Degenerationszeichen im Knorpel in Form von Chondrozytenclustern und Hypozellularität nachgewiesen werden. Diese degenerativen Beobachtungen im Knorpelbereich nach 12 Wochen sind als kritisch anzusehen. Unklar bleibt auch in dieser Studie, ob die Veränderung des Knorpels Ursache oder Folge des veränderten Knochens ist. Einige Autoren berichten, dass sich der subchondrale Knochen und der Knorpel untereinander beeinflussen. Degenerativer Knorpel mit einer verdickten subchondralen

Lamelle und nachfolgender Sklerosierung ist in klinischen und experimentellen Studien bei Arthrose beobachtet worden (Radin E et al., 1986; Pastoureau P et al., 2003; Siebert C et al., 2003). In dieser Studie konnte bei nahezu allen Präparaten eine Verdickung der subchondralen Lamelle beobachtet werden. Dass die ursprüngliche Qualität des Knorpel-Knochenzylinders zu einem späteren Zeitpunkt wiederhergestellt wird, ist unwahrscheinlich, da degenerative Veränderungen im Knorpel- und Knochenbereich nach heutigem Wissen irreversibel sind (Mankin H, 1974; Pastoureau P et al., 2003). Der Beobachtungszeitraum von nur 12 Wochen ist zu kurz, um Langzeitprognosen aufzustellen, jedoch ist die verdickte subchondrale Lamelle und die Degenerationszeichen im Knorpel als kritisch anzusehen und somit die Dauerhaftigkeit des Transplantats zumindest zweifelhaft. Durch Übertragung des Knorpel-Knochenzylinders bei der OCT-Gruppe entsprach der Anteil des hyalinen Knorpels, gemessen am Kollagen II Anteil, dem der nativen Kondyle. Jedoch war die Knorpeldicke des Transplantats im Vergleich zum angrenzenden Knorpel vermindert. Das Transplantat wurde aus der gegenüberliegenden Kondyle entnommen und konnte somit eine unterschiedliche Oberflächenkonvexität und auch eine andere Knorpeldicke aufweisen. Jedoch wurden die Defekte randomisiert auf der medialen bzw. lateralen Femurkondyle gesetzt. Möglicherweise wurde bei kleinen Niveaudifferenzen die Knorpeloberfläche abgerieben, oder eine erhöhte Belastung führte zu einem vermehrten Flüssigkeitsaustritt und somit zu einer Reduzierung der Knorpeldicke. Ein anderer Grund für die verminderte Knorpeldicke könnte das Eintreiben des Zylinders in den Defekt sein.

Leichte Degenerationszeichen im Knorpel und Verdickungen im Knochenbereich wurden beim autologen osteochondralen Transfer nachgewiesen. Das in anderen Studien beobachtete Fortschreiten der Degeneration der Gelenkoberfläche bei der OCT-Gruppe bleibt in dieser Studie unberücksichtigt, da sich der Untersuchungszeitraum auf 12 Wochen beschränkt. Trotz dieser Beschränkungen stellen frische, autologe Knorpel-Knochenzylinder bis jetzt das effektivste und erfolgreichste Transplantat dar, an dem sich andere Knochenersatzmaterialien und Operationsmethoden messen lassen müssen.

5.2.2 SC-Operationsmethode

Nach van Dyk und Mitarbeitern gab es bis 1998 keine Angaben über die Verwendung von autologen Spongiosapartikeln zur Behandlung von großen osteochondralen Defekten. Ihnen schien, dass bei osteochondralen Defekten autologe Spongiosapartikel ein logisches

Auffüllungsmaterial für den Knochenbereich seien (van Dyk G et al., 1998). Durch die Formbarkeit der Spongiosapartikel werden die technischen Probleme bezüglich der Gelenkflächenkongruenz, wie sie bei dem autologen osteochondralen Transfer auftreten können, umgangen (Yamashita F et al., 1985; Outerbridge H et al., 1995), allerdings kommt es im Rahmen dieser Operationstechnik nicht zur Wiederherstellung der knorpeligen Gelenkoberfläche.

Die in den subchondralen Knochen eingebrachte, komprimierte Spongiosa entsprach nicht der anatomischen Form und den mechanischen Eigenschaften des physiologischen Knochens. Demzufolge wurde der größte Anteil der unstrukturierten Knochenfüllung innerhalb von 12 Wochen resorbiert und durch Bindegewebe ersetzt. Die SC-Defekte waren, bis auf ein Defekt, nur ungenügend aufgefüllt, was möglicherweise für einen starken Knochenabbau spricht. Dieses ist vermutlich auf die hohe Osteoklastenzahl zurückzuführen, die für die verstärkte Resorption der Spongiosachips verantwortlich ist. Die Anzahl der Osteoklasten war bei dieser Operationsmethode dreimal höher als im Leerdefekt. Die Spongiosachips müssen zunächst abgebaut werden bevor sich neuer Knochen bilden kann, da die eingebrachte, verdichtete Spongiosa keine Leitschienenstruktur für die einwandernden Zellen aufweist. Durch die schnelle Resorption der Kollagenmembran hatten die Knochenchips frühzeitig Kontakt mit der Synovia, was eine beschleunigte Knochenresorption ausgelöst haben könnte. In einem von uns durchgeführten Pilotversuch zeigte sich, dass die Kollagenmembran bereits nach zwei Wochen aufgelöst war. Somit waren die Spongiosapartikel im Defekt spätestens nach zwei Wochen von Synovia umgeben. Durch die fehlende Knorpelschicht wurde keine physiologische Belastung auf den Knochen übertragen, daher fand vermutlich in der Mitte des Transplantats keine Knochenintegration in das umgebene Gewebe statt und somit wurde die Knochenneubildung nicht unterstützt.

