

**Bestimmung osteochondraler Marker in der Gelenkflüssigkeit
zur Verlaufskontrolle
unterschiedlicher operativer Knorpelbehandlungstechniken**

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Stefan Hermann Bauer

aus Neuenbürg (Enzkreis)

Berichter: Herr Privatdozent
Dr. med. Ulrich Schneider

Herr Universitätsprofessor
Dr. rer. nat. Wilhelm Jahnen-Dechent

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Juni 2005

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online verfügbar.

Meinen Eltern in Dankbarkeit für die Unterstützung meiner sportlichen und medizinischen Laufbahn gewidmet.

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	6
1.1 Operationstechniken zur Knorpelbehandlung.....	7
1.2 Marker des Gelenkstoffwechsels.....	8
1.3 Zielsetzung.....	9
2 MATERIAL UND METHODIK	10
2.1 Studiendesign.....	10
2.1.1 Art der Studie.....	10
2.1.2 Studienort.....	10
2.1.3 Zielkriterien.....	10
2.1.4 Messzeitpunkte und Dokumentation.....	11
2.1.5 Biometrisches Konzept.....	11
2.2 Patienten.....	12
2.2.1 Einschlusskriterien.....	12
2.2.2 Ausschlusskriterien.....	12
2.2.3 Studienteilnahme und –abbruch.....	12
2.2.4 Unerwünschte Ereignisse.....	13
2.2.5 Randomisierung.....	13
2.2.6 Vergleichsgruppen.....	13
2.3 Operationsmethoden.....	16
2.3.1 Autologe Chondrozytentransplantation.....	16
2.3.2 Osteochondrale Autologe Transplantation.....	18
2.3.3 Mikrofrakturierung.....	20
2.4 Nachuntersuchungsmethoden.....	21
2.4.1 Biochemische Marker.....	21
2.4.2 Kernspintomographie.....	27
2.4.3 Klinischer Score nach Larson.....	28

3	ERGEBNISSE	29
3.1	Operative Defektbehandlung.....	29
3.1.1	Autologe Chondrozytentransplantation.....	29
3.1.2	Osteochondrale Autologe Transplantation.....	30
3.1.3	Mikrofrakturierung.....	31
3.1.4	Operationsmethode und Defektfläche.....	32
3.1.5	Studienabbruch und unerwünschte Ereignisse.....	32
3.2	Biochemische Marker.....	33
3.2.1	Protein.....	34
3.2.2	Knorpelmarker.....	36
3.2.3	Knochenmarker.....	48
3.3	Kernspintomographie	54
3.4	Klinischer Score nach Larson.....	64
4	DISKUSSION	66
4.1	Problematik klinischer Scores.....	66
4.2	Möglichkeiten und Einschränkungen des MRT.....	68
4.3	Beurteilung operativer Knorpelbehandlung anhand biochemischer Marker.....	70
4.3.1	Ergebnisbeeinflussende Faktoren.....	70
4.3.2	Verlauf biochemischer Marker und Korrelation mit dem MRT.....	74
5	ZUSAMMENFASSUNG	84
6	LITERATURVERZEICHNIS	86
6.1	Eigene Publikation.....	94
7	TABELLARISCHER ANHANG	95
8	DANKSAGUNG	96
9	LEBENS LAUF	97

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACT	AUTOLOGE CHONDROZYTENTRANSPLANTATION
ADL	ACTIVITIES OF DAILY LIVING
BCA	BICINCHONINIC ACID
BW	BASISWERT (WERT DER BASELINE)
CPM	CONTINUOUS PASSIVE MOTION
C _{ACT / OAT / MF}	ABSOLUTE PROTEINBEZOGENE KONZENTRATION
CM/T	CHONDROMALAZIE ODER TRAUMA
DPD	DEOXYPYRIDINOLINE
ECM	EXTRACELLULAR MATRIX
ELISA	ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY
FFE	FAST-FIELD-ECHO
MF	MIKROFRAKTURIERUNG
MMP	MATRIX METALLOPROTEINASE
nM	NANOMOL
NTx	N-TERMINALE CROSSLINKS
OAT	OSTEOCHONDRALE AUTOLOGE TRANSPLANTATION
OA	OSTEOARTHROSE
o.E.	OHNE EINHEIT
OD	OSTEOCHONDROSIS DISSECANS
PBS	PHOSPHATE BUFFERED SOLUTION
PG	PROTEOGLYKANE
PICP/CICP	C-TERMINALES PROPEPTID DES TYP I-KOLLAGENS
pM	PIKKOMOL
PW	PUNKTWERT
RA	RHEUMATOIDE ARTHRITIS
s.E.	SIEHE (VORAUSGEGANGENE) EINHEIT
SPIR	SPECTRAL PRESATURATION BY INVERSION RECOVERY
TIMP	TISSUE INHIBITOR OF MATRIX-METALLOPROTEINASES
TSE	TURBO-SPIN-ECHO
t _{0 / 6 / 26 / 52}	ZEITPUNKT (t) NACH 0 / 6 / 26 / 52 WOCHEN
UZ	UNTERSUCHUNGSZEITPUNKT
VK	VARIATIONSKOEFFIZIENT
VKBR	VORDERE KREUZBANDRUPTUR
YKL-40	GLYKOPROTEIN CHONDREX

1 EINLEITUNG

Der hyaline Gelenkknorpel hat nur eine unzureichende Fähigkeit, Strukturdefekte zu reparieren. Über kurze Zeit werden solche Defekte oftmals noch gut toleriert [MESSNER 1996], doch über Jahre führen sie in den meisten Fällen in einem autolytischen Kreislauf [MANKIN et al. 1994] zur Zerstörung des Knorpels mit der Entwicklung einer Arthrose [BUCKWALTER 1998, COHEN et al. 1998; LINDEN 1977]. Für den Einzelnen bedeutet dies eine hochgradige Beeinträchtigung der Lebensqualität durch Schmerz, Funktionseinschränkung und Invalidität, für die Gesellschaft eine erhebliche sozioökonomische Belastung.

Der Bedeutung dieser seit Jahrhunderten bekannten Problematik [HUNTER 1743] trägt auch die UNO Rechnung, die derzeit die Kampagne „The Bone and Joint Decade 2000-2010“ [LINDGREN 2000] zur Förderung der Forschung auf diesem Gebiet unterhält.

In der Vergangenheit wurde eine Vielzahl verschiedener operativer Methoden zur Behandlung von Knorpeldefekten entwickelt. Es gelingt jedoch mit keiner Methode, eine restitutio ad integrum des Knorpels zu erreichen. Sämtliche Methoden sind mit Vor- und Nachteilen behaftet, wobei keine die Wiederherstellung des Knorpels mit den ursprünglichen biomechanischen und biologischen Eigenschaften erlaubt. Bisher ist es mangels klinischer Vergleichsstudien nicht möglich, eine operative Methode der 1.Wahl (Goldstandard) zu definieren. Dies wird unter anderem auch durch das Fehlen von standardisierten und objektiven Methoden zum Vergleich der Operationstechniken erschwert.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Wirksamkeit von drei modernen Techniken der operativen Knorpelbehandlung: Der Autologen Chondrozytentransplantation nach Brittberg (ACT), der Osteochondralen Autologen Transplantation nach Hangody (OAT) und der Mikrofrakturierung nach Steadman (MF) mithilfe eines neuen Ansatzes zur objektiven und quantitativen Bestimmung osteochondraler Marker in der Gelenkflüssigkeit.

1.1 Operationstechniken zur Knorpelbehandlung

Die heute bekannte operative Therapie von Knorpeldefekten beinhaltet eine Reihe unterschiedlicher Techniken wie die *Gelenklavage* und das *Debridement* defekter Knorpelareale [AICHROTH 1991], die Perforation des subchondralen Knochens durch *transkortikale Bohrung* [PRIDIE 1959] oder *Mikrofrakturierung* [STEADMAN et al. 1997] zur Erschließung pluripotenter Stammzellen des Knochenmarkes, die autologe Transplantation eines vorgeformten osteochondralen Gemisches (*Mushigraft-/Stone-Plastik*) nach vorheriger Knochenperforation [STONE u. WALGENBACH 1999], die *Abrasionsarthroplastik* [BERT 1993], die Transplantation *chondrogener Gewebe* [BRUNS u. STEINHAGEN 1999] sowie die *Osteochondrale Autologe Transplantation* (OAT) [BOBIC 1996; HANGODY et al. 1997] und die *Autologe Chondrozytentransplantation* (ACT) [BRITTBERG et al. 1994; PETERSON 1996].

Die faserknorpelinduzierende *Mikrofrakturierung* hat sich in der klinischen Anwendung aufgrund der leichten arthroskopischen Durchführbarkeit und der klinischen Ergebnisse [STEADMAN et al. 1998] etabliert. Gegenüber den anderen perforierenden Techniken bietet sie die Vorteile, das Potential des Knochenmarks ohne Hitzenekrosen zu erschließen und gleichzeitig ein raues Defektbett zu hinterlassen, das für die Anheftung des faserknorpelbildenden Fibringerinsels günstig sein soll [STEADMAN et al. 1998].

Als weitere neue Technik stellt die *Osteochondrale Autologe Transplantation* eine Methode dar, die eine weitgehende Defektdeckung mit hyalinem Gelenkknorpel durch ein Mosaik aus osteochondralen Zylindern verspricht [HANGODY et al. 1997]. Nachdem es mehrere handelsübliche Instrumentarien für den operativen Einsatz der Mosaikplastik gibt, wird sie mittlerweile standardmäßig klinisch eingesetzt und bietet den Vorteil, einen kurzen Nachbehandlungszeitraum in Anspruch zu nehmen.

Schon von ihrem Therapieansatz her stellt die *Autologe Chondrozytentransplantation* [BRITTBERG et al. 1994; PETERSON 1996] ein neues und anderes Verfahren dar. Es beruht auf dem Gedanken, das Reparationspotential von Knorpelzellen durch Entnahme, Anzucht und Transplantation zu nutzen und zu stimulieren. Nach vielversprechenden klinischen Resultaten mit der Schaffung eines hochwertigen hyalinartigen Knorpels [BRITTBERG et al. 1994] wird diese zweizeitig durchzuführende Methode immer häufiger klinisch angewandt.

Alle diese Verfahren werden aufgrund ihrer Vor- und Nachteile kontrovers diskutiert, zumal vergleichende Studien unter Einsatz objektiver Nachuntersuchungsmethoden fehlen.

1.2 Marker des Gelenkstoffwechsels

Verschiedene biochemische Marker bieten unter Analyse der Gelenkflüssigkeit die Möglichkeit, Aufschluss über den Knorpel, den Knochen und die allgemeine Gelenksituation zu gewinnen. Es handelt sich dabei sowohl um passive osteochondrale Metaboliten als auch um aktiv in den Gelenkstoffwechsel eingreifende Substanzen.

Zu letzteren zählen knorpelspaltende Proteasen wie die Matrixmetalloproteinasen MMP-1 und MMP-3, die degradative Prozesse des Knorpels widerspiegeln [ISHIGURO et al. 1999; POOLE et al. 1995], besonders unter Betrachtung des Verhältnisses zu ihren Inhibitoren [MARTELL-PELLETIER et al. 1994], zu denen als häufigst nachweisbarer der „tissue inhibitor of matrix-metalloproteinase-1“ (TIMP-1) zählt [CAWSTON et al. 1983].

Das synthetisierte Glykoprotein YKL-40 (Chondrex) stellt eine Substanz unbekannter Funktion dar [VOLK et al. 1999], die bei entzündlichen und degenerativen Gelenkerkrankungen in signifikant höherer Konzentration nachgewiesen wurde und den Grad der synovialen Entzündung und Degradation des Knorpels reflektiert [HARVEY et al. 1998].

Proteoglykane als Matrixbestandteile des hyalinen Knorpels und ihre Spaltprodukte wie Chondroitin-, Keratan-, Dermatan- und Heparansulfat können als metabolische Marker bei Knorpelverletzungen dienen [LOHMANDER et al. 1998]. Erhöhte Konzentrationen fragmentierter Aggrekane wurden bei Arthrose (OA) und Gelenkverletzungen nachgewiesen [DAHLBERG et al. 1994; LOHMANDER et al. 1993].

Als Spaltprodukte des Kollagen Typ I stehen Deoxypyridinolin (DPD) und N-terminales Telopeptid des Kollagen Typ I (NTx) aufgrund ihrer Herkunft in enger Verbindung zueinander. Deoxypyridinoline sind natürlich vorkommende Quervernetzungen („crosslinks“) des Kollagen Typ I und kommen hauptsächlich im Knochen, nicht aber im Knorpel vor [EYRE et al. 1984]. Daher eignet sich DPD als Indikator der Knochenresorption [EASTELL et al. 1997; ROBINS 1995]. Die nichthelikalen terminalen Regionen der Kollagenmoleküle (NTx) sind Quervernetzungsstellen zu helikalen Regionen gebundener Nachbarmoleküle und an 60% der DPD-Bindungen des Knochens beteiligt [OGAWA et al. 1982]. Während der Knochen Degradation wird NTx freigesetzt und eignet sich ebenfalls als spezifischer Knochenresorptionsmarker [ÅKESSON 1995].

Das c-terminale Propeptid des Kollagen Typ I (PICP/CICP) wird bei der Kollagensynthese des Knochens freigesetzt und ermöglicht den Nachweis der Knochensynthese bei Gelenkerkrankungen [HAKALA et al. 1995].

1.3 Zielsetzung

In den letzten Jahren wurden einige vielversprechende Verfahren zur operativen Knorpelbehandlung präsentiert und finden seither klinische Anwendung. Jedoch ist es sehr schwer, diese Methoden im Vergleich zu beurteilen. Das liegt zum einen am Mangel prospektiver klinischer Vergleichsstudien über einen genügend langen Zeitraum, zum anderen am Fehlen standardisierter und objektiver Protokolle zur Nachuntersuchung der verschiedenen Techniken.

Bisher vorhandene Studien zur Beurteilung operativer Knorpelbehandlung beschränken sich auf klinische Daten anhand verschiedener Scores, radiologische Befunde (MRT) und histologische Untersuchungen. In einzelnen Fällen kommen auch Kontrollarthroskopien zur Anwendung. Jedoch sind die klinischen Erhebungen hinsichtlich Objektivität und Validität erheblichen Einschränkungen unterworfen [ROBERT 2001] und auch die Kernspintomographie ist nur eingeschränkt valide [MUNK et al. 1998], ohne einen quantitativen Vergleich liefern zu können. Histologische Untersuchungen sind aufgrund der Invasivität meist nur im Tierversuch, selten aber klinisch anwendbar, ebenso wie Kontrollarthroskopien, welche lediglich Aussagen über die Beschaffenheit der Knorpeloberfläche zulassen. Da die arthroskopische Befundung einer hohen interindividuellen Variabilität der einzelnen Untersucher unterliegt [VAN KAMPEN et al. 1998], ist ihre Validität ebenfalls zweifelhaft. Sämtliche Studienprotokolle stützen sich auf klinische und morphologische Parameter, jedoch gibt es wenig Kenntnisse über den Gelenkstoffwechsel nach operativer Knorpelbehandlung.

Daher untersucht diese prospektive klinische Studie die Wirksamkeit der autologen Chondrozytentransplantation, der osteochondralen autologen Transplantation und der Mikrofrakturierung mithilfe eines neuen Ansatzes zur Analyse osteochondraler Stoffwechselmarker [SCHNEIDER et al. 2003]. Gleichzeitig soll die Eignung der verschiedenen Marker unter den angelegten Bedingungen überprüft werden. Parallel dazu ergänzen übliche klinische und kernspintomographische Untersuchungen die Verlaufskontrolle der operativen Knorpelbehandlung.

