

1 Einleitung

1.1 Das Gelenk

1.1.1 Die Anatomie

Ein Gelenk ist die bewegliche Verbindungsstelle zwischen zwei knöchernen Skelettelementen. Die beiden Knochen sind mit hyalinem Knorpel überzogen, eingefasst ist das Ganze mit der Membrana synovialis, einer Bindegewebshaut, die stützende, ernährende und immunologische Funktionen hat. Im Gelenkspalt ist die Synovia, die Gelenkschmiere, die von der Membrana synovialis gebildet wird, und eine fadenziehende Flüssigkeit mit Fetttropfchen, Eiweiß, Hyaluronsäure und Zelltrümmern darstellt.

Im Kniegelenk, das in dieser Doktorarbeit untersucht wurde, kommen als zusätzliche funktionelle Elemente noch die intraartikulären Menisken, die extraartikulären Kreuzbänder zur Gelenkstabilisation und die ventrale Patella als Hypomochlion hinzu. Die Menisken sind keilförmige Strukturen, die aus straffem kollagenfaserigem Bindegewebe bestehen und die Inkongruenz der stark gerundeten Femurkondylen zum flachen Tibiaplateau ausgleichen.

1.2 Der Gelenkknorpel

1.2.1 Histologischer und biochemischer Aufbau

Hyaliner Knorpel besteht aus extrazellulärer Matrix (EZM) und Chondrozyten, die diese EZM produzieren. Diese EZM macht den Hauptanteil des Gewebes aus. Sie enthält zu 60-70% Wasser; die Trockensubstanz setzt sich zu je 40-50 % aus Glykanen und Kollagen und zu 10% aus Mineralien zusammen. Glykane bestehen aus Hyaluronsäure, einem langen, unverzweigten, aus Disacchariden zusammengesetzten Makromolekül, und Proteoglykanen. Proteoglykane, von denen das häufigste Aggrecan ist, bestehen aus einem zentralen Protein, von dem zahlreiche unverzweigte Glykosaminglykanketten (Chondroitinsulfat und Keratansulfat) ausgehen. Die negativen Ladungen der Glykosaminseitenketten ermöglichen die Bindung von vielen Wassermolekülen, die für die Druckelastizität und Plastizität des Knorpels unter konstanter Krafteinwirkung ausschlaggebend ist.

Die Kollagenfasern sind halbkreisförmig im Knorpel ausgerichtet, so dass sie im Querschnitt wie ein Regenbogen auf dem Knochen liegen. Entsprechend ist die Organisation der Knorpelzellen. Sie sind knochennah rund und in Säulen angeordnet, zur Oberfläche hin werden sie immer flacher und liegen parallel zu dieser. Dadurch kann man 4 Zonen (Abb. 7, Seite 22) unterscheiden. Die Zone I (Tangentialfaserzone) ist die oberflächliche, in der die Zellen flach liegen. Sie wird unter Belastung als erstes sichtbar angegriffen, die tangentialen Knorpelfasern werden demaskiert, was zu dem für Arthrose typischen Fibrillenmuster führt. In der Zone II (Übergangszone) kreuzen sich die Kollagenfasern, wodurch die Zellen eine uneinheitliche Ausrichtung haben. In der Zone III (Radiärzone) findet man die typische Anordnung der Chondrone, Knorpelzellnester, in Säulenstruktur. Die IV. Zone (Mineralisierungszone) ist durch eine Grenzlinie, die sogenannte Tidemark, abgegrenzt. Sie stellt die Verbindung zum Knochen dar und enthält mehr Kalziumphosphatkristalle. In der Kindheit findet hier das gelenknahe Wachstum des Knochens statt (Drenckhahn 1994).

1.2.2 Wachstum und Stoffwechsel

Der Knorpel wächst auf zwei Arten, durch interstitielles und appositionelles Wachstum. Ersteres geschieht durch mitotische Teilung von Chondrozyten, letzteres durch die Differenzierung von Zellen aus den perichondralen Zellen. Das interstitielle Wachstum erfolgt nur in der frühen Wachstumsphase, während das appositionelle Wachstum aus den umliegenden Zellen immer stattfinden kann, in dem diese zu Chondroblasten differenzieren.