Die Knochenchipgröße kann auch ausschlaggebend für eine fehlende Integration sein, da in einem Pilotversuch von uns festgestellt wurde, dass gemörserte Spongiosa nach 12 Wochen nahezu vollständig integriert ist. Diese Aussage ist nicht allgemeingültig, da dieser Versuch nur an zwei Tieren durchgeführt wurde, lässt aber eine Tendenz vermuten. Möglicherweise verzögerte sich aus diesen aufgeführten Gründen die knöcherne Rekonstruktion. Nach 12 Wochen war der Kollagen I Anteil der SC-Gruppe mit dem der nativen Kondyle vergleichbar, aber die Defekte waren nur ungenügend aufgefüllt. Die Trabekel im Randbereich des Transplantats waren stark verdichtet, der Knochen sklerosiert und die Lumina verengt. Nach

O'Driscoll stellen spongiöse Transplantate ein Leitgerüst dar, an dem mesenchymale Stammzellen entlang wandern, sich zu Chondrozyten differenzieren und Matrix produzieren können (Schenk R, 1991; O'Driscoll S, 1998). Vermutlich war das spongiöse Transplantat zu stark verdichtet worden, so dass keine Leitstruktur existierte, ein Einbluten in den Defekt nicht stattfand, die Ernährung der mesenchymalen Stammzellen ausblieb und Knochengewebe zunächst nicht einwachsen konnte. Auch Gotterbarm und Mitarbeiter (Gotterbarm T et al., 2003) vermuteten übereinstimmend mit dieser Studie, dass in ihren Versuchen der subchondral eingebrachte Knochenzylinder die Defektoberfläche gegenüber dem Markraum abschloss, das Einwandern von mesenchymalen Stammzellen aus dem Knochenmarkraum dadurch verhindert wurde und somit die Grundlage für die Entwicklung eines knorpelartigen Ersatzgewebes fehlte.

Eine der wesentlichen Eigenschaften des spongiösen Knochens ist sein viskoelastisches Verhalten. Die Viskoelastizität führt dazu, dass nach Kompression von mehreren hundert Kilogramm der Knochen sich wieder ausdehnen kann und dadurch Spalträume entstehen, die eine rasche Gefäßeinsprossung zulassen (Burri C et al., 1977). Osteonähnliche Strukturen benötigen entsprechend der natürlich im Knochen vorkommenden Kanäle Porendurchmesser von mehr als 200 μm . Bei einer Porendicke ab 100 μm kann mineralisiertes Knochengewebe einwachsen. Damit bindegewebige Strukturen zwischen den Spongiosapartikeln einwachsen können, sind Porendurchmesser von 5-15 μm ausreichend (Schenk R, 1991). Möglicherweise waren die entstanden Porendurchmesser im Defektbereich so gering, dass nur Bindegewebe einwachsen konnte und somit mehr Gefäße gebildet wurden. Bei der SC-Gruppe wurden mehr Gefäße gebildet als in der OCT-Gruppe, was an den stoffwechsellaktiven Osteoklasten liegen könnte, die viele Gefäße benötigen. Diese vermehrte Gefäßanzahl resultiert vermutlich durch die Verwendung von zwei Knochenzylindern zum Auffüllen des SC-Defektes. Im Defekt war somit die doppelte Grundsubstanz aus der die doppelte Menge an Wachstumsfaktoren freigesetzt werden konnte. Wachstumsfaktoren besitzen eine angiokinetische Wirksamkeit (Cunningham N et al., 1992) und bewirken, dass perivaskuläres Bindegewebe einsprosst und sich Kapillaren ausbilden (Rueger J, 1992). Zum einen ermöglicht die Vaskularisation das Einwandern von Makrophagen, Monozyten und Osteoklasten, die den Knochen abbauen, was bei dieser SC-Operationsmethode Voraussetzung für die Knochenneubildung war und (Winet H, 1996; Kübler N, 1997), zum anderen Osteoblasten die danach die Osteone aufbauen (Caplan A, 1990). Holz und Mitarbeiter berichten, dass eine kaum komprimierte autologe Spongiosa mit großen

Spongiosachips zu einer raschen Revaskularisation führt und somit die ossäre Integration beschleunigt (Holz et al., 1982). Der Kontakt mit einem möglichst gut vaskularisierten Gewebe ist hervorzuheben, da die Größe der Gefäßstraße für alle Umbauvorgänge von entscheidender Wichtigkeit ist (Burri C et al., 1977). Auch Lexer fand heraus, dass ein Einwandern von perivaskulärem Gewebe, Blutgefäßen und undifferenzierten Mesenchymzellen vom knöchernen Anteil des Lagergewebes ausgeht. Das Lagergewebe muss eine ausreichend große, möglichst lückenlose Anbindung zum Implantat aufweisen (Lexer, 1908; Lexer, 1911), weil diese Tatsachen ausschlaggebend für die Reparationsprozesse sind (Burri C et al., 1977). In dieser Studie sollte durch das Verdichten und Impaktieren der Spongiosa ein intensiver Kontakt des Lagergewebes mit den Spongiosachips hergestellt werden, um ein Einwandern von mesenchymalen Zellen und Gefäßen aus dem Lagergewebe zu gewährleisten. Die Anbindung vom Lagergewebe zu den Spongiosachips scheint durch die starke Komprimierung der Spongiosa nicht erfolgreich gewesen zu sein.

Das gesetzte Trauma im Knorpel- und Knochenbereich hat eine Entzündung zur Folge, so dass Entzündungszellen angelockt werden (Winet H, 1996). Entzündungen wurden in dieser Studie zwar nur vereinzelt beobachtet, aber die Entzündungszellen könnten durch die Synovia aus dem Defekt gespült worden sein und zusätzlich könnte die Entzündung nur initial aufgetreten und nach 12 Wochen wieder abgeklungen sein.

Eine bessere osteoinduktive Potenz kann durch eine größere Dichte und Menge des Transplantats erreicht werden (Burri C et al., 1977). Eine osteoblastische Zellproliferation kommt aber nur dann zustande, wenn die Knochengrundsubstanz unverändert, d.h., auch mit der ungeformten Interzellulärsubstanz überpflanzt wird (Schweiberer L et al., 1986), wobei die übertragenden lebenden Knochenzellen nicht so sehr ausschlaggebend sind (Burri C et al., 1977). Jede Traumatisierung des Knochengewebes, durch Defektsetzung oder durch das Einbringen von Implantaten oder Transplantaten, löst eine lokale Aktivierung der Knochenbildung aus. Diese wird im Gegensatz zu den Umbauvorgängen nicht mit einer osteoklastischen Resorptionsphase eingeleitet. Zur Knochenbildung werden Osteoprogenitorzellen durch Mitogene zur Proliferation angeregt. Induktionsstoffe und Wachstumsfaktoren lösen die Differenzierung dieser Zellen zu Osteo- und/oder Chondroblasten aus (Schenk R, 1991). Nach 12 Wochen war bei den meisten Präparaten die subchondrale Lamelle nicht wieder hergestellt. Teilweise war ein Ansatz einer subchondralen