Da sich die Operationstechniken grundlegend unterscheiden, und bei den Eingriffen der Mikrofrakturierung und der OAT der subchondrale Knochen miteinbezogen wird, sind unterschiedliche Auswirkungen auf das Gelenkmilieu denkbar. Die Betrachtung der verschiedenen Markertendenzen im Verlauf soll dem Erkenntnisgewinn darüber dienen.

2 MATERIAL UND METHODIK

2.1 Design der Studie

2.1.1 Art der Studie

Bei dieser prospektiven, klinischen Vergleichstudie wurde die Wirksamkeit von drei verschiedenen operativen Techniken zur Behandlung fokaler Knorpeldefekte im Kniegelenk untersucht. Die Durchführung erfolgte mit Genehmigung der Ethikkommission Heidelberg (Antragsnummer des zustimmenden Votums: 52/2000) unter Beachtung der Richtlinien der EG im Sinne einer „guten klinischen Praxis“ und der Prinzipien der Deklaration von Helsinki.

2.1.2 Studienort

Diese Studie wurde multizentrisch in folgenden Zentren durchgeführt:

- Stiftung orthopädische Universitätsklinik Heidelberg
- Orthopädisch-chirurgische Gemeinschaftspraxis in der Elisabethklinik Heidelberg
- Arcusklinik Pforzheim
- Orthopädische Universitätsklinik der RWTH Aachen

2.1.3 Zielkriterien

Erfolgsparemeter war der Knorpel- und Knochenstoffwechsel nach operativer Behandlung von fokalen Knorpeldefekten im Kniegelenk durch Bestimmung osteochondraler Stoffwechsellparameter (Hauptzielvariablen). Gleichzeitig wurden klinische und kernspintomographische Untersuchungen (Begleitvariablen) durchgeführt.

2.1.4 Messzeitpunkte und Dokumentation

Der Beobachtungszeitraum nach operativer Behandlung umfasste 1 Jahr, wobei die Patienten präoperativ sowie nach 6, 12, 26 und 52 Wochen untersucht wurden.

Im Untersuchungsprotokoll wurden folgende Parameter dokumentiert:

- Anamnese / Allgemeine und spezielle (Score) klinische Untersuchung
- Synoviaanalyse
- Kernspintomographie

2.1.5 Biometrisches Konzept

Die Auswertung der untersuchten biochemischen Hauptzielvariablen erfolgte mit Hilfe deskriptiver statistischer Methoden. Dabei wurde der Vergleich der Marker der einzelnen Operationstechniken über den Untersuchungszeitraum über die Mediane der Kurvenscharen vorgenommen. Zusätzlich wurden die zugehörigen Quartile (25% und 75%) und Interquartilabstände graphisch dargestellt und dienen als Streuungsmaß bei den einzelnen Untersuchungszeitpunkten. Durch eine Baseline, die dem präoperativen Ausgangszustand entspricht, wurden die verschiedenen Markerverläufe nach operativer Knorpelbehandlung verdeutlicht. Sämtliche Berechnungen der verschiedenen Parameter und deren graphische Darstellung erfolgte mithilfe von Excel 97[®]. Ebenfalls deskriptiv wurden die kernspintomographischen Begleitvariablen ausgewertet. Die übrigen Begleitvariablen wurden explorativ ausgewertet.

2.2 Patienten

2.2.1 Einschlusskriterien

In die Studie wurden alle Patienten aufgenommen, die aufgrund traumatischer oder degenerativer Ursachen fokale Knorpeldefekte im Kniegelenk aufwiesen, die arthroskopisch bestätigt wurden. Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie war die Bereitschaft des Patienten, auf andere knorpelstimulierende Therapiemaßnahmen zu verzichten. Die Einnahme anderer Medikamente musste angezeigt werden. Eine Einschränkung der regulären Begleittherapie, wie sie nach Eingriffen an großen Gelenken üblicherweise durchgeführt wird, bestand nicht. Vor Studienbeginn erfolgte eine eingehende Information mit schriftlicher Einverständniserklärung (Studienvoraussetzung) der beteiligten Patienten.

2.2.2 Ausschlusskriterien

Bei Vorliegen von folgenden Kriterien wurden Patienten nicht in die Studie aufgenommen:

- Der Patient erfüllte nicht alle Einschlusskriterien
- Erkrankungen des hämatopoetischen Formenkreises (z.B. Anämie)
- Maligne Erkrankungen
- Neurologische Erkrankungen (z.B. Paresen, Neuropathie)
- Erhöhtes Blutungsrisiko
- Medikamenten- oder andere Abhängigkeit
- Frauen während der Schwangerschaft oder Stillzeit
- Geschäftsunfähige- oder zwangsuntergebrachte Patienten

2.2.3 Studienteilnahme und –abbruch

Die Rücklaufquote aller studienfähigen Patienten betrug 75%.

Folgende Abbruchkriterien wurden vorweg definiert:

- Auftreten von Infektionen (I)
- Auftreten von Nebenreaktionen (Überempfindlichkeits-, Abstoßungsreaktionen) (II)
- Patient kommt nicht wieder oder zieht sein Einverständnis zurück (III)
-

2.2.4 Unerwünschte Ereignisse

Bei jedem Untersuchungstermin wurde erfragt, ob irgendwelche unerwünschten Ereignisse aufgetreten sind. Dabei fanden sowohl die von den Patienten berichteten unerwünschten Ereignisse klinischer Art, als auch die bei der Untersuchung festgestellten, Beachtung. Die Dokumentation erfolgte auf dem klinischen Untersuchungsbogen der Patienten.

2.2.5 Randomisierung

Die Festlegung der Operationsmethode erfolgte durch den jeweiligen Operateur einer der operativen Kliniken der Studie, nachdem ein fokaler Knorpeldefekt im Kniegelenk im Rahmen einer diagnostischen Arthroskopie gesichert wurde. Diese Zuteilung begründete sich nicht auf dem Boden eines vorher festgelegten Randomisierungsschemas, sondern nach Kriterien wie Defektgröße, Defektgrad, Defektlokalisation, den klinischen Erfahrungen der jeweiligen Zentren mit den Methoden und ihrer Verfügbarkeit.

2.2.6 Vergleichsgruppen

Insgesamt wurden 32 Patienten in die Studie aufgenommen, von denen 17 mit einer autologen Chondrozytentransplantation, 6 mit einer osteochondralen autologen Transplantation und 9 mit einer Mikrofrakturierung behandelt wurden. Die 17 ACT-Patienten beteiligten sich im Zeitraum vom 04.08.1997 - 05.10.2000 an der Studie, die 15 Patienten der beiden anderen Methoden vom 11.10.1999 - 05.03.2002. Letztere wurden konsekutiv zur ersten Vergleichsgruppe rekrutiert. Die gleichzeitige Untersuchung einer Kontrollgruppe schloss sich aus ethischen Gründen aus.

Die 3 Patientengruppen charakterisierten sich wie folgt:

Autologe Chondrozytentransplantation:

Es wurden 9 Männer und 8 Frauen im Alter von 22 bis 62 Jahren mit einem Altersdurchschnitt von 35,41 Jahren (Median: 34 Jahre) mit dieser Methode behandelt. In die Studie aufgenommen wurden Patienten mit einem arthroskopisch gesicherten, lokal abgrenzbaren Defekt des Kniegelenkknorpels, wobei die Defektfläche pro behandeltem Knie zwischen 2,25 und 11,25cm² variierte. Sie lag im Durchschnitt bei 5,2cm² (Median: 5cm²) und war zwischen Grad III und IV nach Outerbridge klassifizierbar. Eine Osteochondrosis dissecans (OD) war in 35% der Fälle Defektursache.

Behandelt wurden:

- 12 Patienten mit femoralen Defekten
- 1 Patient mit einem tibialen Defekt
- 1 Patient mit einem patellaren Defekt
- 1 Patient mit einem femoralen und tibialen Defekt
- 2 Patienten mit einem femoralen und patellaren Defekt

Osteochondrale Autologe Transplantation:

Diese Methode wurde bei 4 Männern und 2 Frauen im Alter von 21 bis 52 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 33,83 Jahren (Median: 33 Jahre) angewandt. Die arthroskopisch diagnostizierten, lokal abgrenzbaren Defekte lagen ebenfalls zwischen Grad III und IV nach Outerbridge bei einer Fläche zwischen 0,85 und 1,5cm², mit einem Durchschnitt von 1,27cm² (Median: 1,25cm²). Mit Ausnahme von 2 Patienten lag dem Defekt eine OD zugrunde (85% der Patienten).

Alle Defekte waren an den Femurkondylen lokalisiert.

Mikrofrakturierung:

Es wurden 7 Männer und 2 Frauen im Alter zwischen 22 und 56 Jahren bei einem Durchschnittsalter von 40 Jahren (Median: 39 Jahre) behandelt. Die Defekte wurden arthroskopisch zwischen Grad III und IV nach Outerbridge klassifiziert, die Defektfläche pro Kniegelenk betrug zwischen 1,5 und 15cm² bei einer Durchschnittsfläche von 6,87cm² (Median: 6,25cm²). Eine OD ging in 22% der Fälle dem Knorpelschaden voraus.

Behandelt wurden:

- 4 Patienten mit femoralen Defekten
- 1 Patient mit 2 femoralen Defekten (medialer und lateraler Kondylus)
- 4 Patienten mit einem femoralen und tibialen Defekt

Die präoperative Ausgangssituation der Patienten der verschiedenen Vergleichsgruppen wird in Tabelle 1 wiedergegeben, wobei die durchschnittliche Dauer der Symptomatik, die mittlere Anzahl der Voroperationen (Ausschluss von Arthroskopien) und der prozentuale Anteil der Patienten (In Klammern: Anzahl) innerhalb jeder Vergleichsgruppe mit Voroperationen anderer Gelenkstrukturen (Menisken, Kreuzbänder u.a. unter Ausschluss des Defektbereichs) und nur der Menisken aufgeführt sind. Vordere Kreuzbandrupturen (VKBR) und chondrale BegleitleSIONen sind ebenfalls berücksichtigt.

Tab. 1: Präoperative Ausgangssituation der verschiedenen Vergleichsgruppen.

	Dauer der Symptomatik im Mittel	Anzahl der Vor-OPs im Mittel	Voroperationen anderer Gelenkstrukturen (nicht am Defektbereich)	Voroperationen der Menisken (mind. Teilresektion)	VKBR	Weitere nicht behandelte Knorpeldefekte
ACT	8,6 Jahre	1,8	53% (9)	53% (9)	24% (4)	53% (8)
OAT	6,7 Jahre	1,3	33% (2)	17% (1)	17% (1)	17% (1)
MF	10 Jahre	1,6	44% (4)	44% (4)	22% (2)	88% (8)

2.3 Operationsmethoden

2.3.1 Autologe Chondrozytentransplantation

Biopsie und Zellkultur:

Bei diesem im Unterschied zu den anderen Methoden zweizeitigen Verfahren der autologen Chondrozytentransplantation wird im Rahmen einer diagnostischen Arthroskopie nach Sicherung und Dokumentation von Fläche, Grad und Lokalisation eines fokalen Knorpeldefektes eine Biopsie zur Knorpelzellkultivierung entnommen. Dies geschieht nach eingehender Prüfung der Indikation zu dieser Methode und erfolgt aus biomechanisch eher gering belasteten Zonen des Gelenkes mithilfe eines geeigneten Instrumentariums, wobei mehrere Knorpelstücke entnommen werden. Diese werden in X-Vivo 10 Medium[®] ins Labor transportiert.

Die Chondrozyten wurden nach dem von BRITTBERG präsentierten Protokoll [BRITTBERG et al. 1994] behandelt und kultiviert. Nach steriler Zerkleinerung der Biopsie werden die Chondrozyten in autologem Medium mit Zusatz von Kollagenase B (1,5mg/ml) und Hyaluronidase (0,1mg/ml) auf einem Schüttler (60rpm) im Begasungsbrutschrank (37°C, 95% Luftfeuchtigkeit, 5% CO₂) aus der Knorpelmatrix gelöst. Nach Zentrifugierung (400g, 10min) wird das Zellpellet mit 10ml autologem Medium versetzt und bei dreitägigen Mediumswechseln in mehreren Passagezyklen (Waschen mit PBS-Lösung, anschließende Ablösung mit Trypsin/EDTA-Lösung und Überführung in eine neue Schale) kultiviert, bis eine Zellzahl von 10×10^6 pro Petrischale erreicht wird.

Erforderliches Material für die Zellkultur :

- Autologes Patientenblut in EDTA-Serumröhrchen (20ml)
- X-Vivo 10 Medium[®] (Bio-Whittaker, Walkersville, Maryland, USA) Best. 04-380-Q
- Kollagenase B (Boehringer, Mannheim) Best. 1088815
- Hyaluronidase (Serva, Heidelberg) Best. 25118
- PBS-Lösung: 8g NaCl; 0,2g KCl; 1,15g Na₂HPO₄; 0,2g KH₂PO₄ in 1l Aqua bidest. (Merck, Darmstadt)
- Trypsin/EDTA-Lösung (Life-Technologies, Rockville, Maryland, USA)
- Zellkulturmaterial (Greiner, Nörtlingen)

Autologes Medium:

Nach der Zentrifugierung (800g, 15min) des autologen Blutes wird der Plasmaüberstand mit X-Vivo 10 Medium[®] versetzt und sterilfiltriert. Das Verhältnis beträgt 10% (v/v) Plasma zu 90% (v/v) X-Vivo 10 Medium[®].

Neben der mikroskopischen Sterilitätsprüfung zum Ausschluss bakterieller und mykotischer Kontamination wurde 24 Stunden vor der Transplantation ein Enzym-Immunoassay zum Nachweis von Mykoplasmen und Acholeplasmen in den Zellkulturen durchgeführt (Mycoplasma Detection Kit; Boehringer, Mannheim). Dieser war bei allen Kulturen negativ.

Vor der Rücktransplantation werden die Zellen mit Trypsin abgelöst und in autologem Medium gewaschen. Nach Abzentrifugierung der Zellen bei 400g (10 Minuten) wird das Zellpellet in autologem Medium suspendiert. Dabei wird eine Suspension mit einer Zellzahl von 2×10^7 /ml hergestellt und für die Transplantation in eine sterile Spritze überführt.

Operationstechnik:

Die Eingriffe erfolgten nach der Methode von Brittberg et. al. (1994). In Intubationsnarkose und unter Oberschenkelblutsperre wird das Gelenk mit einem Schnitt nach Payr eröffnet. Zunächst wird der Knorpeldefekt scharf ausgeschnitten, um solide Defektränder zu erhalten. Im Defektareal erfolgt ein Debridement bis zur Knorpel-Knochen-Grenze ohne Erschließung des subchondralen Raumes. Nach erneuter Vermessung des Defektes wird eine entsprechende Schablone angefertigt unter deren Verwendung ein passender Periostlappen im Bereich des medialeseitigen, proximalen Tibiakopfes ausgeschnitten wird. Dieser wird unter Erhalt der Kambiumschicht mithilfe eines Raspatoriums entfernt und auf den Knorpelrand genäht. Dabei werden Einzelknopfnähte (5,0 Vicryl) verwandt. Zusätzlich erfolgt die Randversiegelung mit Fibrinkleber bis die Ränder bei Kochsalzinstillation dicht sind. Dann wird die Knorpelzellsuspension unter den Periostlappen gespritzt, bis eine prallelastische Füllung entsteht. Mit dem Vernähen der letzten Öffnung wird das Defektbett abgedichtet. Die Operation wird in üblicher Weise zu Ende geführt.