Die Chondrone sind die funktionelle Baueinheit des Knorpels und bestehen aus einem Knorpelzellnest und der umgebenden fibrillenfreien, perizellulären Matrix. In den Chondrozyten wird der Knorpelstoffwechsel geregelt. Die Aktivität erkennt man besonders gut, an dem mehr oder weniger ausgeprägten rauen endoplasmatischen Reticulum (RER) und dem Golgi-Apparat. Dort findet die Produktion aller ausgeschleusten Stoffe statt. Neben der Grundsubstanz zählen auch die abbauenden Enzyme, Metallproteinasen, wie Stromelysin, Kollagenasen und Gelatinase, die alle Komponenten der extrazellulären Matrix bei normalem pH abbauen können, dazu. Die aktuelle Aktivität der neutralen Metallproteinasen resultiert aus dem Gleichgewicht zwischen Aktivierung der latenten Form dieser

Enzyme und der Hemmung der Aktivität durch Proteinaseinhibitoren des Knorpelgewebes und seiner EZM.

Der Umsatz des Knorpels wird durch die abbauende Kaskade bestimmt, wobei vermutlich Interleukin-1 (IL-1), einem von mononukleären Zellen (einschließlich Synovialdeckzellen) produzierten, aber auch von den Chondrozyten synthetisierten Zytokin, eine zentrale Rolle zukommt. Es gibt zwei Isoformen, IL-1 α und IL-1 β , die beide eine ähnliche biologische Aktivität zeigen. IL-1 stimuliert die Synthese und Sekretion der latenten Kollagenasen, d.h. des latenten Stromelysins, der latenten Gelatinase und des Gewebeplasminogenaktivators. Plasminogen, das Substrat für das letztgenannte Enzym, kann vom Chondrozyten produziert werden, kann aber auch durch Diffusion aus der Synovialflüssigkeit in den Knorpel eindringen. Zusätzlich zu seinen katabolen Wirkungen kann IL-1 die Proteoglykansynthese der Chondrozyten unterdrücken und somit den Aufbau der Matrix hemmen, wozu niedrigere Konzentrationen als die für den Abbau erforderlich sind.

Das Gleichgewicht zwischen Aufbau und Abbau wird u.a. durch zwei Inhibitoren, einen Gewebeinhibitor der Metallproteinase (TIMP) und dem Plasminogenaktivatorinhibitor 1 (PAI-1) aufrechterhalten, die ebenfalls von den Chondrozyten synthetisiert werden. Eine zu geringe Konzentration oder verminderte Aktivität dieser beiden Inhibitoren führt zu ungehinderter Aktivität von Stromelysin und Plasmin und damit zum Knorpelabbau.

Polypeptidmediatoren, wie z.B. der Insulin-like-growth factor 1 (IGF-1) und der Transforming growth factor β (TGF β) stimulieren die Biosynthese der Proteoglykane. Sie regulieren den Stoffwechsel der Matrix im gesunden Knorpel und spielen möglicherweise auch bei der Matrixreparatur bei Arthrose eine Rolle. Auffallend ist, dass diese Wachstumsfaktoren sowohl die anabolen als auch die katabolen Stoffwechselprozesse des Chondrozyten beeinflussen; sie erhöhen nicht nur die Proteoglykansynthese, sondern vermindern auch den Abbau der Proteoglykane durch die Herabregulierung der Chondrozytenrezeptoren für IL-1. Bislang ist nicht bekannt, ob mit zunehmendem Alter die Matrixkonzentrationen des IGF-1 oder TGF β abnehmen oder das Ansprechen auf diese Mediatoren geringer wird. Der Chondrozytenstoffwechsel wird auch durch Belastung reguliert, wobei eine statische oder chronische Last sich negativ auswirkt und eine kurze, dynamische Belastung von positivem Einfluss ist (Schmailzl 1995).

1.3 Arthrose (Arthrosis deformans)

Unter Arthrose versteht man eine systemische Erkrankung des Gelenkknorpels, welche mit Umbildung des gelenknahen Knochens einhergeht und Schmerzen, Schwellung, Bewegungseinschränkung und eine Deformierung der Gelenke verursacht. Die Arthrose gehört zu den degenerativen Gelenkerkrankungen. Man unterscheidet zwischen primärer, idiopathischer Arthrose und sekundärer Arthrose aufgrund von traumatischen, kongenitalen, metabolischen, endokrinen und anderen Ursachen. Es bestehen epidemiologische Unterschiede und verschiedene Risikofaktoren, wie weibliches Geschlecht, höheres Alter, übermäßige Belastung, ausgeprägte Adipositas, zu 39-65% spielen erbliche Faktoren eine Rolle (Spector, Cicuttini et al. 1996). Die genaue Ursache für die primäre Arthrose ist nicht bekannt. Der Umfang der Gelenkzerstörung korreliert nicht immer mit den Schmerzen: „Röntgenologische Veränderungen finden sich bei 70% der über 65 jährigen, gehen jedoch nur bei etwa 30% mit Beschwerden einher.“ (Arznei-Telegramm 1996)