Lamelle in den Randbereichen zu beobachten, jedoch im Zentrum des ursprünglichen Defektes war diese stets unterbrochen. Aus dieser Beobachtung lässt sich schließen, dass die Knochenneubildung vom Defektrand ausging. Im Gegensatz dazu berichtet Shapiro, dass von der Basis des Knochens die knöcherne Regeneration ausgeht (Shapiro F et al., 1993). Nur an den Randbereichen war eine knöcherne Grundlage gebildet worden, die die mechanische Stabilität für eine Knorpelneubildung gewährleistet. So konnte sich nur auf der knöchernen Grundlage im Randbereich Knorpel bilden. Folglich war der Kollagen II Anteil signifikant geringer als bei den nativen Kondylen, was vermutlich auf eine mangelnde Knochenneubildung zurückzuführen ist und somit die Voraussetzung für die Knorpelregeneration ausblieb.

Van Dyks Studie an caninen Oberschenkelrollkämmen zeigte nach 12 Wochen eine vorhandene Tidemark und die Entwicklung der subchondralen Lamelle im Defektbereich. Der Defekt war nahezu einheitlich mit einem weichen, weißen Gewebe überzogen, welches sich mit dem angrenzenden Knorpel in einer Ebene befand. Allerdings wurden auch Fissuren im gebildeten fibrocartilaginären Gewebe beobachtet (van Dyk G et al., 1998). Diese Resultate ließen sich für die in dieser Studie untersuchte Heilung von osteochondralen Defekten nicht bestätigen. Der Defekt war in ihren Versuchen in der Trochlea femoralis der Hunde lokalisiert und war im Durchmesser und in der Tiefe 10 mm. Verschiedene Defektlokalisationen führen zu unterschiedlichen Belastungssituationen auf den Defekt und somit zu unterschiedlichen mechanischen Rahmenbedingungen. Einerseits kann die Defektlokalisation ausschlaggebend für ein besseres Heilungsergebnis sein, andererseits könnte die Stärke der Spongiosaverdichtung eine Rolle spielen. Die Verwendung unterschiedlicher Spezies und das Verhältnis der Defektgröße zum Versuchstier darf nicht vernachlässigt werden.

Die Resultate dieser Operationsmethode in dieser Studie waren enttäuschend. Die eingebrachten Spongiosachips haben sich nicht in den Defekt integriert. Der Heilungsverlauf zeigte, dass der Defekt ungenügend aufgefüllt war, sich weder eine subchondrale Lamelle noch Knorpelgewebe gebildet hatte. Diese SC-Operationsmethode ist nach dieser tierexperimentellen Studie als bedenklich anzusehen.

5.2.3 Scaffold-Operationsmethode

In der vorliegenden Studie wurde von der Überlegung ausgegangen, dass mesenchymale Stammzellen ohne vorherige Kultivierung bei mechanischer Belastung zur Chondrozytendifferenzierung befähigt sind (Gomar-Sancho F et al., 1987; Jansson V et al., 2000). Die von Pauwels entwickelte Theorie der „kausalen Histogenese“ besagt, dass die mechanischen Rahmenbedingungen, die auf eine mesenchymale Zelle wirken, eine festgelegte Gewebedifferenzierung zur Folge hat (Pauwels, 1973; Kummer B, 1995). Die in dieser Studie verwendeten dreidimensionalen Trägerkonstrukte aus resorbierbarem Polylaktidglykolid ermöglichten durch ihre Poren einen Zugang zum subchondralen Markraum und somit das Einwandern von mesenchymalen Stammzellen in den synthetischen Scaffold. Nur so konnte auf eine vorherige Kultivierung der Bioimplantate mit Chondrozyten und Osteozyten verzichtet werden (Jansson V et al., 2000).

Beim Einsatz von Knochenersatzstoffen in osteochondralen Defekten muss die im Knochen liegende Schicht des Implantats eine dem Knochen angepasste harte Struktur besitzen. Idealerweise sollte eine Knochenersatzschicht verwendet werden, deren Elastizitätsmodul leicht unter dem des spongiösen Knochens liegt, so dass der Knochen nach dem Einwachsen in diese Schicht die mechanische Stabilität aufgrund seiner größeren Steifigkeit übernimmt. Aus diesem Grund wurden in dieser Studie Implantate mit einer 58%igen (PW) und 84%igen (PH) Steifigkeit bezogen auf den gesunden, ovinen subchondralen Knochen gewählt. Je mehr Polylaktidglykolid abgebaut wird, desto mehr wird der Knochen in der Knochenersatzschicht hypertrophieren, um den Verlust an Stabilität auszugleichen. Die PW-Gruppe, die weniger Scaffoldreste aufwies als die PH-Gruppe, zeigte nach 12 Wochen tendenziell einen höheren Kollagen I Anteil im Vergleich zur PH-Gruppe. Dies ist vermutlich auf die geringere Polylaktidglykolid-Masse der PW-Scaffolds zurückzuführen, die schneller degradieren konnten und somit eine schnellere Knochenneubildung ermöglichten. Zusätzlich stand der obere Bereich der Scaffolds von Anfang an im direkten Kontakt mit der Synovia, so dass die Scaffolds möglicherweise aus diesem Grund in diesem Bereich schneller abgebaut wurden. Nur in diesem Bereich, in dem der Scaffold resorbiert war, hatte sich neues trabekuläres Knochengewebe gebildet. Die neu gebildeten Spongiosabälkchen waren in diesem Bereich deutlich dicker und die Lumina kleiner im Vergleich zur nativen Kondyle. Dieses führte dazu, dass der Scaffold vollständig von Knochengewebe umgeben war und die Synovia das synthetische Material nicht mehr abtransportieren konnte und somit vermutlich die

Knochenneubildung an der Defektbasis verzögert wurde. In dem Bereich, in dem das eingebrachte Implantat noch nicht resorbiert war, waren nur die Implantatporen mit Knochengewebe aufgefüllt. Aus diesen Gründen lässt sich erklären, dass der Kollagen I Anteil der nativen Kondylen signifikant höher war als der der Scaffold-Gruppen.