Rehabilitation:

Tab.2:

Zeitraum postoperativ	Maßnahmen
1.Tag bis 6. Woche	CPM: Beinlagerung auf Motorschiene für 2x6 Stunden täglich, Max. Bewegungsausmaß: 0°-0°-60° (Ext./Flex.), Mobilisation und Teilbelastung mit 15% des Körpergewichtes, isometrische Spannungsübungen
7. bis 12. Woche	Steigerung der Teilbelastung auf 30% des Körpergewichtes, freie Beweglichkeit, aktiv-assistive Physiotherapie, Bewegung auf der Motorschiene
13. Woche bis 6. Monat	Schrittweise Steigerung bis zur Vollbelastung, Fahrrad fahren, Muskelaufbautraining
Ab 6. Monat	Sportartspezifische Belastung

2.3.2 Osteochondrale Autologe Transplantation

Die Eingriffe wurden mit einem speziellen Instrumentarium der Firma Arthrex® durchgeführt. Nach Intubationsnarkose und unter Oberschenkelblutsperre erfolgt zunächst eine diagnostische Arthroskopie bei der Defektfläche, Defektgrad und Lokalisation mithilfe eines Tasthäkchens bestimmt und in Hinblick auf die Indikation überprüft werden. Bei gegebener Indikation wird das Gelenk mit einem Schnitt nach Payr eröffnet. Der Defekt wird bis auf den Knochen debridiert und mit Ausstanzungen zwischen 3,5 und 8mm Durchmesser vermessen, wonach die Anzahl und die Stärke der erforderlichen Spenderzylinder festgelegt wird. Mit einem Spezialinstrument (Entnahmehohlmeisel; Firma Arthrex®) wird die erforderliche Anzahl an Knorpel-Knochen-Zylindern aus den biomechanisch eher gering belasteten anterolateralen und anteromedialen Bereichen des Femurkondylus entnommen. Ihre Länge kann je nach Erfordernissen zwischen 10 und 20mm betragen.

Die Verankerung der Zylinder an der Defektstelle wird wie folgt vorgenommen:

- Primäre Bohrung mit einer Tiefe zwischen 0,8 und 1,8mm
- Erweiterung des Loches mit einem Dilatator (Arthrex®)
- Einstößelung des Zylinders in Press-Fit-Technik (Empfängerloch ist im Durchmesser um 1mm kleiner als der Spenderzylinder dimensioniert)

Diese Schritte werden wiederholt, bis der Defekt mit einem Zylindermosaik gedeckt ist. In den Zwischenräumen soll sich Faserknorpel ausbilden.

Die Entnahmestellen der Zylinder bleiben unbehandelt mit dem Ziel einer faserknorpeligen Deckung.

Es folgt die ausgiebige Spülung des Gelenkes, Einlage einer Redondrainage und das Anlegen eines sterilen Kompressionsverbandes.

Rehabilitation:

Tab.3:

Zeitraum postoperativ	Maßnahmen
1.Tag bis 4. Woche	CPM: Beinlagerung auf Motorschiene für 2x6 Stunden täglich, Max. Bewegungsausmaß 0°-0°-80° (Ext./Flex.) i.d. 1.Woche mit anschließender schneller Steigerung, Mobilisation und Teilbelastung mit 5kg, isometrische Spannungsübungen
5. bis 8. Woche	Progressive Teilbelastung mit Vollbelastung in der 8. Woche, freie Beweglichkeit, aktiv-assistive Krankengymnastik, Aquajogging oder Fahrradergometer
Ab 9 Wochen	Muskelaufbautraining, Fahrradergometer
Ab 4 Monaten	Sportartspezifische Belastungen nach Situation

2.3.3 Mikrofrakturierung

Die Mikrofrakturierungen wurden in der von Steadman et al. 1997 beschriebenen Weise durchgeführt. Nach Operationsvorbereitung in üblicher orthopädischer Weise erfolgt eine Arthroskopie zur Bestimmung und Dokumentation von Fläche, Grad und Lokalisation des jeweiligen Defektes. Bei gegebener Indikation für eine Mikrofrakturierung wird der freiliegende subchondrale Knochen arthroskopisch mit einem spitzen Spezialstößel perforiert, wobei vorzugsweise keine Hitzenekrosen entstehen. Die Tiefe der Perforationen beträgt circa 4mm, die Abstände zwischen ihnen 3-4mm. Somit kommt es zu einer Häufung von 3-4 Perforationen pro cm². Dann wird die Blutsperre geöffnet und das Einbluten in das Defektbett überprüft. Die kreierte raue Unterlage ermöglicht eine vorteilhafte Anheftung des Fibrinpfropfes, der ein Faserknorpelregenerat ausbilden soll. Die Arthroskopie wird in üblicher Weise mit Spülung, Wundverschluß und sterilem Kompressionsverband beendet.

Rehabilitation:

Tab.4:

Zeitraum postoperativ	Maßnahmen
1.Tag bis 6. Woche	Beinlagerung auf Motorschiene für 2x6 Stunden täglich, Max. Bewegungsausmaß 0°-0°-80° (Ext./Flex.) i.d. 1.Woche Mit anschließender langsamer Steigerung, Mobilisation und Teilbelastung mit 5kg, isometrische Spannungsübungen
7. bis 10. Woche	Freie Beweglichkeit, Teilbelastung mit 20kg, aktiv-assistive Krankengymnastik, Aquajogging od. Fahrradergometer
Ab 9 Wochen	Belastungssteigerung bis zur Vollbelastung, Muskelaufbautraining
Ab 6 Monaten	Sportartspezifische Belastungen

2.4 Nachuntersuchungsmethoden

2.4.1 Biochemische Marker

Gelenkspülung:

Präoperativ sowie zu den definierten Nachuntersuchungszeitpunkten wurden standardisierte Gelenkspülungen nach den Richtlinien für Gelenkpunktionen der Deutschen Gesellschaft für Orthopädie und Traumatologie durchgeführt.

Nach mehrmaliger Hautdesinfektion und steriler Abdeckung der Beine erfolgt die Injektion einer festgelegten Menge von 50ml Kochsalzlösung (0,9%) unter sterilen Kautelen in das Kniegelenk. Als Injektionszugang dient der obere Rezessus proximal lateral der Patella. Bei liegender, zum Schutz des retropatellaren Knorpels nach proximal gekippter Nadel wird das Gelenk 10 mal zwischen 0 und 40° Beugung mit dem Ziel einer guten Durchmischung passiv durchbewegt. Danach wird die Spülflüssigkeit vollständig abpunktiert und nach Zentrifugierung (800g; 15min) und Pipettierung in Eppendorfgläsern bei –80°C kryokonserviert (Lagerungsdauer der verschiedenen Proben zwischen 0,5 und 2 Jahren; maximal 3 Auftauzyklen zur ELISA-Durchführung).

Quantifizierung der Marker:

Bei jedem Marker wurden ungefähr 160 (5 Zeitpunkte mal 32 Patienten) Synoviaprobe (Ausfälle noch abzuziehen) mit mehreren ELISA-Tests des selben Herstellers (identische Artikelnummer) zu verschiedenen Zeitpunkten durchgeführt, da ein einzelner Test nur 40 Probenplätze für eine Doppelbestimmung (48 abzüglich der Standardreihe und Testproben) zur Verfügung stellt. Daher sind die Intertest-Variationskoeffizienten (Herstellerangaben) zu beachten und bei den folgenden ELISA-Testbeschreibungen mit angegeben.

Bei den einzelnen Patienten treten bei den verschiedenen Untersuchungen im zeitlichen Verlauf interindividuelle Schwankungen der Gesamtproteinkonzentration der Spülflüssigkeit auf. Diese Schwankungen betreffen auch die jeweiligen Markerkonzentrationen. Um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten, wurden deshalb alle Marker zur Gesamtproteinkonzentration als Bezugsgröße ins Verhältnis gesetzt.

Proteinbestimmung:

Die Quantifizierung des Proteins wurde mit einem handelsüblichen Kit unter Verwendung einer 96er Mikrotiterplatte durchgeführt (BCA Protein Assay Reagent Kit / Pierce, Great Britain, VK=14,6%). Prinzip dieses standardisierten Tests sind zwei Reaktionen. Zunächst wird ein Molekül Cu^{2+} in alkalischem Medium durch das zu bestimmende Protein (Peptidbindung) zu einem Cu^{1+} -Komplex reduziert (Biuret-Reaktion). Ein Molekül dieses Cu^{1+} -Komplexes bildet in der zweiten Reaktion mit zwei Molekülen BCA einen wasserlöslichen Chelatfarbkomplex, der eine starke Absorption bei 562nm liefert. Diese ist linear und ermöglicht eine Proteinbestimmung zwischen 20 und 2000µg/ml.

Markerbestimmung:

Zur Analyse der Marker wurden handelsübliche und standardisierte ELISA-Kits eingesetzt:

- MMP-1 (Metalloproteinase-1, Amersham, Great Britain, Best. RPN 2610);
Spezifität: Nichtspezifisch (Knorpel, Knochen, Synovialis etc.)
- MMP-3 (Metalloproteinase-3, Amersham, Great Britain, Best. RPN 2613);
Spezifität: Nichtspezifisch (Knorpel, Knochen, Synovialis etc.)
- TIMP-1 (Tissue inhibitor of metalloproteinase-1, Amersham, Best. RPN 2611);
Spezifität: Nichtspezifisch (Knorpel, Knochen, Synovialis etc.)
- YKL-40 (Chondrex-Elisa-Kit, Metra Biosystem Inc., U.S.A., Best. 8020);
Spezifität: Nichtspezifisch (Knorpel, Knochen, Synovialis etc.)
- CICP (Procollagen-C, Metra Biosystem Inc., U.S.A.; Best. MB 004);
Spezifität: Nichtspezifisch (Knochen, Synovialis etc.)
- DPD (Pyrilinks-D, Metra Biosystem Inc., U.S.A., Best. MB 005);
Spezifität: Knochen
- NTx (Osteomark-ELISA-Kit, Ostex, U.S.A., Best. 1274125);
Spezifität: Knochen

Es handelt sich hierbei sowohl um Sandwich- als auch um kompetitive Enzymimmunoassays im Mikrotiterplattenformat (6 Strips à 16 Kavitäten) zur quantitativen Bestimmung, deren Methodik sich etwas unterscheidet:

Bei den Sandwich-Assays (MMP-1, MMP-3, TIMP-1, YKL-40, CICP) liegt folgendes Reaktionsprinzip vor: Verdünnte Proben und Standards werden in doppelter Bestimmung in die Mikrotiterplatte pipettiert. Meist wird der in den Proben gesuchte Marker über an die Festphase gebundene Antikörper zur Bindung gebracht. Nach standardisierten Inkubationen und mehreren weiteren Waschschritten zur Entfernung ungebundener Reaktionspartner wird meist ein Enzymkonjugat (Antikörperenzymbindung) mithilfe eines zweiten Antikörpers gegen den gesuchten Marker zu einem „Sandwich“ übereinandergeschichtet gebunden, oder die Bindung des Enzymkonjugates erfolgt direkt. Nach Zugabe eines Substrates und weiterer Inkubation wird das gebundene Enzym zu einem farbigen Endprodukt umgesetzt. Die optische Dichte wird mit einem Lesegerät bestimmt und ist direkt proportional zur gesuchten Konzentration, die vom Gerät mithilfe der Standardkurve ermittelt wird.

Bei den kompetitiven Assays (DPD, NTx) konkurriert der gesuchte Marker während der Erstinkubation mit hinzupipetiertem oder festphasengebundenem Antigen um die Bindung an einen Antikörper (entweder festphasengebunden oder frei). Im Unterschied zu den Sandwich-Tests „raubt“ der gesuchte Marker hier Bindungsstellen für das künstliche Antigen, das nach einer Enzym-Substrat-Reaktion optisch quantifiziert wird. Dabei ist die optische Dichte des Farbreaktionsproduktes antiproportional zur gesuchten Konzentration.

Zur Qualitätssicherung der Bestimmungen wurden zusätzlich Kontrollen mit bekannter Konzentration bestimmt.

Bei den einzelnen Tests wurden folgende Arbeitsschritte durchgeführt:

Matrixmetalloproteinase-1:

- (Messbereich: 3-316ng/ml; Intra-/Intertest-VK laut Hersteller: 5,5-7,5%/11,6-13,2%)
Es war keine Vorverdünnung der Synoviaprobe erforderlich.
- 100µl Probe oder Standard/Loch; 2h Inkubation bei 20-25°C; 4x Waschen
- 100µl Antiserum; 2h Inkubation bei 20-25°C; 4x Waschen
- 100µl Peroxidase-Konjugat; 1h Inkubation bei 20-25°C; 4x Waschen
- 100µl TMB, 30 min Inkubation bei 20-25°C
- 100µl Stopplösung (1M Schwefelsäure); Messung bei 450nm

Matrixmetalloproteinase-3:

- (Messbereich: 1-316ng/ml; Intra-/Intertest-VK laut Hersteller: 2,1-4,8%/8,8-13,3%)
Die Proben mussten entsprechend der Proteinkonzentration oder dem ausgefallenen Ersttest zwischen Faktor 10 und 10^3 in Assay-Puffer verdünnt werden.
- 100µl Probe oder Standard/Loch; 1h Inkubation bei 2-8°C; 4x Waschen
- 100µl Peroxidase-Konjugat; 2h Inkubation bei 2-8°C; 4x Waschen
- 100µl TMB, 30min Inkubation bei 20-27°C
- 100µl Stopplösung (1M Schwefelsäure)
- Messung bei 450nm

Tissue inhibitor of metalloproteinases-1:

- (Messbereich: 3,13-50ng/ml; Intra-/Intertest-VK laut Hersteller: 8,9-11,4%/13,1-15,2%)
Eine Probenverdünnung von 1:10 bis 1:100 in Assay-Puffer war notwendig.
- 100µl Probe oder Standard/Loch; 2h Inkubation bei 20-25°C; 4x Waschen
- 100µl Peroxidase-Konjugat; 2h Inkubation bei 20-25°C; 4x Waschen
- 100µl TMB, 30min Inkubation bei 15-30°C
- 100µl Stopplösung (1M Schwefelsäure)
- Messung bei 450nm

Chondrex (YKL-40):

- (Messbereich: 20-300ng/ml; Intra-/Intertest-VK laut Hersteller: 5,6-6,6%/6,8-7,0%)
Die erforderliche Verdünnung der Proben in Rekonstitutionspuffer (Assay-Puffer) lag zwischen 1:5 und 1:100.
- 20µl Probe oder Standard/Loch
- 100µl Bindungsreagenz (capture solution); 1h Inkubation bei 18-25°C; 4x Waschen
- 100µl Enzym-Konjugat; 1h Inkubation bei 18-28°C; 4x Waschen
- 100µl Substratlösung; 1h Inkubation bei 18-28°C
- 100µl Stopplösung (NaOH) und Messung bei 405nm

C-terminales Propeptid des Kollagens Typ I (CICP):

- (Messbereich: 1-100ng/ml; Intra-/Intertest-VK laut Hersteller: 5,0-6,8%/6,6-7,2%)
Die Vorverdünnungsfaktoren der Proben betrugen zwischen 5 und 40 (Assay-Puffer).
- 100µl Probe oder Standard/Loch; 2h Inkubation bei 18-28°C; 3x Waschen
- 100µl polyklonaler Antikörper; 50min Inkubation bei 18-28°C; 3x Waschen
- 100µl Enzym-Konjugat; 50min Inkubation bei 18-28°C; 3x Waschen
- 100µl Substratlösung; 35min Inkubation bei 18-28°C
- 50µl Stopplösung (NaOH) und Messung bei 405nm

Deoxypyridinolin (DPD):

- (Messbereich: 5-500nmol/l; Intra-/Intertest-VK laut Hersteller: 5,5-8,4%/3,1-4,8%)
Die Proben bedurften keiner Verdünnung.
- 50µl Probe oder Standard/Loch
- 100µl Enzym-Konjugat; 2h Inkubation bei -2-8°C im Dunkeln; 3x Waschen
- 150µl Substratlösung; 1h Inkubation bei 18-28°C
- 100µl Stopplösung (NaOH) und Messung bei 405nm

Quervernetzte N-Telopeptide des Kollagens Typ I (NTx):

- (Messbereich: 1-3000nM; Intra-/Intertest-VK (Hersteller): 19% bei 26nM sonst 5-8%/3-5%)
Es war keine Probenverdünnung erforderlich.
- 25µl Probe oder Standard/Loch
- 200µl Konjugatlösung; 90min Inkubation bei 18-28°C; 5x Waschen
- 200µl Substratlösung; 15min Inkubation bei 18-28°C
- 100µl Stopplösung (1M Schwefelsäure) und Messung bei 450 nm

Proteoglykane und Glycosaminoglykane:

Der Test (The Blyscan Proteoglykan & Glycosaminoglycan Assay, Biocolor Ltd., N.Ireland, Best. B 1000) unterscheidet sich völlig von der Methodik der anderen Tests. Er liefert den Nachweis folgender Glycosaminoglykane:

- Chondroitin-Sulfate
- Keratan-Sulfate
- Dermatan-Sulfat
- Heparan-Sulfate

Dieser Test ist nicht knorpelspezifisch und weist Metaboliten des Knorpels, des Knochens und der Synovialis nach.