Abbildung 1: Heberdenknoten an den distalen Interphalangealgelenken
(medicine-worldwide.de/arthrose)

In der Studie von Bellamy et al. (Bellamy, Kirwan et al. 1997) einigte man sich auf vier Faktoren, die die Diagnose von Arthrose sichern: Schmerzen, eingeschränkte Beweglichkeit, systemischer Befall und, bei einer Dauer von mehr als einem Jahr, typische radiologische Veränderungen.

Typische Röntgenbefunde der Arthrose:

- Verschmälerung des Gelenkspaltes
(1. radiologisch fassbares Zeichen)
- osteophytäre Randanbauten
- subchondrale Sklerosierungen
- Geröllzysten
- Subluxation, Deviation

Röntgenzeichen an Fingergelenken:
Heberden-Knoten (distales Interphalangealgelenk) und Bouchard-Knoten (proximales Interphalangealgelenk) sowie Rhizarthrose (Daumensattelgelenk).

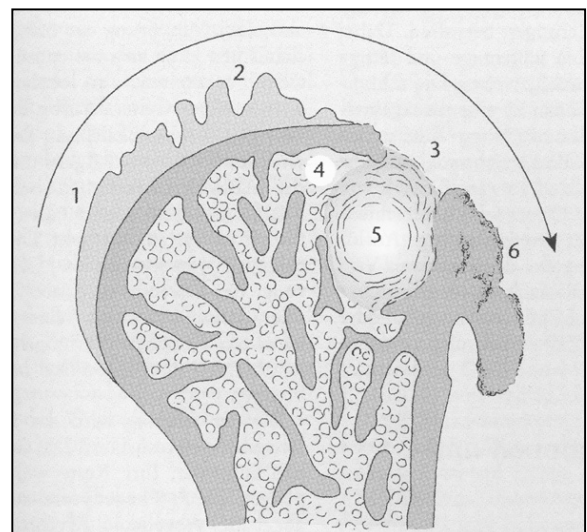


Abbildung 2: Röntgenbild einer Coxarthrose

Histologisch ist die Arthrose durch vier Stadien (Bühling 1995) gekennzeichnet:

- I. Aufrauung und Ausdünnung des Gelenkknorpels, tangentielle Fissuren
- II. Ulzerationen, Proliferation der restlichen Chondrozyten und des Bindegewebes
- III. Ersatz des hyalinen Knorpels durch Granulationsgewebe und minderwertigen Ersatzfaserknorpel (Faserknorpel), Bildung von Pseudozysten (Geröllzysten, aus nekrotischem Knorpel- und Knochengewebe)
- IV. Abflachung der Knochenplatte, Bildung von Randwülsten (Osteophyten), die sich als Folge des tangentialen Druckes bilden.

Abbildung 3: Schematische Veränderungen im Rahmen der Arthrose: 1 normaler Knorpel, 2 Auflösung der oberflächlichen Schicht mit Fibrillenstruktur, 3 Knorpelverlust mit freiliegendem Knochengewebe, 4 Markfibrose unter der Gelenkfläche, 5 Pseudozysten in den Markräumen, 6 osteophytärer Randwall (Grundmann 1994)



Es gibt keine typischen Laborbefunde bei Patienten mit Arthrose.

Eine kausale Therapie der Osteoarthrose gibt es nicht, aber es gibt verschiedene therapeutische Ansätze zur Linderung der Beschwerden. Sie sind rein palliativer Natur und beeinflussen das Ausmaß der Knorpelzerstörung nicht. Hauptsächlich werden nichtsteroidale Antiphlogistika (NSAR) zur Schmerzbehandlung und eventuellen Entzündungshemmung eingesetzt, neuerdings auch COX-2 Inhibitoren, die geringere Nebenwirkungen auf den Magen haben. Symptomatisch wirksam sind physikalische Therapie, wie Wärmeapplikation und Physiotherapie. Injektionen von Cortison, Lokalanästhetika oder auch Hyaluronsäure, die die Gelenkschmiere unterstützen soll, sind umstritten. Unterstützende und das Gelenk entlastende orthopädische Maßnahmen, wie ein Gehstock oder Einlagen sind wichtig. Als ultima ratio, wenn alle konservativen Ansätze ausgeschöpft sind, steht immer noch die Gelenkersatzoperation zur Verfügung.