Die in dieser Studie verwendeten porösen Scaffolds besaßen nicht nur eine reine Platzhalterfunktion, sondern ermöglichten dem umgebenden Knochen eine teilweise Durchbauung. Die porösen Strukturen simulieren im Sinne eines Leitschieneneffektes eine vom Lagergewebe ausgehende Knochenneubildung. Schenk geht davon aus, dass für den Erfolg eines knöchernen Durchbaus die Resorbierbarkeit der Knochenersatzstoffe ausschlaggebend ist (Schenk R, 1991). Diese Theorie wurde in dieser Studie bestätigt, da nur ein geringer Teil der Scaffolds resorbiert und dementsprechend wenig neuer Knochen gebildet wurde. Zunächst beschränkte sich die Knochenbildung bei den porösen Formen auf das Auffüllen der vorgegebenen Hohlräume, soweit diese von der Oberfläche aus zugänglich waren, was auch von anderen Autoren beschrieben wird (Schenk R, 1991). Ein wesentlicher Parameter für die Zellverteilung und das Knochenwachstum im Implantat (Osteokonduktion) ist einerseits der Porendurchmesser des Implantats, andererseits die Qualität des Lagerknochens. Um die Aktivierung der Knochenneubildung zu nutzen, sollten die bestehenden Verbindungswege weit genug sein, um den einsprossenden Gefäßen und Zellen ein ungehindertes Vordringen zu gestatten. Bindegewebige Strukturen brauchen zum Einwachsen Porendurchmesser von 5-15 μm und mineralisiertes Knochengewebe 100 μm . Osteonähnliche Strukturen benötigen entsprechend der natürlich im Knochen vorkommenden Kanäle Porendurchmesser von mehr als 200 μm (Schenk R, 1991). Die Porengröße der Scaffolds wurde von der Firma nicht angegeben, jedoch waren die Poren makroskopisch sichtbar (Abb. 3) und größer als im nativen trabekulärem Knochen. In dieser Studie bestand somit die Möglichkeit, dass alle bereits erwähnten Strukturen in die Poren einwachsen konnten.

Laut Karageorgiou und Mitarbeitern wirken synthetische Scaffolds mit einer hohen Porosität und Porengröße osteoinduktiv und beschleunigen zusätzlich die Zellproliferation (Karageorgiou et al., 2005). Die Notwendigkeit der Makroarchitektur, die eine Penetration, Anhaftung und Proliferation der Zellen erlaubt und zusätzlich eine hohe Porosität und Porengröße im Scaffold aufweist, ist erkannt, jedoch sind Fragen bezüglich der Verbindungen noch offen (Guo X et al., 2004). Ob die verschiedenen Heilungsergebnisse in der eigenen

Studie von der unterschiedlichen Porengröße, Porosität oder Steifigkeit abhängen, konnte im Rahmen dieser Studie nicht geklärt werden, da diese drei Faktoren in den Scaffolds gekoppelt sind. Der Polylaktidglykolid-Scaffold diente als Leitgerüst, an der sich die Zellen ausrichten und in den Defekt einwandern konnten. Die in dieser Studie verwendeten Implantate wiesen somit diese positiven Eigenschaften auf, die die Literatur für solcherlei Implantate fordert.

Das gesetzte Trauma im Knorpel- und Knochenbereich hat eine Entzündung zur Folge, so dass Entzündungszellen angelockt (Winet H, 1996) und Wachstumsfaktoren freigesetzt werden (Aspenberg P et al., 1996) und diese die Angiogenese stimulieren (Cunningham N et al., 1992). Zusätzlich steht die Gefäßantwort im Zusammenhang mit einer Entzündung, die sich entwickelt, wenn die synthetischen Scaffolds zu schnell abgebaut werden. Scaffolds, die zu schnell degradieren, zeigen eine geringere Anzahl von Muskelzellen der Gefäßwand und eine geringere Gefäßanzahl (Sung H et al., 2004). Diese geringe Gefäßanzahl wurde auch in dieser Studie beobachtet. In Bezug auf die Gefäßanzahl wurde im Defekt kein signifikanter Unterschied zwischen der PW- und der PH-Gruppe beobachtet, obwohl die Degradation der Scaffolds der PW-Gruppe schneller erfolgte als bei der PH-Gruppe. Die Implantate waren jedoch nach 12 Wochen noch nicht vollständig abgebaut. Die Scaffolds der PW-Gruppe waren zur Hälfte und die der PH-Gruppe nur zu einem Drittel degradiert. Die niedrige Gefäßanzahl steht einerseits im Zusammenhang mit dem Abfall des pH-Wertes und andererseits mit der noch nicht vorhandenen oder schon abgeklungenen Entzündung.

Bei den Scaffold-Gruppen wurden keine Entzündungsreaktionen beobachtet, so dass vermutlich die Degradation der synthetischen Scaffolds reaktionsarm bzw. nicht zu schnell erfolgte. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass in einer späteren Heilungsphase, Entzündungsreaktionen auftreten, die sich nach 12 Wochen noch nicht entwickeln konnten. Entzündliche Reaktionen treten umso häufiger auf, je schneller das Material degradiert, je größer die Materialoberfläche, je kristalliner das Polymer und je schlechter die lokale Durchblutung ist (Claes L et al., 2002). Bei der Verwendung langsam degradierbarer Materialien, wie z.B. des PLAs, kommt es zu einer langsam protrahierten Freisetzung von Abbauprodukten und diese können mit Hilfe von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen aus dem Implantatlager entfernt werden (Hoffmann R et al., 1997). Die Scaffolds befanden sich in der dritten Degradationsstufe, die überwiegend aus der Autolyse des Polymers (Pistner H et al., 1993; Pistner H et al., 1993; Pistner H et al., 1994) mit milden bis moderaten histologische Reaktionen unter Auftreten von Fremdkörperriesenzellen besteht.

Fremdkörperriesenzellen nehmen kleine Polymerbruchstücke auf und lösen diese vollständig auf (Helling H et al., 1998). In dieser Studie wurden Fremdkörperriesenzellen im direkten Kontakt der Implantate zum Knochen beobachtet, die teilweise auch Scaffoldpartikel inkorporiert hatten (Abb. 18).