Der Messbereich liegt zwischen 0 und 5pg/ml. Es erfolgte keine Verdünnung, jedoch wurde eine Vorbehandlung der Proben nach einem modifizierten Schema der Firma Biocolor vorgenommen:

- Zentrifugierung der Proben bei 1000g für 10min
- Mischung von 200 µl Probe und 200 µl Cetylpyridiniumchlorid
- 2h Inkubation bei 37°C
- Abzentrifugierung bei 5000g für 10min
- Zugabe von 1ml Ethanol zum Pellet, 5min Inkubation bei 37°C
- Zentrifugierung bei 5000g für 10min
- Trocknung des Pellets in der Vakuumzentrifuge

Assay:

- Zugabe von 1ml spezifischen Farbstoffes zum Pellet
- 30min Inkubation auf dem Schüttler bei 1000rpm
- Zentrifugierung bei 8000g für 10min
- Zugabe von 200µl Dissoziations-Reagenz zum Pellet
- Transfer in eine Mikrotiterplatte
- Photometrische Messung des gelösten Glykosamin-Farbstoff-Komplexes bei 650nm

2.4.2 Kernspintomographie

Die kernspintomographische Untersuchung des Knorpels und subchondralen Knochens wurde in 2 Zentren mit den Geräten Gyroscan NT-T 10 Compact Plus (1 tesla) der Firma Philips und Symphonie (1,5 tesla) der Firma Siemens durchgeführt. Die Untersuchungszeitpunkte waren präoperativ, 6 Wochen, 6 Monate sowie 1 Jahr postoperativ. Dabei wurden Wichtungen zur Darstellung des Knochens und spezifische Knorpelwichtungen gemäß dem Stanford-Protokoll [LANG et al. 1998] verwendet. Die knorpelsensitiven Sequenzen kamen teilweise (abhängig vom Zentrum) nach intravenöser Injektion von Kontrastmittel (Gadolinium) zur Anwendung.

NMR-Protokoll zur osteochondralen Darstellung:

Tab. 5:

Ort der Läsion	Sequenzen
Femorotibiales Kompartiment	1. Protonendichte-Sequenz (TSE) coronal 2. T2 SPIR coronal 3. Protonendichte-Sequenz (TSE) sagittal 4. T1 FFE 3D sagittal 5. T1 FFE 3D coronal
Femoropatellares Kompartiment	1. Protonendichte-Sequenz (TSE) sagittal 2. T2 SPIR sagittal 3. Protonendichte-Sequenz (TSE) axial 4. T1 FFE 3D axial 5. T1 FFE 3D sagittal

SPIR (spektral presaturation by inversion recovery; Knochenödendarstellung)

FFE (fast-field-echo; Gradientenechosequenz; Knorpelsensitive Sequenz bester Auflösung)

TSE (turbo-spin-echo; Sequenz mit guter Differenzierung zw. Synovia, Knorpel u. Knochen)

2.4.3 Klinischer Score nach Larson

Die klinische Bewertung des Kniegelenkes wurde mit dem von Larson et al. 1991 veröffentlichten Score durchgeführt. Dieser für Kniegelenksendoprothesen eingeführte Score ist auch für die allgemeine Anwendung geeignet. Dabei sind die verschiedenen Untersuchungskriterien des Scores wie folgt gewichtet [KRÄMER et al. 1993]:

- Schmerz	- 30 %
- Gang	- 10 %
- ADL/Funktion	- 10 %
- Muskelkraft	- 10 %
- Bewegungsausmaß	- 20%
- Flexionskontraktur	- 10%
- Instabilität (objektiv)	- 10%

Die Objektivität des Scores liegt bei 50% [KRÄMER et al. 1993].

3 ERGEBNISSE

3.1 Operative Defektbehandlung

Autologe Chondrozytentransplantation

Abhängig von Defektgröße und Kulturwachstum wurden entsprechende Zellzahlen transplantiert. Durchschnittlich lag die Zellzahl bei 15,96 Millionen und ihre Vitalität bei 93,24%. Das Transplantationsprotokoll der einzelnen Patienten charakterisierte sich nach Tabelle 6 wie folgt:

	Zellen (Mill.)	Vitalität (%)	Defektgröße	Lokalisation	Outerbridge / Ätiologie
Patient 1	21	92	8	F	IV / OD
Patient 2	21	75	6,25+5	F + T	II-IV / CM/T
Patient 3	12	92	3	P	III-IV / CM/T
Patient 4	27	92	5,25	F	IV / CM/T
Patient 5	14	97	6+6	F + P	III-IV / OD
Patient 6	13	86	6	F	IV / CM/T
Patient 7	15	95	2,5	F	IV / OD
Patient 8	34	94	2,7	F	I –III / OD
Patient 9	16,5	88	3	F	IV / OD
Patient 10	28	94	4,5+2,5	F + P	IV / CM/T
Patient 11	25	97	4,5	F	IV / CM/T
Patient 12	5	94	3	F	III-IV / CM/T
Patient 13	6	100	5	T	III / CM/T
Patient 14	8	94	3	F	IV / CM/T
Patient 15	7,5	97	2,25	F	III-IV / CM/T
Patient 16	12	98	5	F	IV / CM/T
Patient 17	6,4	100	5	F	IV / OD

Tab. 6: Zellzahl, Vitalität, Defektgröße in cm², Lokalisation (F = Femur; T = Tibia; P = Patella), Klassifikation nach Outerbridge (°I-°IV) und Defekursache (OD = Osteochondrosis dissecans oder CM/T = Chondromalazie oder Trauma) bei der ACT.

Osteochondrale Autologe Transplantation

Entsprechend der Defektgröße und der Defektlage wurden unterschiedliche Zylinderzahlen mit unterschiedlichen Durchmessern verwendet. Durchschnittlich lag die Anzahl der Zylinder bei 4,67 (Median: 5,5 Zylinder pro Eingriff), der durchschnittliche Durchmesser bei 4,86cm (Median: 4,5cm). Aus Tabelle 7 gehen die Details durchgeführter osteochondraler Transplantationen hervor. Den Vergleich zwischen Defektfläche und ihrer Abdeckung durch hyalinen Knorpel in % (Transplantatfläche) gibt Abbildung 1 wieder. Dabei betrug die Abdeckung der Defektfläche durch ein Zylindermosaik hyalinen Knorpels zwischen 64% und 80% (Mittel: 71,8 %, Median: 72,5%).

	Zahl der Zylinder	Durchmesser	Entnahmeort	Defektgröße	Lokalisation	Outerbridge / Ätiologie
Patient 1	6	4,5	2 med./4 lat.GL	1,5	F	IV / OD
Patient 2	7	4,5	7 med./lat.GL	1,5	F	III-IV / OD
Patient 3	6	5x4,5/1x3,5	6 med./lat.GL	1,25	F	III-IV / OD
Patient 4	5	4,5	1 med./4 lat.GL	1,25	F	III / OD
Patient 5	2	8	2 med.GL	1,25	F	III-IV / CM/T
Patient 6	2	6,5	2 med.GL	0,85	F	IV / OD

Tab. 7: Zahl der Zylinder, Zylinderdurchmesser in mm, Entnahmeort am medialen / lateralen Rand des femoralen Gleitlagers der Patella, Defektgröße in cm², Lokalisation (F = Femur), Klassifikation nach Outerbridge (°I-°IV) und Defektursache (OD = Osteochondrosis dissecans oder CM/T = Chondromalazie oder Trauma) bei der OAT.

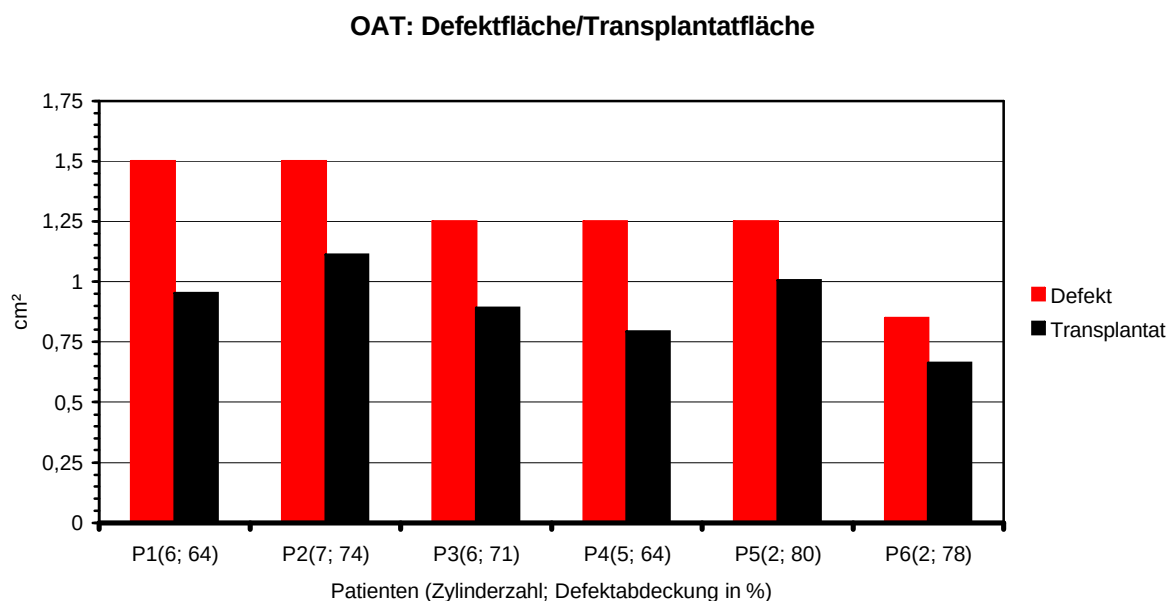


Abb. 1: Vergleich von Defektfläche und transplantierte Fläche hyalinen Knorpels in cm² (Summe der einzelnen Zylinderflächen) und prozentuale Defektdeckung durch das Zylindermosaik bei der OAT.

Mikrofrakturierung

Die Defekte wurden mit circa 3-4 Perforationen pro cm^2 mikrofrakturiert und charakterisierten sich nach Tabelle 8 wie folgt:

	Defektgröße	Lokalisation	Outerbridge / Ätiologie
Patient 1	6,25	F	IV / OD
Patient 2	3	F	IV / CM/T
Patient 3	3+3	F+T	III-IV / CM/T
Patient 4	7	F	IV / CM/T
Patient 5	1,5	F	III-IV / OD
Patient 6	6+6	F+T	IV / CM/T
Patient 7	4+2,25	F+F	IV / CM/T
Patient 8	9+6	F+T	IV / CM/T
Patient 9	6+2	F+T	III-IV+IV / CM/T

Tab. 8: Defektgröße in cm^2 , Defektlokalisierung (F = Femur; T = Tibia), Klassifikation nach Outerbridge (°I-°IV) und Defektursache (OD = Osteochondrosis dissecans oder CM/T = Chondromalazie oder Trauma) bei der MF.

Operationsmethode und Defektfläche

Abbildung 2 stellt die Mediane der Defektflächen pro Kniegelenk der verschiedenen Operationsmethoden dar.

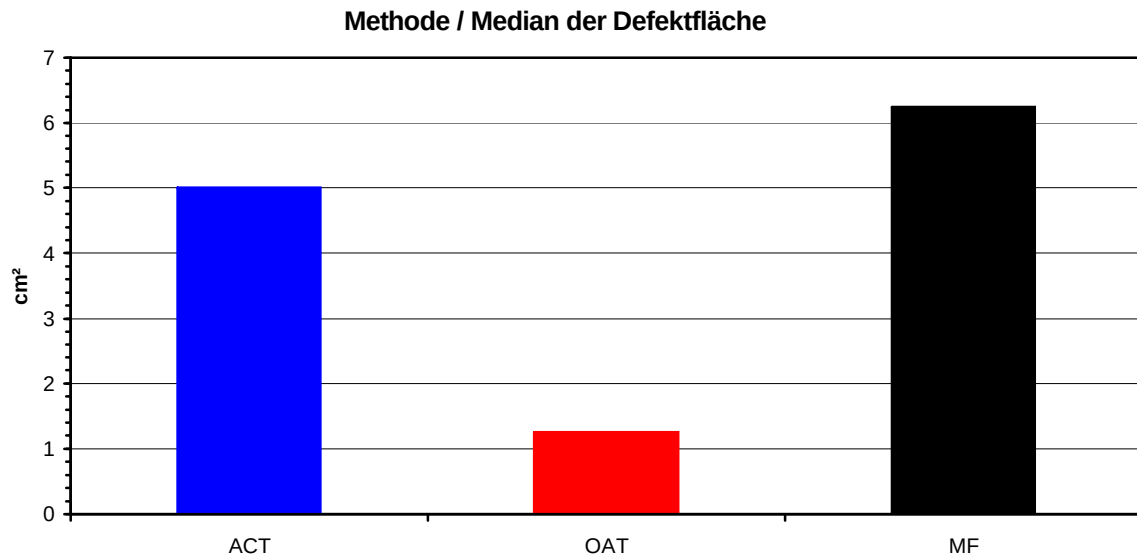


Abb. 2: Zusammenhang zwischen angewandter Operationsmethode und Median der Defektfläche pro Kniegelenk in cm².

Studienabbruch und unerwünschte Ereignisse

Im Verlauf der Studie kam es zu einem Studienabbruch von 23,08% der Patienten, die ausschließlich in die Kategorie des dritten Abbruchkriteriums fielen. Die Gründe wurden eingehend verifiziert und standen in keinem kausalen Zusammenhang mit dem Operationsergebnis der jeweiligen Methoden. Bei den Gründen handelte es sich vielmehr um den zeitlichen Aufwand, die Entfernung vom Wohnort und um Bedenken zu den Risiken der Gelenkspülungen im Rahmen der Aufklärung.

Bei 12,5% der Patienten traten leichtere unerwünschte Ereignisse auf, die nicht mit der Operation in Zusammenhang standen. Es handelte sich um klinische Verschlechterung durch Reizzustände des Kniegelenkes. Gründe waren Überbelastung durch Sport und Beruf unter Nichteinhaltung des Rehabilitationsschemas und in einem Fall ein Sturz mit den Gehhilfen. Ein Patient entwickelte eine Beinvenenthrombose und wurde marcumarisiert. Die Verteilung auf die Vergleichsgruppen war zwischen 11 und 17%.

3.2 Biochemische Marker

Da Patienten im Laufe der Studie ausschieden, nicht zum Untersuchungstermin kamen oder zu verschiedenen Zeitpunkten kein Untersuchungsmaterial gewonnen werden konnte, ist die Anzahl der Proben pro Patient zum Teil unvollständig (siehe Tab. 9). Die zu den verschiedenen Messzeitpunkten in den Diagrammen angegebene Anzahl (N) kann in Abweichung zu Tabelle 9 geringer sein, da Konzentrationen bei verschiedenen Markern unterhalb des Detektionslimits lagen.