1.4 Die STR/ort Maus

Die STR/ort Maus stammt von dem STR/N1 Stamm ab, bei dem in der 29. Generation eine rotbraun-weiß gescheckte Mutante auftrat. In diesem Stamm trat gehäuft Osteoarthrose auf. Nach einer Periode ohne Inzucht wurde der neue Stamm der STR/ort Maus mit erneuter Inzucht gezüchtet (Mason, Chambers et al. 2001).

Der Stamm neigt zu Übergewicht und Adipositas (Walton 1979), zu Zahnkrankheiten, Hepatomen, Anämien und Harnleiterstenosen und besonders die männlichen Tiere zu Kniegelenksarthrose. Ob Geschlechtshormone bei der Entstehung der Arthrose eine Rolle (Chambers, Cox et al. 2001) spielen, ist nicht endgültig geklärt, wohl aber bei der Harnwegsobstruktion (Mason, Chambers et al. 2001), die durch Kastration verhindert werden konnte. Die Arthrose ist polygenetisch mit Hinweisen auf eine rezessive, autosomale Vererbung, aber ohne Hinweise auf Geschlechtsgebundenheit (Mason, Chambers et al. 2001).

In morphologischen Studien konnte gezeigt werden, dass die histologischen Läsionen des Knorpels der STR/ort Maus denen der menschlichen Arthrose ähneln. Anfänglich bestand der Verdacht, dass die STR/ort Maus die arthrotischen Veränderungen aufgrund einer medialen Patellasubluxation entwickeln (Walton 1979). Die Befunde konnten von anderen Untersuchern nicht bestätigt werden, auch

Mäuse ohne radiologisch nachweisbare Patellasubluxation entwickeln Arthrose (Evans, Collins et al. 1994). Eine verminderte Belastbarkeit des vorderen Kreuzbandes und ein verstärkter Umbau des Kollagens ist bereits vor radiologischen Zeichen einer Arthrose zu finden (Anderson-MacKenzie, Billingham et al. 1999).

Insgesamt sind die männlichen STR/ort Mäuse von der Arthrose wesentlich stärker betroffen. Die ersten histopathologischen Veränderungen zeigen sich ab einem Alter von 10 Wochen. Mit 20 Wochen zeigen die meisten Tiere arthrotische Veränderungen in einem oder beiden Knien, wobei zu beachten ist, dass das Anfangsalter und die Ausprägung der Läsionen von Maus zu Maus sehr variieren (Mason, Chambers et al. 2001). Vor allem der Knorpel des medialen Tibiaplateaus ist betroffen, während der laterale ausgespart oder nur gering betroffen ist (Sokoloff 1956).

Die Rolle der Entzündung bei der Pathogenese der Arthrose wird kontrovers diskutiert. In einer Studie wurde eine akute und chronische Entzündung mit Infiltration der Synovialis gefunden (Das-Gupta, Lyons et al. 1993), was in einer zweiten Studie (Collins, Evans et al. 1994) nicht bestätigt werden konnte.

Die Chondrozyten haben einen anaeroben Stoffwechsel. Veränderungen der Glykolyse können die Entstehung der Arthrose ebenfalls begünstigen. Vor der Ausprägung einer Arthrose zeigten Chondrozyten eine mangelnde Aktivität der Laktat-Dehydrogenase (Altman 1981). Die verminderte NADH-Konzentration kann zu einer reduzierten Glykolyse und Glykansynthese führen. Außerdem nimmt mit zunehmendem Alter die Aktivität der Glucose-6-phosphatdehydrogenase im Knorpel des medialen Tibiaplateaus ab (Dunham, Chambers et al. 1988).

Bei Knorpelläsionen wurden in den Zellen verschiedene Stoffwechselveränderungen gefunden: Die Aktivität der 5'-Nucleotidase, eines Enzyms des Purinabbaus, steigt und die Aggrecansynthese nimmt ab, wie mit in-situ Hybridisierung mit Aggrecan-Transkripten gezeigt werden konnte (Mason, Chambers et al. 2001). Im Elektronenmikroskop konnte der Zusammenhang zwischen Arthrose und Apoptose der Chondrozyten nachgewiesen werden (Hashimoto, Ochs et al. 1998).