Die Resorbierbarkeit der Knochenersatzstoffe muss durch Osteoklasten gewährleistet sein und sollte im zeitlichen Verlauf möglichst der Knochenresorption entsprechen. Abweichungen davon stellen das durch die Kopplung von Resorption und Formation in den Umbaueinheiten gewährleistete Gleichgewicht in Frage. Werden die Scaffolds zu schnell resorbiert, so wird einerseits in der Umbauphase die Integrität des Leitgerüsts gefährdet (Schenk R, 1991) und andererseits wird, bezüglich der starken Anhäufung der Abbauprodukte, die osteogenetische Phase der Einheilung beeinträchtigt. Diese Einheilungsphase kann nur gewährleistet werden, wenn eine Immunogenfreiheit und keine überstürzte Biodegradation der Materialien besteht. Die Einheilung ist beeinträchtigt, wenn zu viele Makrophagen und Riesenzenen an der Oberfläche und in den Zwischenräumen des Implantats zu finden sind (Mittelmeier H et al., 1991). In dieser Studie war nach 12 Wochen die Einheilung noch nicht abgeschlossen, da die synthetischen Scaffolds beider Gruppen protrahierend freigesetzt wurden. Somit kann die Einheilung zu diesem Zeitpunkt nicht beurteilt werden. Es wurden Makrophagen und Riesenzenen zwischen Implantat und Knochengewebe gefunden, was darauf schließen lässt, dass die Degradation der Scaffolds noch nicht abgeschlossen ist.

Makrophagen und Riesenzenen werden durch inkorporierte Partikel aktiviert und führen zur Ausschüttung von Mediatoren, die Osteoklasten rekrutieren bzw. die Osteoklastenaktivität steigern und somit eine Knochenresorption verursachen (Murray D et al., 1990; Hoffmann R et al., 1998). In der vorliegenden Studie wurde vermutlich durch die inkorporierten Partikel die Osteoklasten rekrutiert, so dass bei der PW-Gruppe, die weniger Scaffoldreste aufzeigte, tendenziell mehr Osteoklasten beobachtet wurden als bei der PH-Gruppe. Laut Schenk erweitern Osteoklasten und Makrophagen bestehende Lücken in den interporösen Septen der Scaffolds und durchbrechen geschlossene Trennwände, um das Implantat von außen nach innen immer mehr zu resorbieren. Es ist wichtig, dass die Resorptionsvorgänge der Osteoklasten bereits in den ersten postoperativen Monaten in Gang kommt, d.h., in der Periode, in der die durch den Eingriff ausgelöste Aktivierung der Knochenbildung am intensivsten ist. Die Resorbierbarkeit eines Ersatzstoffes muss derjenigen des

Knochengewebes möglichst angeglichen sein, wenn ein Einbruch des Leitgerüsts oder dessen Persistenz vermieden werden soll (Schenk R, 1991).

Die Degradationsgeschwindigkeit der Scaffolds ist ausschlaggebend für den Reparaturprozess. Die PW-Gruppe die im Vergleich zur PH-Gruppe durch ihre hohe Porosität eine größere Oberfläche besaß, konnte eine größere Menge Wasser binden und wurde deshalb schneller degradiert. Diese Tatsache wurde auch von Lu und Mitarbeitern beschrieben (Lu L et al., 1999). Die PW-Gruppe, die makroskopisch weniger Scaffoldreste aufwies, zeigte keine geschlossene subchondrale Lamelle und bildete auch keinen vollständigen Knorpelüberzug über dem Defekt. Im Gegensatz dazu zeigte die PH-Gruppe bei der Hälfte der Präparate eine ununterbrochene subchondrale Lamelle und bei vier Präparaten war ein vollständiger Knorpelüberzug nachzuweisen. Die Scaffolds der PH-Gruppe, die nur eine langsame Degradation aufzeigten, hemmten vermutlich die Knochenbildung am Defektgrund. Beide Scaffold-Gruppen zeigten im Defektbereich eine enchondrale Knochenbildung (Abb. 13). Diese enchondrale Ossifikation ist vermutlich auf die mechanische Instabilität zurückzuführen. Bei einer mechanisch instabilen Fraktur differenzieren sich die mesenchymalen Stammzellen zu Knorpel. Die Heilung führt stetig zur mechanischen Stabilität und zum Wechsel des Knorpels. Die Chondrozyten hypertrophieren, und das gebildete Knorpelgewebe wird zerstört und mittels Osteoblasten durch Knochengewebe ersetzt (Caplan A, 1990). Ein weiterer Grund für einen hohen Kollagen II Anteil könnte durch die mittelgradige Lahmheit bedingt sein, die in den ersten Tagen nach der Operation bei den Tieren der Scaffold-Gruppen auftrat. Aufgrund der Fehlbelastungen kann es zu vermehrter Knorpelbildung kommen. Durch das initiale Trauma und die dadurch resultierenden veränderten Druckbelastungen zeigen sich degenerativen Veränderungen im Knorpelbereich. Die Chondrozyten degenerieren und versuchen durch verstärkte unkontrollierte Proliferation den Schaden zu kompensieren. Diese vermehrte Mitoserate führt zu einer vermehrten Chondrozytenanzahl, die auch mehr Matrixproteine synthetisieren und somit zu einer Verdickung des Knorpels (Brittberg M et al., 1996; Martin J et al., 1996). Vermutlich führte in dieser Studie die mechanische Instabilität zwischen Implantat und Lagergewebe, das Trauma und die Fehlbelastungen zu einem größeren Kollagen II Anteil. Der Kollagen II Anteil war bei den beiden Scaffold-Gruppen tendenziell höher als bei den anderen Operationsmethoden. Jedoch befand sich der Knorpel nicht nur auf Gelenkflächenniveau, sondern auch innerhalb des Defektes.