Tab. 9: Probenmaterial (S = Synovia 1:50 in NaCl) und Ausfälle (ø).

	OP-Methode	t0	t6	t12	t26	t52
Patient 1	ACT 1	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 2	ACT 2	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 3	ACT 3	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 4	ACT 4	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 5	ACT 5	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 6	ACT 6	ø	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 7	ACT 7	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 8	ACT 8	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	ø
Patient 9	ACT 9	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 10	ACT 10	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 11	ACT 11	5 x 1ml S	5 x 1ml S	ø	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 12	ACT 12	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	ø	ø
Patient 13	ACT 13	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 14	ACT 14	5 x 1ml S	ø	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 15	ACT 15	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 16	ACT 16	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 17	ACT 17	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 18	OAT 1	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 19	OAT 2	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 20	OAT 3	5 x 1ml S	5 x 1ml S	ø	ø	ø
Patient 21	OAT 4	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 22	OAT 5	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 23	OAT 6	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 24	MF 1	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 25	MF 2	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 26	MF 3	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 27	MF 4	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 28	MF 5	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 29	MF 6	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 30	MF 7	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 31	MF 8	5 x 1ml S	ø	ø	5 x 1ml S	5 x 1ml S
Patient 32	MF 9	5 x 1ml S	ø	ø	5 x 1ml S	5 x 1ml S

Protein

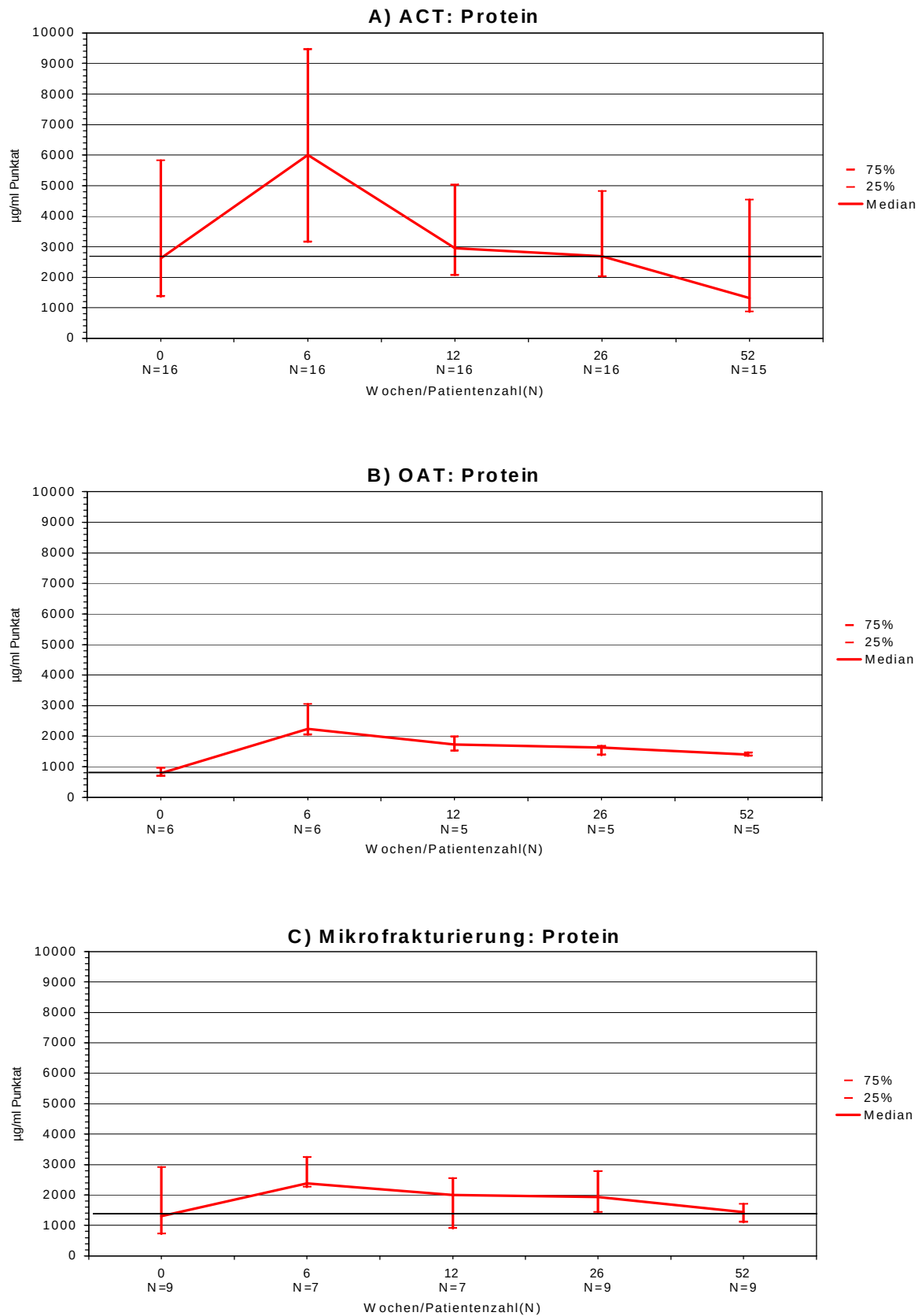


Abb. 3: Darstellung von Medianen und Quartilen der Proteinkonzentration des Synoviapunktates vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

Protein:

ACT (Abb. 3A): Der Median der Proteinkonzentration liegt im gesamten Beobachtungszeitraum zwischen 1323 (nach 52 Wochen) und 6000,5µg/ml Synoviapunktat (nach 6 Wochen).

Er steigt nach 6 Wochen auf 282% des präoperativen Basiswertes und fällt nach 52 Wochen auf 50% desselben.

Die Streuung der Werte anhand der Interquartilabstände ist präoperativ (4445o.E.) und nach 6 Wochen (6305,25o.E.) am größten. Nach 52 Wochen ist sie deutlich geringer (3668,5o.E.).

OAT (Abb. 3B): Hier wird der Tiefstwert des Medians präoperativ, der Höchstwert nach 6 Wochen beobachtet. Sie liegen bei 790,25 und 2230µg/ml.

Nach 6 Wochen steigt der Median auf 282% des Ausgangswertes und fällt von UZ zu UZ bis zu einem Jahr ab, nicht jedoch unter den Basiswert, sondern auf 176% (1391s.E.) desselben.

Über den gesamte Beobachtungszeitraum lassen sich kummulierende Werte beobachten.

MF (Abb. 3C): Tiefst- und Höchstwert des Medians treten auch hier präoperativ und nach 6 Wochen auf. Sie betragen 1305,5 und 2390µg/ml.

Der Höchstwert bei t6 erreicht 183% des Basisniveaus und fällt dann bis zu t52 auf 1438µg/ml knapp über dem Ausgangsniveau liegend (110%) ab.

Präoperativ ist die Wertestreuung am stärksten, nach 6 und 52 Wochen gering ausgeprägt.

Vergleich: Die absoluten (proteinbezogenen) Baseline-Konzentrationen des Medians bei t0 unterscheiden sich deutlich (Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{MF}=49,64\%$ und $C_{OAT}=30,05\%$).

Bei der ACT fällt die Proteinkonzentration unter das Ausgangsniveau, nicht jedoch bei der OAT. Bei der MF wird es fast erreicht (Relativ zum BW bei t52: $C_{ACT}=50\%_{BW}$; $C_{MF}=110\%_{BW}$; $C_{OAT}=176\%_{BW}$). Sonst sind die Tendenzen der Kurvenverläufe gleich.

Die Interquartilabstände sind bei der ACT am größten, bei der MF und der OAT gering.

Nach einem Jahr liegen die absoluten Endwerte im Vergleich eng zusammen, wobei hier der ACT-Wert leicht unter den anderen Werten liegt: Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=105,14\%$ und $C_{MF}=108,69\%$.

3.2.2 Knorpelmarker

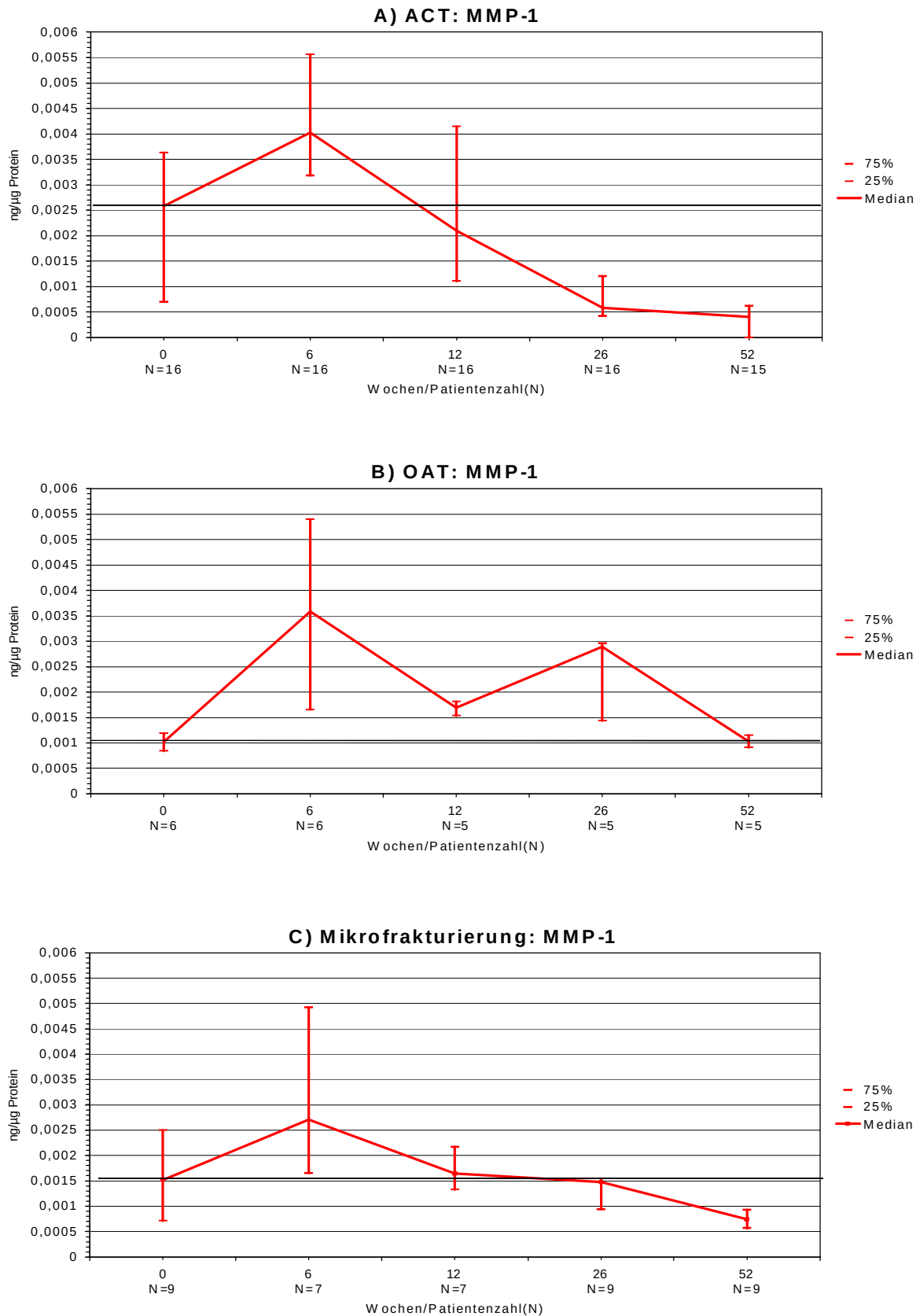


Abb. 4: Darstellung von Medianen und Quartilen der MMP-1-Konzentration des Synoviapunktes vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

MMP-1:

ACT(Abb. 4A): Der Höchstwert des Medians wird bei t6 (0,040287ng/μg Protein), der Tiefstwert bei t52 (0,0004s.E.) beobachtet.

Nach 6 Wochen steigt der Median auf seinen Höchstwert von 156% des Basiswertes und fällt dann kontinuierlich bis auf seinen Tiefstwert nach 52 Wochen (16% des BW) ab.

Die Streuung ist von präoperativ bis t12 relativ hoch, danach gering.

OAT (Abb. 4B): Die Kurve des Medians weist 2 Maxima bei t6 (0,00358567s.E.) und t26 (0,00289623s.E.) und 2 Minima präoperativ (0,00102356s.E.) und nach 52 Wochen (0,00102876s.E.) auf.

Sie steigt nach 6 Wochen auf 352% des BW an, sinkt nach 12 Wochen auf 166% und erreicht in etwa Ausgangsniveau (t52: 101%) nach zwischenzeitlichem Anstieg (t26: 284%)

Präoperativ sowie nach 12 und 52 Wochen ist die Streuung sehr gering, nach 6 Wochen hoch.

MF (Abb. 4C): Höchst- (0,00271076s.E.) und Tiefstwert (0,007361s.E.) werden nach 6 und 52 Wochen beobachtet.

Der Median steigt nach 6 Wochen auf 180% des BW und fällt danach von UZ zu UZ bis auf 49% desselben (52 Wochen) ab.

Die Streuung ist bei t6 am höchsten und auch bei t0 relativ hoch. Im Übrigen ist sie gering.

Vergleich: Das Niveau der Baseline des Medians der ACT ist gegenüber den anderen Methoden erheblich erhöht (Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=39,67\%$ und $C_{MF}=58,84\%$).

Nach 6 Wochen erreichen alle Kurven der Mediane ihr Maximum. Nach 52 Wochen weist die ACT den größten Abfall unter den BW gefolgt von der MF auf. Der OAT-Median liegt jedoch knapp über dem BW (Relativ zum BW bei t52: $C_{ACT}=16\%_{BW}$; $C_{MF}=49\%_{BW}$; $C_{OAT}=101\%_{BW}$). Sonst sind die Verlaufstendenzen gleich, mit Ausnahme der OAT nach 26 Wochen (2. Maximum) mit sehr geringer Streuung nach oben und sehr starker nach unten.

Bei allen Methoden ist die Streuung nach 6 Wochen hoch und nach einem Jahr gering. Präoperativ ist sie bei der OAT gering, bei den anderen Methoden relativ hoch.

Die absoluten Endwerte der MF und vor allem der OAT übersteigen den der ACT deutlich: Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{MF}=184,03\%$ und $C_{OAT}=257,2\%$.