Chambers et al. (Chambers, Bayliss et al. 1997) untersuchten Chondrozyten der STR/ort Maus auf die Bildung von Zytokinen wie IL-1 α und - β , IL-6, IGF-1 und TGF β mittels RNA-Nachweis. RNA konnte für alle 5 untersuchten Faktoren in allen STR/ort-Mäusen gefunden werden, jedoch nicht in gleichaltrigen und gleichgeschlechtlichen CBA Mäusen. Anfangs sind die anabolen Wachstumsfaktoren

im noch gesunden Knorpel überexprimiert, wohingegen die katabolen Zytokine erst in späteren Stadien der Arthrose exprimiert werden. Die Zytokinexpression korreliert mit dem Stoffwechsel der Chondrozyten; kurz vor der Ausbildung der Arthrose kommt es zu einer vermehrten Matrixsynthese, deren Ausbleiben in der Folge zu Knorpeldegeneration führt. In 18-20 Wochen alten STR/ort Mäusen ist die Chondroitinsulfat- (Collins, Evans et al. 1994) und Aggrecansynthese (Gaffen, Bayliss et al. 1997) noch erhöht. Die anschließende Knorpeldegeneration kann durch selektive Kollagenaseinhibitoren unterdrückt werden (Brewster, Lewis et al. 1998).

Leider kann nicht der gleiche biochemische Marker zum Nachweis der Krankheitsaktivität wie beim Menschen, Kollagen X, verwendet werden, da dieser auch bei Kontrollen des CBA-Stammes, Mäusen ohne Arthrose, exprimiert wird (Eerola, Salminen et al. 1998). COMP-1 Expression in STR/ort Mäusen ist ein anderer und sehr potenter Marker für Krankheitsaktivität; die Immunfärbung für das Protein geht mit dem Beginn der Erkrankung verloren (Mason, Chambers et al. 2001).

In Zusammenfassung der morphologischen und einem Teil der biochemischen Befunde zeigen sich bei der STR/ort Maus zahlreiche Analogien zur primären Arthrose des Menschen. Sie legen die Untersuchung der Arthrose bei der STR/ort Maus als Modell für menschliche Arthrose nahe.

1.5 Ziel der Arbeit

Die Rolle der Zytokine und Wachstumsfaktoren in der Pathogenese der menschlichen Arthrose ist bislang nicht vollständig geklärt. Handelt es sich bei der erhöhten Zytokinexpression in Chondrozyten, wie sie von Moos und Mitarb. gezeigt wurde, um eine Reaktion auf biomechanischen Stress, tragen die Zytokine im Knorpel zu dessen Zerstörung bei oder stellen sie wesentliche kausale Faktoren dar? Moos und Mitarb. (Moos, Fickert et al. 1999) fanden an Knorpel menschlicher Arthrosepatienten zwei Phänotypen der Zytokinexpression, einen Phänotyp mit hoher TNF α Produktion und einen Phänotyp mit niedriger TNF α Produktion. TNF α ist ein alternatives kataboles Zytokin und stimuliert sich gegenseitig mit IL-6. Die von Moos und Mitarb. (Moos, Rudwaleit et al. 2000) gefundene Assoziation von Arthrose mit IL-1 β Genotyp beim TNF α low Phänotyp und dem IL-1 Rezeptor Antagonist

Genotyp beim TNF α high Phänotyp weist auf eine Bedeutung von katabolen Zytokinen bei der Entstehung der Osteoarthrose hin. Da an menschlichen Knorpelpräparaten die Pathogenese in ihrem zeitlichen Ablauf nicht rückverfolgt werden kann, ist ein Tiermodell mit spontaner Arthroseentstehung und erhöhter Zytokinproduktion zur Aufklärung der Pathogenese besonders informativ. Am Modell der STR/ort Maus sollte die Pathogenese der Arthrose anhand der Zytokin- und Wachstumsfaktorexpression in Chondrozyten im zeitlichen Ablauf untersucht werden. Der zeitliche Ablauf im Auftreten einzelner Zytokine und Wachstumsfaktoren und der Entwicklung des histologischen Erscheinungsbildes der Arthrose kann Aufschluss über die Pathogenese und die gegenseitige Beeinflussung der Zytokine und Wachstumsfaktoren geben. Aus Untersuchungen am Modell der STR/ort Maus können sich letzten Endes neue therapeutische Ansätze ergeben, um die Entstehung und das Fortschreiten der Osteoarthrose zu vermeiden.