Eine Kollagen II angefärbte Schicht hatte sich mit dem angrenzenden Knorpel verbunden und formte eine nahezu glatte Gelenkoberfläche. Die PH-Gruppe zeigte tendenziell eine bessere Verbindung zum angrenzenden gesunden Knorpel. Vermutlich war der Verbund auf beiden angrenzenden Knorpelseiten dadurch gegeben, dass eine bessere Formstabilität von den Scaffolds mit 84%iger Steifigkeit ausging. Das Implantat hat vermutlich die intermittierenden Druckbelastungen besser an die eingewanderten Zellen weitergeben. Die Implantate müssen so stabil sein, dass eine Vollbelastung nach der Operation ausführbar ist und so die eingewanderten Zellen gleich zu Beginn physikalische Stimuli erfahren und somit die Differenzierung zu Chondrozyten hervorgerufen wird. Vermutlich waren die Scaffolds mit 58%iger Steifigkeit zu weich, so dass einerseits der eingebrachte Scaffold unter Druck nachgegeben hat und somit die mesenchymalen Zellen sich nicht zu Chondrozyten differenzieren konnten und andererseits die Belastung nur auf dem umgebenen Knorpel lag. Vermutlich konnte dadurch nur ein teilweiser Verbund zwischen neu gebildeten und umliegenden Knorpel entstehen. Bei einer zu geringen Flexibilität der Scaffolds können Belastungen zu unphysiologischen Drücken führen, die das angrenzende Gewebe schädigen und die Reparatur stören. Dieses war hier jedoch nicht der Fall.

Bei einer vergleichbaren Studie, die Polylaktide als Trägermaterial verwendeten, wurde berichtet, dass in fast jedem Präparat noch Polylaktidreste vorhanden waren (von Schroeder H et al., 1991). In von Schroeders Studie wurden 3,7 x 5 mm gebohrte Defekte im Kaninchenknie mit Polylaktid und einem Periostlappen versorgt. Nach einer Standzeit von 12 Wochen konnte von einer guten Reparatur mit annähernd hyalinem Knorpelgewebe in allen Defekten berichtet werden, unabhängig davon, ob die Defekte mit Polylaktid oder Polylaktid und dem Periostlappen aufgefüllt wurden. An den Kontaktstellen zum Empfängerknorpel erscheint das Reparationsgewebe hyalin-ähnlich, was auf die Wachstumsfaktoren zurückzuführen ist (Freed L et al., 1994). Diese Ergebnisse ließen sich auch in dieser Studie bestätigen.

In dieser Studie wurden zwischen den beiden Scaffold-Gruppen Unterschiede im Degradationsverhalten und in der Knochen- und Knorpelneubildung beobachtet, jedoch ob dieses von der Masse, Steifigkeit oder der Porosität der Scaffolds abhängt konnte nicht festgestellt werden, da diese drei Komponenten in den Scaffolds kombiniert sind. Vermutlich sind die geringgradig besseren Regenerationsergebnisse bei den PH-Scaffolds im Vergleich zu den PW-Scaffolds auf die unterschiedliche Steifigkeit der Implantate zurückzuführen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Polylaktidglykolid-Scaffolds nach 12 Wochen aufgrund der strukturellen Biokompatibilität und der Biodegradierbarkeit einen vielversprechenden Ansatz für die Auffüllung osteochondraler Defekte darstellen und scheinen der Spontanheilung sowie der SC-Operationsmethode überlegen zu sein.

5.2.4 Leerdefekte

Große unbehandelte Knorpelverletzungen haben die Möglichkeit einer teilweisen Selbstheilung, allerdings besteht dieses Reparationsgewebe aus fibrösem Knorpel, der gewöhnlich mechanisch ungenügend ist (Shapiro F et al., 1993). Andere Autoren berichten, dass leer belassene osteochondrale Defekte bei adulten Tieren (Messner K et al., 1993) nicht vollständig ausheilen (Convery F et al., 1972; Jackson D et al., 2001; Gotterbarm T et al., 2003) und dass die Spontanheilung eine unvollständige, unregelmäßige und inkongruente Oberfläche zur Folge hat (Convery F et al., 1972; Shahgaldi B et al., 1991; Shapiro F et al., 1993; van Dyk G et al., 1998). Diese Tatsachen konnten auch in dieser Studie bestätigt werden. Die Ergebnisse zeigten unregelmäßige, aufgefaserte und inkongruente Oberflächen. Lediglich bei vier Präparaten von 24 war eine kongruente Gelenkoberfläche zu beobachten. Die mangelhafte Heilung der Leerdefekte ist zurückzuführen auf ein fehlendes Fundament von subchondralem Knochen oder anderem Gewebe, als auch von keiner bzw. nur einer teilweisen Verbindung zur angrenzenden Gelenkfläche (Convery F et al., 1972; Shahgaldi B et al., 1991; Shapiro F et al., 1993).

Im Rahmen der operativen Reparationsanregung wird der subchondrale Knochen penetriert, um die Vaskularisationszone zu erreichen und die Bildung eines Fibrinpfropfes hervorzurufen, der die gewünschten pluripotenten Stammzellen enthält (Hunziker E et al., 1996). Die Stammzellen proliferieren und differenzieren sich zu Osteoblasten an der Basis des Defektes und zu Chondroblasten im gelenksnahen Bereich des Schadens (Messner K, 1999). Der Fibrinpfropf zeigt eine innige Verbindung mit den Wundrändern im Knochenbereich, jedoch keinen Kontakt zum angrenzenden Knorpel (Shapiro F et al., 1993). Nach 2-3 Wochen wächst fibrocartilaginäres Gewebe in den Defekt ein. Gomar-Sancho und Mitarbeiter berichteten, dass nach 8 Wochen die Knochenneubildung innerhalb des Defektes abgeschlossen ist (Gomar-Sancho F et al., 1987). Laut van Dyk ist der größte Teil des Defektes nach 12 Wochen mit Knochen aufgefüllt. Das Knochenremodeling ist in der Nähe der Gelenkoberfläche herabgesetzt (van Dyk G et al., 1998). Nach 12 Wochen war der