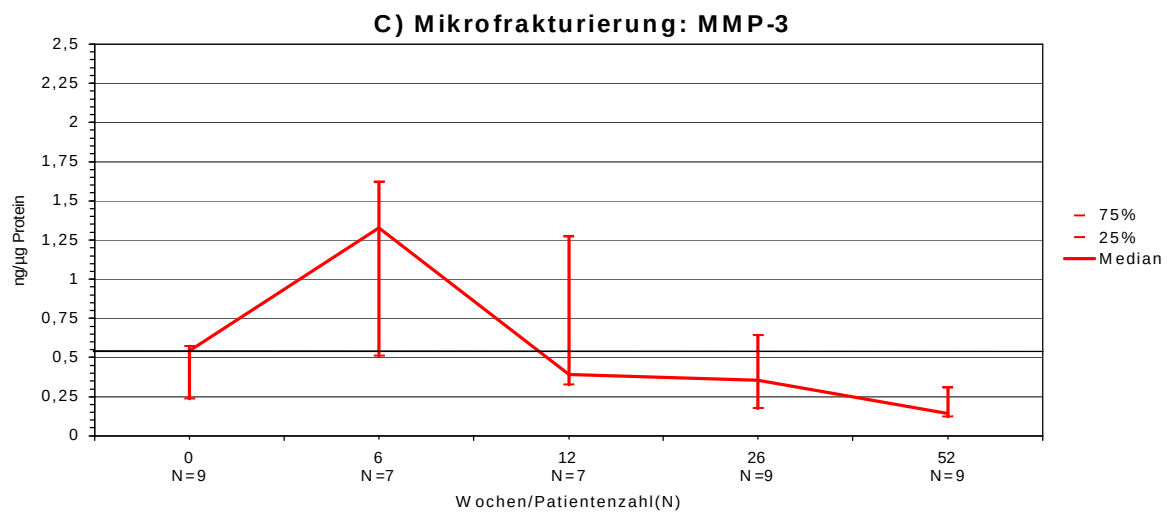
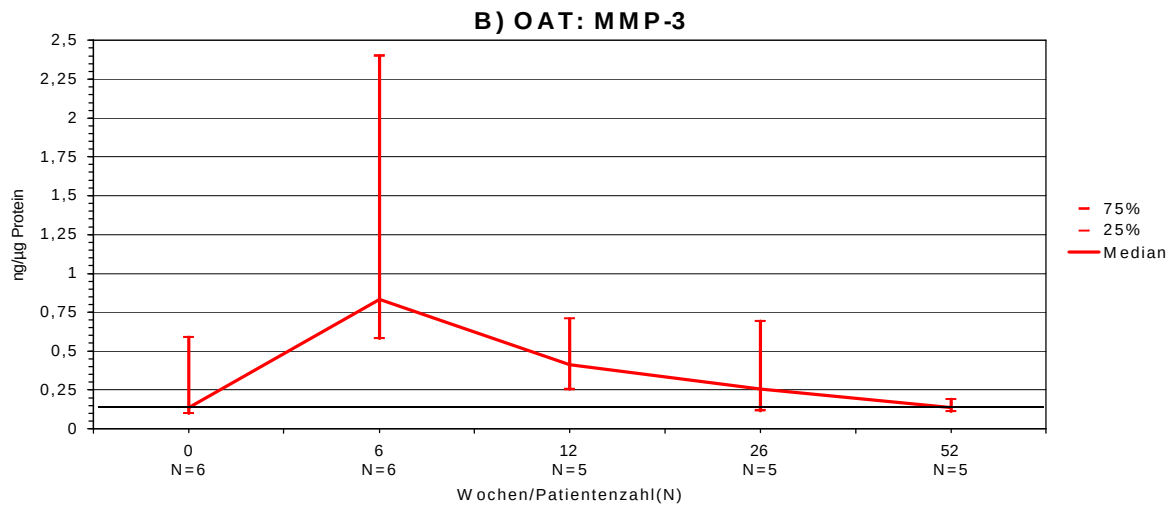
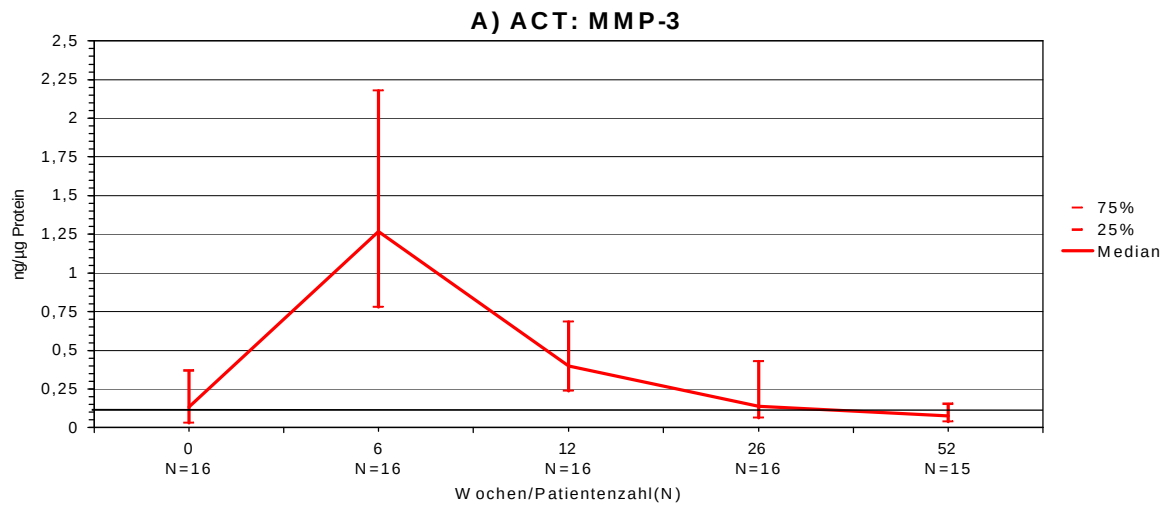


Abb. 5: Darstellung von Medianen und Quartilen der MMP-3-Konzentration des Synovialpunktes vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

MMP-3:

ACT (Abb. 5A): Nach 6 Wochen erreicht die Kurve des Medianes ihren Höchstwert (1,26701796ng/μg Protein), nach 52 Wochen ihren Tiefstwert (0,07375s.E.).

Sie steigt nach 6 Wochen auf 955% des BW und fällt dann kontinuierlich bis zum Zeitpunkt nach einem Jahr auf 56% des Ausgangsniveaus ab.

Die Interquartilabstände sind gering mit Ausnahme des Zeitpunktes t6.

OAT(Abb. 5B): Das Kurvenmaximum liegt ebenfalls bei t6 (0,83217256s.E.), das Minimum bei t0 (0,13464855s.E.). Es entspricht in etwa dem Wert nach 52 Wochen (0,134957118s.E.).

Die Kurve durchläuft bei t6 ihr Maximum (618% des BW) und fällt dann auf Basisniveau ab.

Die Streuung bei t6 ist hoch, sonst mäßig und bei t52 gering ausgeprägt.

MF(Abb. 5C): Maximum und Minimum treten bei t6 (1,32953769s.E.) und t52 (0,14016s.E.) in Erscheinung.

Der Kurvenverlauf charakterisiert sich mit Höchstwert bei t6 (245% des BW) und anschließend kontinuierlichem Abfall bis zu t52 (26% des BW), wobei der BW schon nach 12 Wochen unterschritten wird.

Die Streuung ist mäßig bis gering mit Ausnahme von t6 und t12.

Vergleich: Die fast identischen Basisniveaus der ACT und OAT liegen erheblich unter dem der MF(Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{ACT}=24,78\%$ und $C_{OAT}=24,77\%$).

Nach 6 Wochen durchlaufen alle Kurven ihr Maximum mit anschließend kontinuierlichem Abfall. Das relative Maximum ist bei der ACT am stärksten ausgeprägt, gefolgt von der OAT. Die MF mit geringstem relativem Maximum fällt nach einem Jahr am deutlichsten unter den BW. Auch die ACT fällt unter diesen, nicht jedoch die OAT, deren Kurve in etwa Ausgangsniveau erreicht (Relativ zum BW bei t52: $C_{MF}=26\%_{BW}$; $C_{ACT}=56\%_{BW}$; $C_{OAT}=100,02\%_{BW}$).

Die Streuung ist präoperativ und nach 52 Wochen bei allen Methoden mäßig bis gering ausgeprägt. Große Interquartilabstände sind vor allem bei t6 zu beobachten.

Beim Vergleich der absoluten Endwerte liegen jene der OAT und der MF dicht beieinander, deutlich darunter hingegen der ACT-Wert: Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=96,29\%$ und $C_{ACT}=52,62\%$.

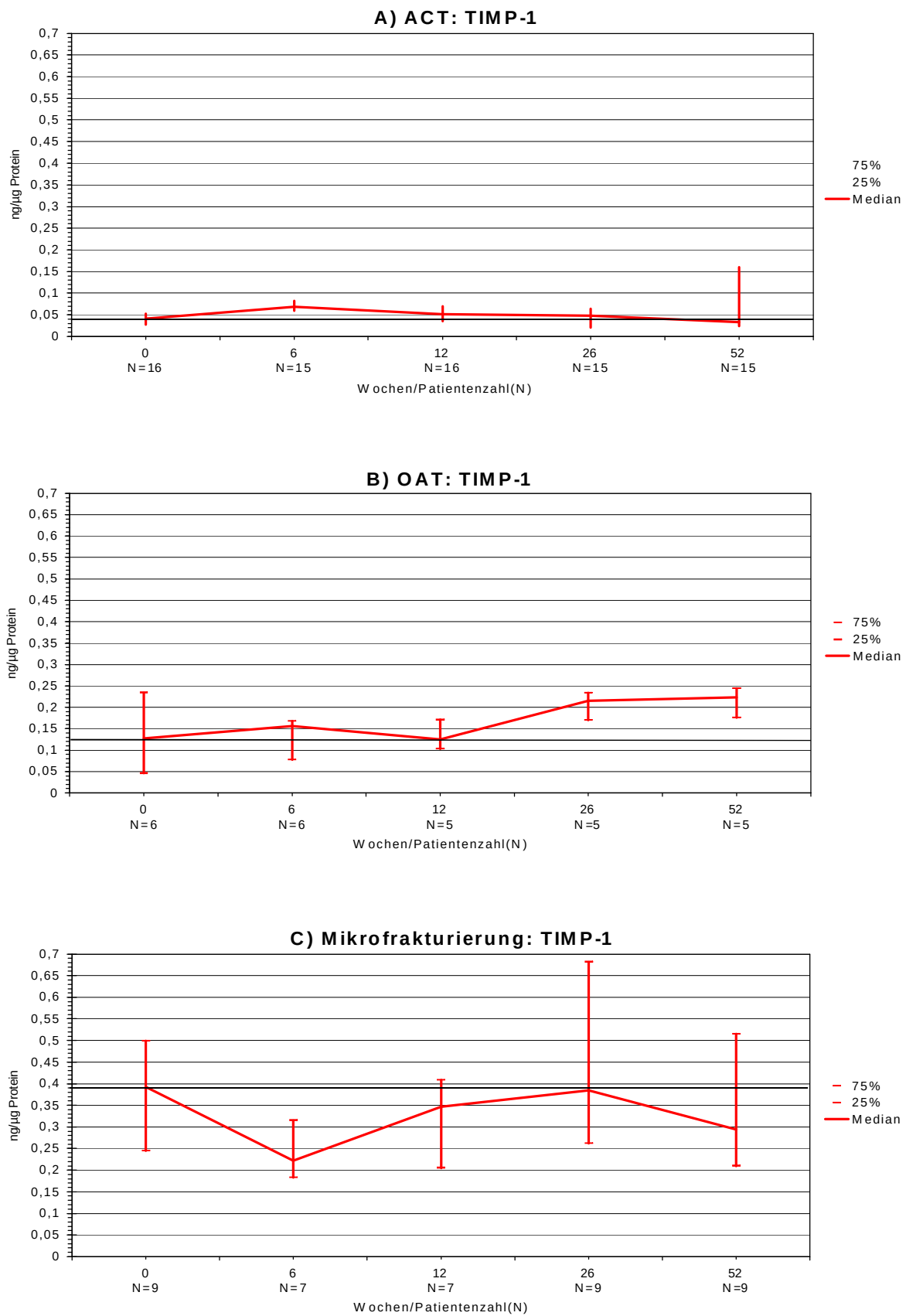


Abb. 6: Darstellung von Medianen und Quartilen der TIMP-1-Konzentration des Synoviapunktates vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

TIMP-1:

ACT (Abb. 6A): Höchst- (0,06818142 ng/μg Protein) und Tiefstwert (0,03347s.E.) treten auch hier nach 6 und 52 Wochen auf.

Im Verlauf steigt die Kurve auf 165% des BW an und fällt dann stetig bis zu t52 auf 81% desselben ab.

Mit Ausnahme des oberen Interquartilabstandes bei t52 ist die Streuung sehr gering.

OAT (Abb. 6B): Der Höchstwert wird nach 52 Wochen erreicht (0,22293314s.E.), die Tiefstwerte liegen präoperativ (0,12672876s.E.) und bei t12 (0,124540682s.E.).

Die Kurve steigt nach 6 Wochen auf 123% des Ausgangsniveaus, fällt zwischenzeitlich bei t12 ab und steigt dann wieder kontinuierlich bis zu t52 auf 176% des BW an.

Die Streuung bei t6, t12, t26 und t52 ist gering. Präoperativ ist sie erhöht.

MF (Abb. 6C): Minima sind bei t6 (0,2222839s.E.) und t52 (0,29393803s.E.), Maxima bei t0 (0,39325929s.E.) und t26 (0,3846001s.E.) zu beobachten.

Die Kurve fällt bei t6 auf ein absolutes Minimum von 57% des Ausgangsniveaus, steigt danach bei t12 und t26 wieder an und fällt bei t52 wieder auf 75% des BW ab.

Die Interquartilabstände sind mit Ausnahme von t6 stark ausgeprägt.

Vergleich: Es liegt eine deutliche Differenz zwischen den Baselines der verschiedenen Operationsmethoden vor (Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=32,32\%$ und $C_{ACT}=10,49\%$).

Bei der MF und der ACT fällt der Median deutlich unter den BW, nicht jedoch bei der OAT. Hier liegt der Median nach 52 Wochen deutlich über dem Ausgangsniveau (Relativ zum BW bei t52: $C_{MF}=76\%_{BW}$; $C_{ACT}=81\%_{BW}$; $C_{OAT}=176\%_{BW}$).

Eine hohe Kumulation der Werte wird bei der ACT und der OAT beobachtet, wohingegen die Streuung bei der MF stark ausgeprägt ist.

Bei Betrachtung der absoluten Werte nach einem Jahr bleibt der ACT-Wert wie bei t0 deutlich unter den Werten der anderen Methoden. Der OAT-Wert liegt enger an dem der MF: Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=75,85\%$ und $C_{ACT}=11,39\%$.

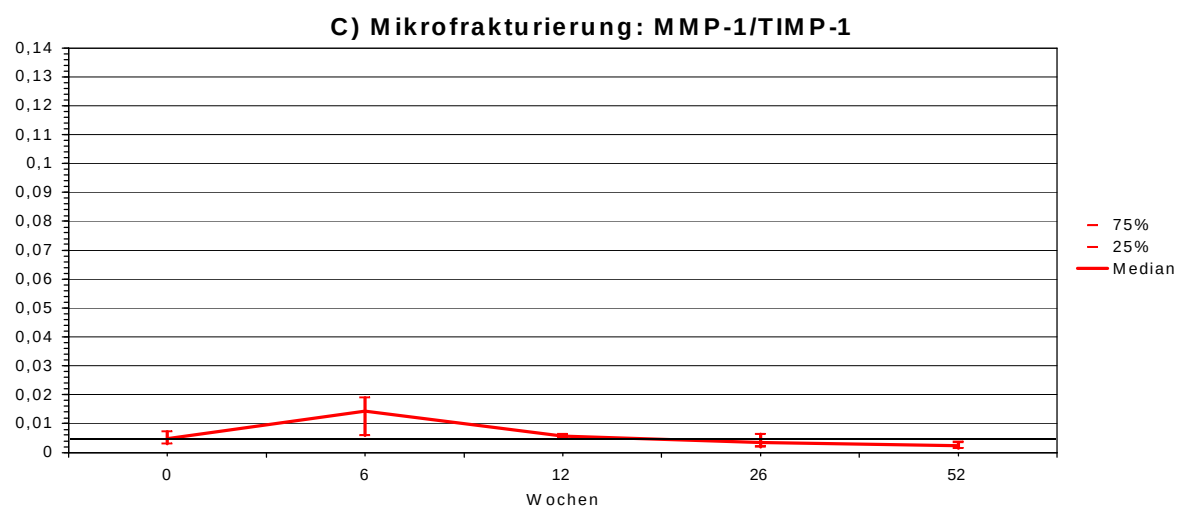
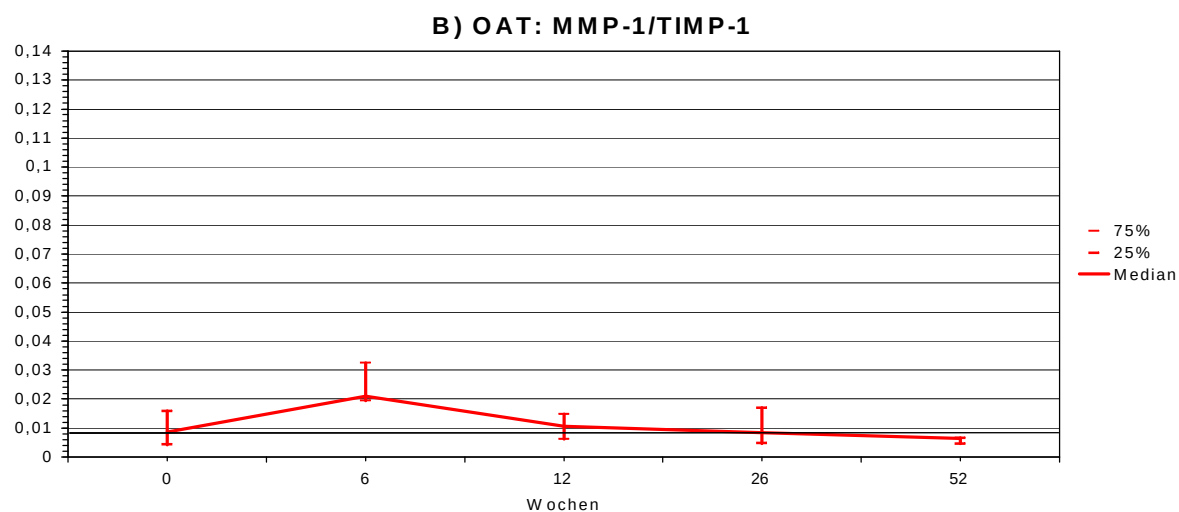
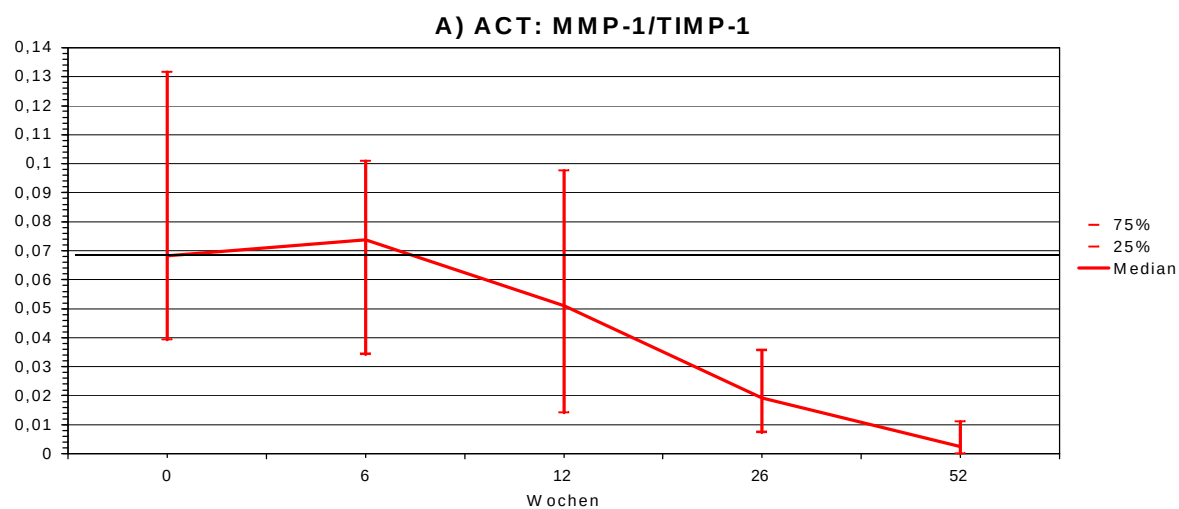


Abb. 7: Darstellung von Medianen und Quartilen des Quotienten der Konzentrationen von MMP-1 und TIMP-1 des Synovialpunktes vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

Quotient MMP-1/TIMP-1:

ACT(Abb. 7A): Bei t6 beobachtet man den Höchst- (0,07376629o.E.), bei t52 den Tiefstwert (0,00254247o.E.) der Kurve des Medianes über den Beobachtungszeitraum.

Nach 6 Wochen steigt der Graph auf 108% des BW an und sinkt dann kontinuierlich bis zu t52 auf 4% des Ausgangsniveaus ab.

Die Streuung der Werte ist bei t0, t6 und t12 stark, ansonsten mäßig bis gering ausgeprägt.

OAT(Abb. 7B): Maximum und Minimum liegen ebenfalls bei t6 (0,02105525o.E.) und t52 (0,00652047o.E.).

Die Kurve steigt bei t6 auf 245% des BW an und sinkt dann von UZ zu UZ bis zum Erreichen des Tiefstwertes nach 52 Wochen (76 % des BW) ab.

Im gesamten Beobachtungszeitraum ist die Streuung gering.

MF (Abb. 7C): Kurvenmaximum und Minimum werden bei t6 (0,01428867o.E.) und t52 (0,00231115o.E.) erreicht.

Die Kurve verläuft über einen Anstieg von 292% des BW bei t6 von UZ zu UZ abfallend bis zum Minimum bei t52 (47% des BW).

Die Interquartilabstände bei t6 sind mäßig und sonst sehr gering ausgeprägt.

Vergleich: Die Basisniveaus liegen weit auseinander (Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=12,6\%$ und $C_{MF}=7,17\%$).

Der relative Anstieg in Bezug zum BW bei t6 ist bei der MF am größten, gefolgt von der OAT und der ACT. Der Median des Quotienten liegt nach 52 Wochen bei der ACT deutlicher unter dem Ausgangsniveau als bei der MF und der OAT (Relativ zum BW bei t52: $C_{ACT}=4\%_{BW}$; $C_{MF}=47\%_{BW}$; $C_{OAT}=76\%_{BW}$).

Bei der OAT und der MF beobachtet man kleine Interquartilabstände, wohingegen die Streuung von t0 bis t26 bei der ACT stark ausgeprägt ist.

Nach einem Jahr gleichen sich die Werte der ACT und MF fast an. Der OAT-Wert liegt deutlich über ihnen: Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{MF}=90,99\%$ und $C_{OAT}=256,89\%$.

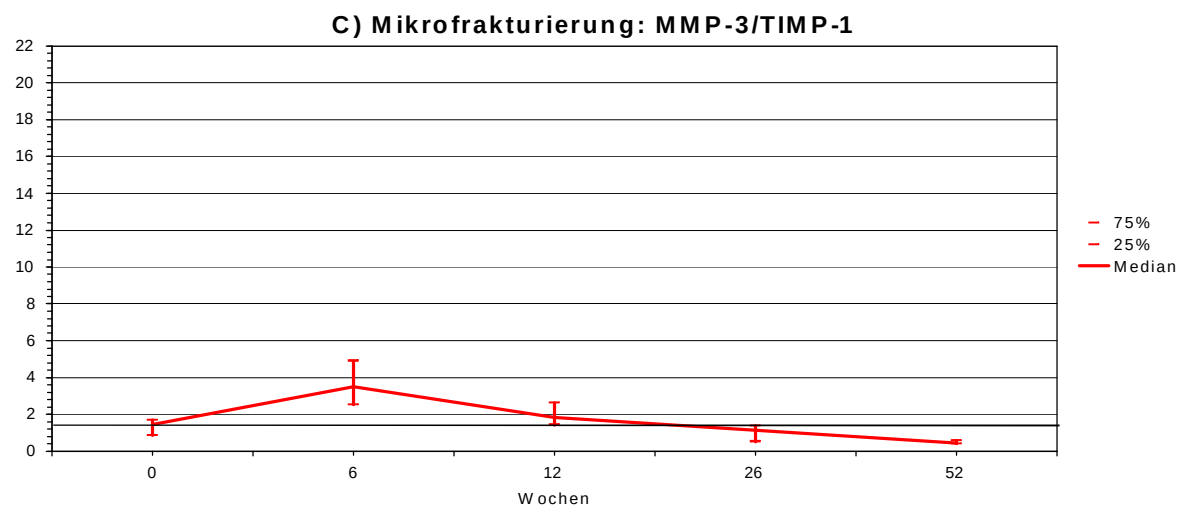
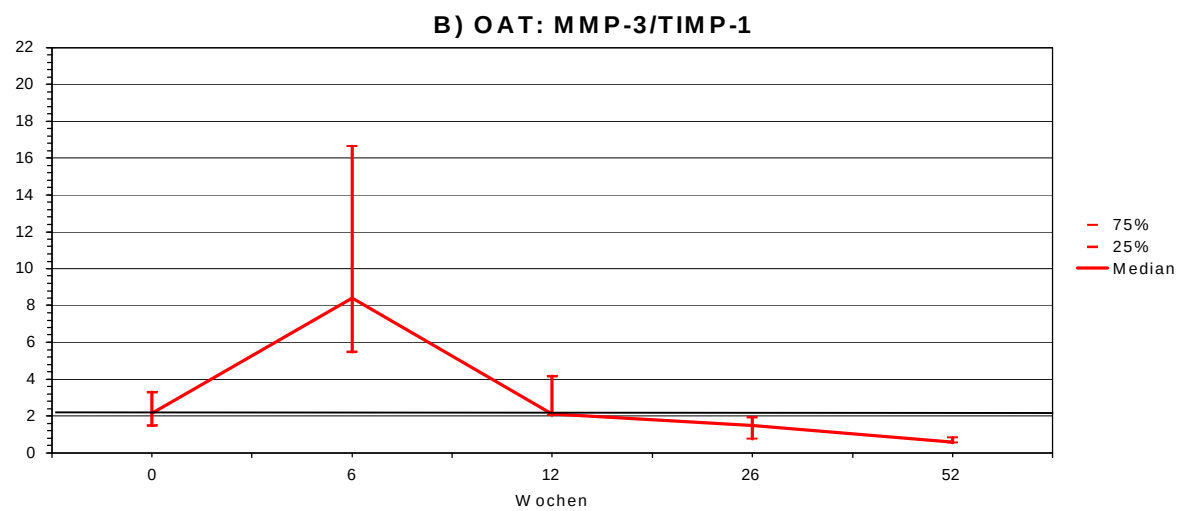
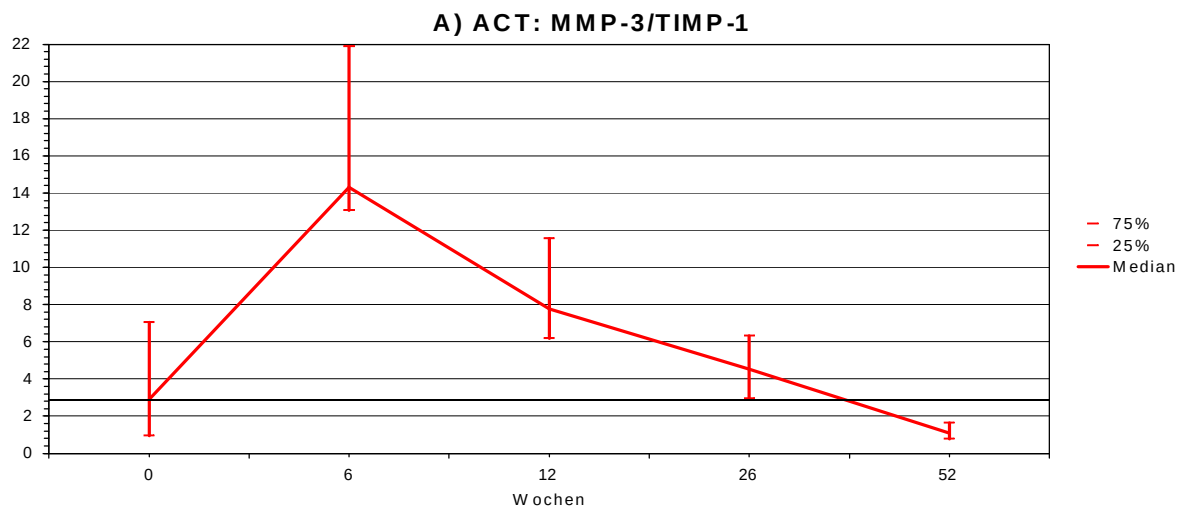


Abb. 8: Darstellung von Medianen und Quartilen des Quotienten der Konzentrationen von MMP-3 und TIMP-1 des Synoviapunktates vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

Quotient MMP-3/TIMP-1:

ACT (Abb. 8A): Das Kurvenmaximum tritt nach 6 (14,3071595o.E.), das Minimum nach 52 Wochen (1,089632507o.E.) in Erscheinung.

Der Kurvenanstieg nach 6 Wochen beträgt 492% des BW. Danach fällt die Kurve von UZ zu UZ bis auf 37% des BW nach 52 Wochen ab.

Die Interquartilabstände nach 52 Wochen sind gering, im übrigen mäßig bis stark ausgeprägt.

OAT (Abb. 8B): Der Wertebereich der Kurve der Mediane liegt zwischen 0,599637681o.E. nach 52 Wochen und 8,39727917o.E. nach 6 Wochen.

Nach 6 Wochen erreicht die Kurve ihr Maximum von 390% des Basisniveaus. Sie sinkt dann bis zum Zeitpunkt nach 52 Wochen bis auf ihr Minimum (28% des BW) ab.

Bei t6 ist die Streuung stark, im restlichen Untersuchungszeitraum gering ausgeprägt.

MF (Abb. 8C): Die Kurvenwerte liegen zwischen 0,448713551o.E. nach 52 Wochen und 3,49780381o.E. nach 6 Wochen.

Die Kurve steigt nach 6 Wochen auf 241% des BW und fällt dann stetig bis auf 31% desselben nach 52 Wochen ab.

Die Streuung ist im gesamten Beobachtungszeitraum sehr gering.

Vergleich: Die Differenzen der Basisniveaus sind ausgeprägt: Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=74,12\%$ und $C_{MF}=49,84\%$.

Die Tendenzen der Kurvenverläufe sind gleich, wobei die ACT das größte relative Maximum nach 6 Wochen, gefolgt von der OAT und der MF aufweist. Nach 52 Wochen sinken alle Kurven unter den BW, wobei die OAT das kleinste relative Minimum vor der MF und der ACT erreicht. Die relativen Minima liegen dicht beieinander (Relativ zum BW bei t52: $C_{OAT}=28\%_{BW}$; $C_{MF}=31\%_{BW}$; $C_{ACT}=37\%_{BW}$).

Hohe Streuungen beobachtet man nur bei der ACT und der OAT nach 6 Wochen.

Die absoluten Endwerte liegen etwas weiter auseinander als bei t0: Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=55,03\%$ und $C_{MF}=41,18\%$.