gesetzte Defekt in dieser Studie bei 22 Tieren von 24 noch sichtbar. Es gab jedoch große Unterschiede in der Heilung, da sowohl Präparate vorhanden waren, die dem ursprünglich gebohrten Defekt entsprachen (3 Präparate), als auch Präparate die überwiegend mit Bindegewebe aufgefüllt waren (19 Präparate), sowie auch zwei Präparate, die knöchern bis auf das Niveau aufgefüllt waren. Der Kollagen I Anteil in den Leerdefekten gleicht dem der nativen Kondyle, obwohl bei dem größten Teil der Präparate lediglich Bindegewebe im Defektbereich nachgewiesen wurde. Das liegt darin begründet, dass die Spongiosabälkchen im Randbereich des Defektes nahezu bei allen Präparaten verdickt und die Lumina verengt waren und dieses zu einer Dichtezunahme in diesem Bereich geführt hat. Die bindegewebige Auffüllung und die unterschiedlichen Auffüllungsgrade sind vermutlich auf die Belastungssituation zurückzuführen. Die Schafe konnten unmittelbar nach der Operation die operierte Extremität belasten, nur ab wann und in welchem Umfang die Tiere belastet haben, ist nicht nachvollziehbar. Laut Nehrer ist die entlastende Mobilisation des Gelenkes, um die Reifung der Knorpelnarbe nicht zu gefährden, ausschlaggebend für die Spontanheilung (Nehrer S, 2003). Ein Versagen von Belastung bei passiver Bewegung verändert das Ausmaß des Reparationsprozesses (Jackson D et al., 2001). Die Leerdefekte waren vermutlich nur mit Bindegewebe aufgefüllt, da der mechanische Druck nicht im Bereich des eigentlichen Defektes ausgeübt wurde und somit sich die Stammzellen nicht zu Osteoblasten differenzieren konnten. Andererseits stand der Defekt im direkten Kontakt mit der Synovia, die den Fibrinpfropf ausgespült haben könnte.

Undifferenzierte Mesenchymzellen und Blutgefäße wandern vom Knochenmark aus in die Peripherie. Der Fibrinpfropf dient mit seinem Netzwerk als Leitschiene für die Zellen. In der Tiefe des Defektes enthält das Knochenmark viele aktive Osteoblasten, die den Geflechtknochen bilden. Das Einwandern von Kapillargefäßen aus dem Knochenmark dauert an (Shapiro F et al., 1993). Durch die Vaskularisation kommt der Zellaustausch für den Knochenaufbau zustande (Weiland A et al., 1983). In der eigenen Studie wurden tendenziell mehr Gefäße im Leerdefekt beobachtet als in den aufgefüllten Defekten. Vermutlich bietet zum einen das Fibrinnetzwerk der Leerdefekte eine bessere Leitschienenfunktion für die Gefäße als die OCT-, die SC-, und die Scaffold-Gruppen. Zum anderen hat das gesetzte Trauma im Knorpel- und Knochenbereich eine Entzündung zur Folge, so dass Entzündungszellen angelockt (Winet H, 1996) und Wachstumsfaktoren freigesetzt wurden (Aspenberg P et al., 1996). Diese Wachstumsfaktoren stimulieren die Angiogenese (Cunningham N et al., 1992). Aus diesen Gründen wurden möglicherweise deutlich mehr

Gefäße in den Leerdefekten beobachtet als bei den nativen Kondylen. Nach 12 Wochen wurde bei den Leerdefekten vereinzelt Entzündungsreaktionen beobachtet. Die Entzündung kann aber schon abgeklungen sein, oder die Entzündungszellen wurden durch die Synovia aus dem Defekt gespült. Der Defektbereich war ständig von der Synovia umgeben.

Untersuchungen von Shapiro und Mitarbeitern ergaben, dass nach drei bis sechs Monaten vereinzelt die subchondrale Knochenplatte unvollständig rekonstruiert war, die Chondrozytenschicht gut entwickelt und die Tidemark vorhanden war. Der Defekt war 3 mm groß und befand sich im patellaren Gleitlager der Kaninchen (Shapiro F et al., 1993). Wei und Messner berichteten im Gegensatz dazu, dass keine vollständige Wiederherstellung der subchondralen Knochenplatte bei adulten Kaninchen stattgefunden hatte, obwohl der osteochondrale Defekt auch 3 mm im Durchmesser war, sich aber auf der medialen Femurkondyle befand (Wei X et al., 1997). In der eigenen Untersuchung wurde nur bei zwei Präparaten eine Wiederherstellung der subchondralen Knochenplatte beobachtet. In den Randbereichen waren die Trabekel verdickt, was eine Knochenregeneration von den seitlichen Defekträndern vermuten lässt. Im Gegensatz dazu berichtet Shapiro und Mitarbeiter von einer Knochenneubildung, die von dem tief liegenden knöchernen Bereich des Defektes ausgeht (Shapiro F et al., 1993). Der Defekt war allerdings bei Shapiro mit 3 mm kleiner als in der eigenen Studie mit einem Durchmesser von 8,3 mm. Hunziker berichtet, dass die Knochenregeneration sowohl von den Defekträndern, als auch von der Defektbasis ausgeht (Hunziker E, 1999). Vorherige Studien berichten in Bezug auf die Knorpelheilung, dass eine vollständige Rekonstruktion der subchondralen Lamelle nach einem großen osteochondralen Defekt in adulten Tieren nicht eher als sechs Monate nach der Operation erfolgt (Rubak, 1982; Messner, 1993). Van Dyk berichtet, dass nach 24 Wochen bei unbehandelten Defekten weder die Tidemark, noch die subchondrale Lamelle sich entwickelt hat. Eine fibroartilarginäre Oberfläche wurde innerhalb von 24 Wochen nicht gebildet. Während dieser Zeit gab es auch keine positive Anfärbung mit Safranin-Orange. Eine Oberflächenkongruität kam bei dieser Studie im Leerdefekt nicht vor (van Dyk G et al., 1998). Im Gegensatz dazu gab es in der eigenen Studie vier Präparate, die eine kongruente Gelenkoberfläche gebildet haben. Mit Ausnahme von drei Präparaten konnte eine positive Safranin-Orange Anfärbung beobachtet werden.

Gomar-Sancho und Mitarbeiter zeigen in ihrer Studie, dass der Gelenkknorpel durch fibroartilarginären Knorpel ersetzt wurde. Dieser Ersatzknorpel degradiert und im

angrenzenden Knorpel bilden sich Chondrozytencluster (Gomar-Sancho F et al., 1987). Die spontane Heilung von Knorpeldefekten, die den unterliegenden Knochen penetrieren, zeigen oft Zeichen der Degeneration: 3 Monate nach dem Eingriff und nach 6-12 Monaten sinkt die Regeneratoberfläche ein und splittert auf (Shapiro F et al., 1993; Marlovits S et al., 2000). Degeneration und mechanische Insuffizienz des Reparaturgewebes führen zu chronischen Schmerzen im Gelenk mit synovialen Reizzustand. In den Randbereichen der Oberfläche zeigte sich nach 12 Wochen opakes weises Gewebe. Das Reparaturgewebe zeigte keine Safranin-Orange Anfärbung (van Dyk G et al., 1998). In der eigenen Studie waren die Präparate mit vorhandenem Knorpelgewebe Safranin-Orange positiv, was für eine Vorhandensein von sauren Mukopolysacchariden im neugebildeten Gewebe und damit für die Bildung von hyalinartigem Knorpel spricht. Der Kollagen II Anteil wies im Leerdefekt einen höheren prozentualen Wert auf als in den nativen Kondylen, jedoch befand sich der Knorpel nicht nur über dem Defekt, sondern auch innerhalb des Defektes. Der Knorpel war entweder nur im Randbereich zu finden, oder zog von den Randbereichen des Defektes entlang der gebildeten subchondralen Lamelle in die Tiefe. Dieses Einfließen von hyalinartigem Knorpel über die Ränder des Defektes, was auch als cartilage flow bezeichnet wird wurde bereits in der Literatur beschrieben (Bruns J et al., 1997; Calandruccio R et al., 1962; Ghadially J et al., 1975). In der eigenen Studie wurde bei 17 von 24 Präparaten dieses Phänomen beobachtet. Diese Tatsache ist auf die Belastungssituation der Gelenkoberfläche und auf die Nichtauffüllung der Defekte zurückzuführen. Der Kollagen II Anteil dient als Nachweis für die erfolgreiche Umwandlung der Stammzellen zu Chondrozyten. Bei einem Drittel der Leerdefekte war im Defektbereich eine verlängerte Präsenz des Knorpels mit enchondraler Knochenbildung zu beobachten (Abb. 14). Diese enchondrale Ossifikation ist vermutlich auf die mechanische Instabilität zurückzuführen. Gleich einer mechanisch instabilen Fraktur mit Spalt differenzieren sich die mesenchymalen Stammzellen zu Knorpel (Caplan A, 1990) und somit konnte eine sekundäre Knochenheilung nicht stattfinden, was auch in anderen Studien berichtet wurde (Caplan A, 1990; Schenk R, 1991). Die Heilung führt stetig zur mechanischen Stabilität und zum Wechsel des Knorpels. Die Chondrozyten hypertrophieren und das gebildete Knorpelgewebe wird zerstört und mittels Osteoblasten durch Knochengewebe ersetzt (Caplan A, 1990).

Die Spontanheilung des osteochondralen Defektes zeigte nach 12 Wochen eine unvollständige und verzögerte Regeneration. Es fehlte die strukturelle Stabilität und es zeigten sich Schädigungen im angrenzenden Gewebe. Bei kleinen osteochondralen Defekten

ist eine Therapie nicht angezeigt, da sich dort schnell knorpeliges Ersatzgewebe bildet und diese Defekte meist asymptomatisch verlaufen. Bei größeren osteochondralen Defekten, wie sie in dieser Studie gesetzt wurden ist eine operative Behandlung für einen schnellen Heilungserfolg notwendig.

5.3 Schlussfolgerung

Eine nahezu vollständig fehlende Stabilität der subchondralen Knochenplatte, wie es bei den Leerdefekten und SC-Gruppe gegeben ist, führte zu den schlechtesten Heilungsergebnissen. Dieses lässt vermuten, dass die strukturelle Stabilität eine Grundvoraussetzung für die Bildung eines hyalinähnlichen Knorpelregenerats ist. Die Einheilung von Knorpel-Knochenzylindern verläuft im Allgemeinen ohne Komplikationen, so dass zusätzliche Operationen nicht notwendig werden. Aus diesem Grund lässt sich das gewebliche Schicksal des transplantierten Knorpels im Patienten nicht überprüfen (Störig E, 1972). Die OCT-Operationsmethode zeigte in dieser Studie eine sehr gute Knochenintegration zwischen Zylinder- und Lagergewebe, aber keine Randzonenintegration im Knorpelbereich. Nach zwölf Wochen waren im Knorpel leichte Degenerationsanzeichen zu beobachten. Andere Studien berichtet, dass eine unvollständige Verbindung des Transplantats mit dem angrenzenden Knorpel zu Irritationen und Schäden im umliegenden Knorpel führen (Messner K, 1999). Um Aussagen über die Belastungsfähigkeit der Implantate und positive Erfolge bezüglich des gesamten Gelenkes zu erlangen, müssten längere Beobachtungszeiträume gewählt werden, die mittel- und auch langfristige Ergebnisse liefern können. Das in anderen Studien beobachtete Fortschreiten der Degeneration der Gelenkoberfläche bei der OCT-Gruppe bleibt in dieser Studie unberücksichtigt. Die SC-Operationsmethode stellte eine kongruente Gelenkfläche her, aber nach 12 Wochen war die Regeneration mangelhaft. Verantwortlich ist vermutlich die fehlende knöcherne Integration in dieser Gruppe. Zunächst musste der eingebrachte Knochen resorbiert werden, bevor sich neuer bilden konnte. Diese Präparate zeigten keine strukturelle Stabilität und ein schlechtes Knorpelregenerat. Die Ergebnisse der Leerdefekte waren mit denen der SC-Gruppe vergleichbar. Es fehlte die strukturelle Stabilität, es zeigten sich Schädigungen des angrenzenden Gewebes, aber es mussten keine Spongiosachips abgebaut werden, was eine Heilung verzögern könnte. Bei den Scaffold-Gruppen ist positiv zu vermerken, dass sich nach 12 Wochen bei fast allen Präparaten die subchondrale Lamelle rekonstruiert hat. Diese initiale Stabilität fördert zunächst die Heilung. Jedoch wurde durch die lange Persistenz der Implantate die knöcherne Wiederherstellung im Defekt verhindert.

Bei fast allen Präparaten wurde eine Randzonenintegration zwischen neu gebildetem Knorpel und angrenzendem Knorpel beobachtet. Zwischen den beiden Scaffold-Gruppen wurden Unterschiede im Degradationsverhalten, in der Knochen- und Knorpelneubildung beobachtet, ob dieses jedoch von der Masse, Steifigkeit oder der Porosität der Scaffolds abhängt, konnte nicht festgestellt werden, da diese drei Komponenten in den Scaffolds kombiniert sind.

Frische, autologe Knorpel-Knochenzylinder stellen bis jetzt das effektivste und erfolgreichste Transplantat dar, an dem sich andere Knochenersatzmaterialien messen lassen müssen.