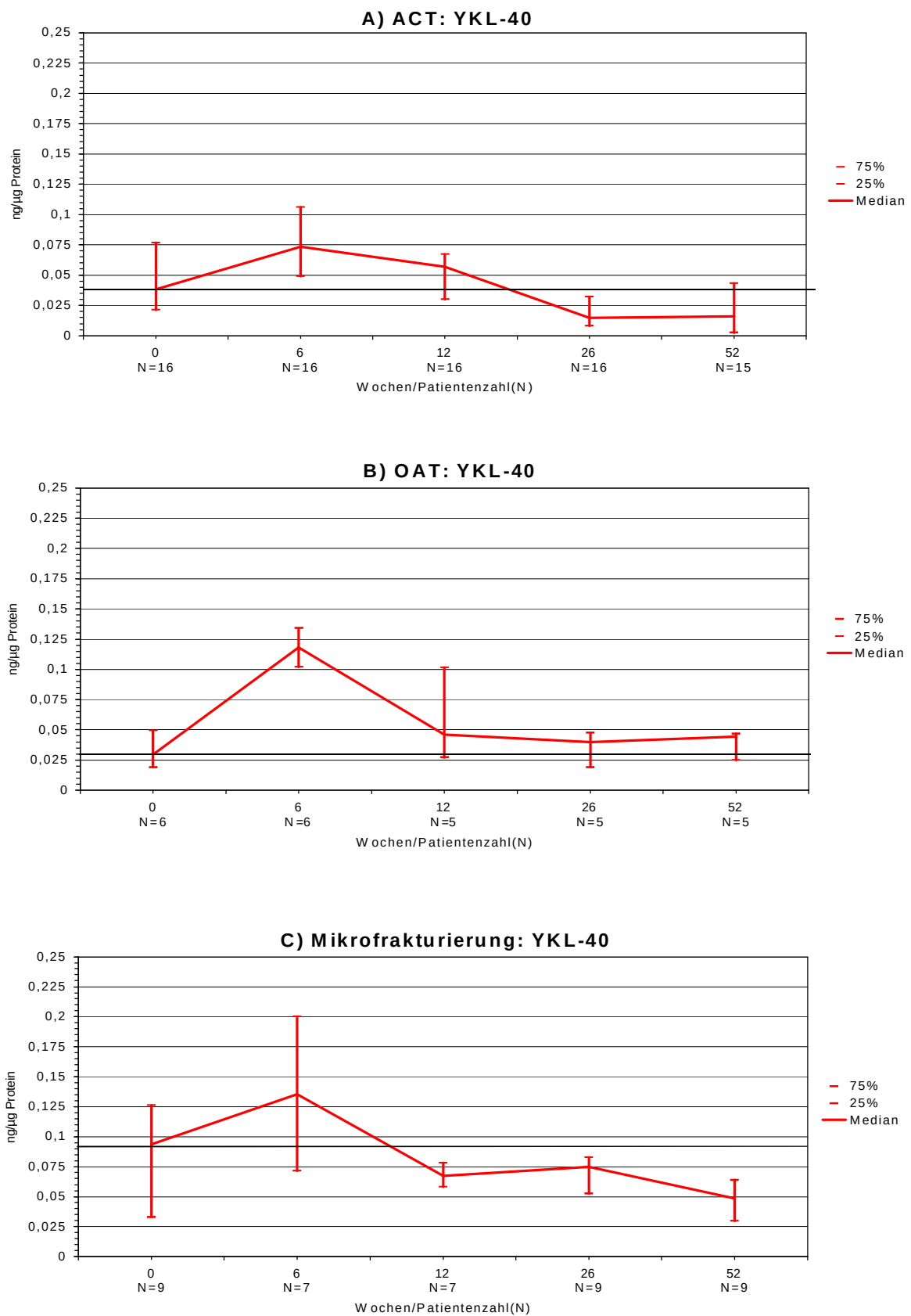


Abb. 9: Darstellung von Medianen und Quartilen der YKL-40-Konzentration des Synoviapunktes vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

YKL-40:

ACT (Abb. 9A): Die Kurve liegt im Wertebereich zwischen 0,01457308ng/ μ g Protein (Minimum) bei t26 und 0,07362824s.E. bei t6 (Maximum).

Nach 6 Wochen steigt die Kurve auf ihr Maximum von 193% des BW und fällt dann bis zu t26 auf ihren Tiefstwert (38% des BW) ab. Bei t52 bleibt dieser Wert etwa konstant (41%).

Die Streuung nach 12 und 26 Wochen ist relativ gering, sonst mäßig ausgeprägt.

OAT (Abb. 9B): Minimum und Maximum lassen sich präoperativ (0,02931158s.E.) und nach 6 Wochen (0,11806908s.E.) beobachten.

Die Kurve weist ihr Maximum von 403% des BW bei t6 auf, sinkt dann bis auf 136% des BW bei t26 ab und erreicht nach 52 Wochen einen Wert, der deutlich über dem BW liegt (151%).

Mit Ausnahme von t12 ist die Streuung gering.

MF (Abb. 9C): Höchst- (0,07158076s.E.) und Tiefstwert (0,02964778s.E.) treten nach 6 und 52 Wochen in Erscheinung.

Nach Anstieg zum Höchstwert von 218% des BW fällt die Kurve zunächst ab, steigt zwischenzeitlich bei t26 wieder an und sinkt dann bei t52 auf ihr Minimum von 90% des BW.

Die Interquartilabstände bei t0 und t6 sind hoch, sonst gering ausgeprägt.

Vergleich: Die Basisniveaus der ACT und OAT liegen etwa im selben Bereich, das der MF liegt jedoch deutlich über dem der beiden anderen Methoden: Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{ACT}=40,83\%$ und $C_{OAT}=31,33\%$.

Die Tendenzen der Kurven sind ähnlich. Sie weisen bei t6 ihre Maxima auf (Relativ zum BW: $OAT > MF > ACT$) und sinken dann bis zu t52 mit zwischenzeitlichem oder gegen Ende auftretendem geringem Anstieg ab (Relativ zum BW bei t52: $C_{ACT}=38\%_{BW}$; $C_{MF}=90\%_{BW}$; $C_{OAT}=151\%_{BW}$). Die OAT bleibt als einzige Methode über dem BW.

Bei der ACT ist die Streuung gering. Dies gilt auch für die OAT (Ausnahme bei t12) und die MF (Ausnahme bei t0 und t6).

Der absolute Endwerte der OAT liegt etwas unter dem Niveau des MF-Wertes, der ACT-Wert hingegen deutlich darunter: Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=91,49\%$ und $C_{ACT}=32,84\%$.

3.2.3 Knochenmarker

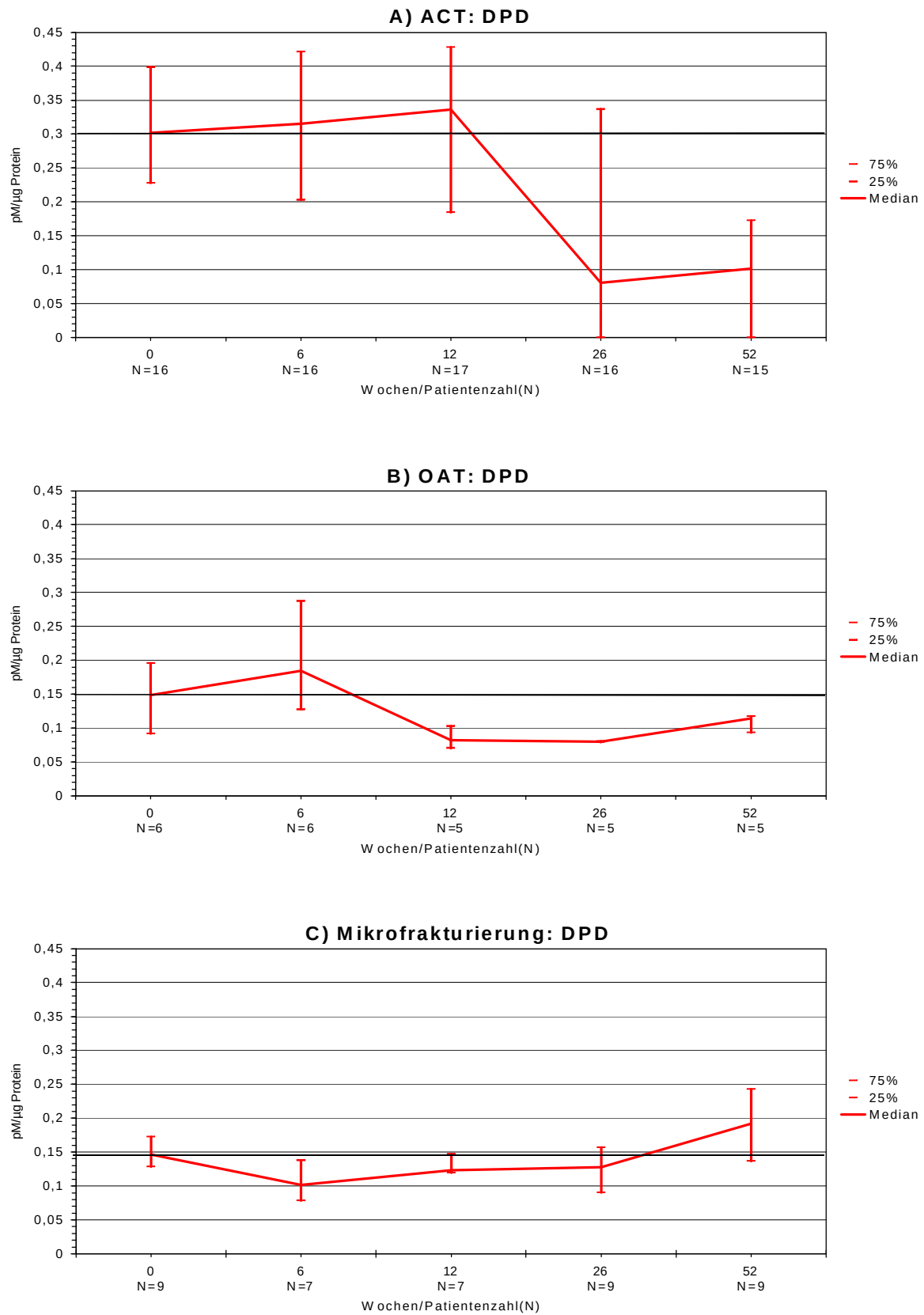


Abb.10: Darstellung von Medianen und Quartilen der DPD-Konzentration des Synovialpunktes vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

DPD: Die DPD-Konzentrationen waren im gesamten Beobachtungszeitraum sehr gering (pg/μg Protein) und lagen an der Grenze des Detektionslimits.

ACT (Abb. 10A): Das Kurvenmaximum liegt bei t12 (0,335933pg/μg Protein), das Minimum bei t26 (0,0806s.E.).

Bis zu t12 steigt die Kurve kontinuierlich auf 111% des BW an und fällt bei t26 (27% des BW) stark ab. Bei t52 bleibt dieses Niveau bei leichtem Anstieg fast konstant (34% des BW).

Im gesamten Untersuchungszeitraum ist die Streuung relativ hoch.

OAT (Abb. 10B): Höchst- (0,18457045s.E.) und Tiefstwert (0,079912359s.E.) finden sich bei t6 und t26.

Die Kurve steigt zunächst auf 124% des BW an (t6), fällt bei t12 auf 55% des BW ab und bleibt bei t26 etwa konstant (54% des BW). Sie steigt dann bei t52 wieder an (77% des BW).

Bei t0 ist die Streuung mäßig, bei t6 etwas höher und ansonsten sehr gering ausgeprägt.

MF (Abb. 10C): Der Höchstwert bei t52 beträgt 0,191784924s.E., der Tiefstwert bei t6 0,10192969s.E..

Nach dem Abfall bei t6 (70% des BW) zeigt der Graph bis zu t52 aufsteigende Tendenz. Hier liegt er deutlich über dem Basisniveau (131%).

Bis zu t26 ist die Streuung gering. Die Interquartilabstände bei t52 sind mäßig ausgeprägt.

Vergleich: Das Basisniveau der OAT und der MF liegt etwa im selben Bereich, das der ACT hingegen deutlich darüber (Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=49,26\%$ und $C_{MF}=48,38\%$).

Bei der OAT und ACT beobachtet man zunächst einen Kurvenanstieg. Der anschließende Abfall tritt bei der ACT erst bei t26 ein (OAT: t12). Bei t52 ist dann bei der ACT ein leichter, bei der OAT ein stärkerer Anstieg zu verzeichnen, jedoch bleiben beide unter dem BW ($ACT < OAT$). Die Kurve der MF hingegen sinkt erst ab (t6) und steigt dann bei jedem Untersuchungszeitpunkt bis deutlich über den BW an (t52) (Relativ zum BW bei t52: $C_{ACT}=34\%_{BW}$; $C_{OAT}=77\%_{BW}$; $C_{MF}=131\%_{BW}$).

Die Streuung ist bei der ACT relativ hoch, bei der OAT und der MF meist gering.

Beim Vergleich der absoluten Endwerte steigen die OAT und vor allem MF deutlich über das Niveau der ACT: Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=112,19\%$ und $C_{MF}=188,47\%$.

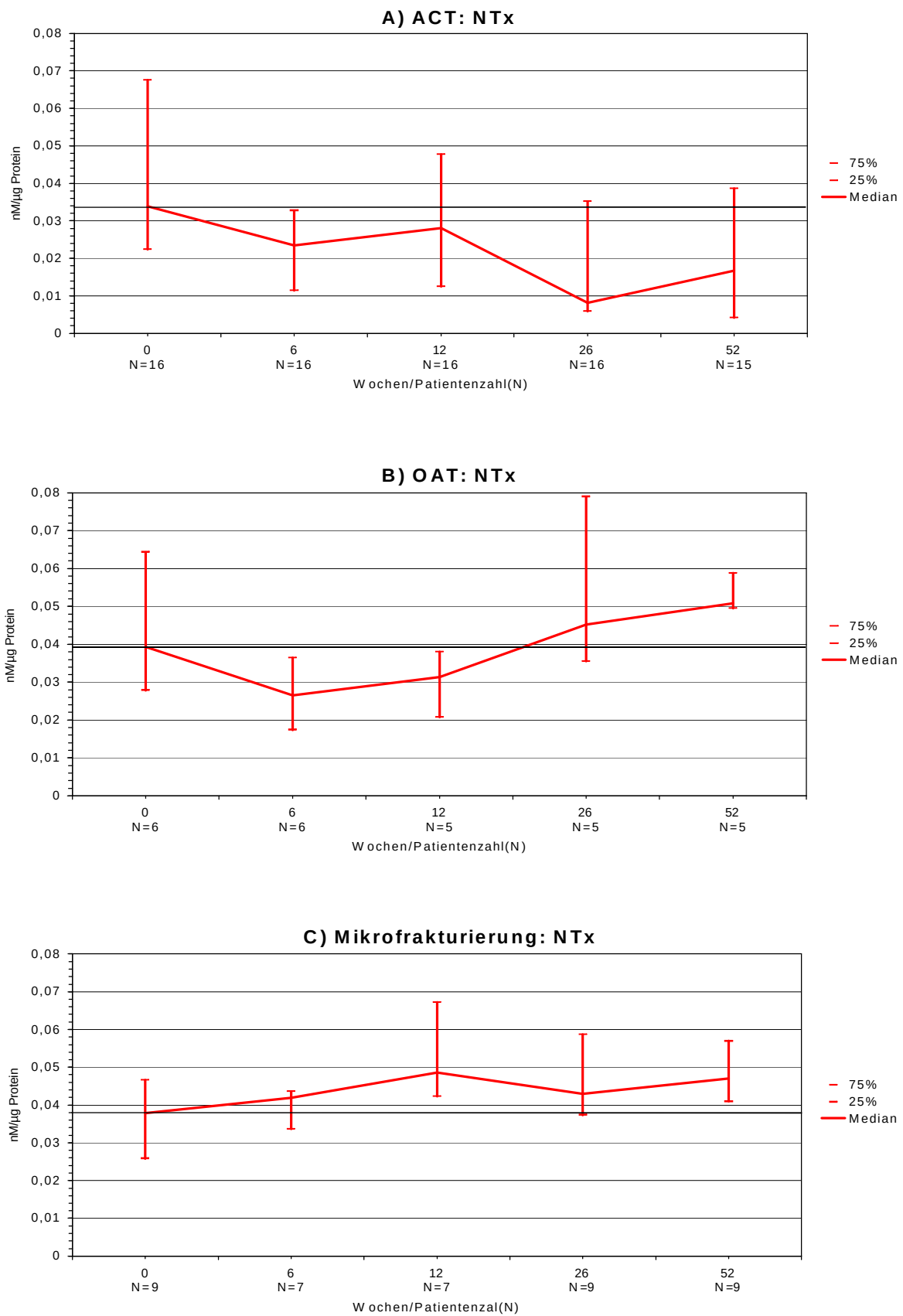


Abb. 11: Darstellung von Medianen und Quartilen der NTx-Konzentration des Synoviapunktates vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

NTx:

ACT (Abb. 11A): Die Werte liegen zwischen 0,0338858nM/ μ g Protein (Maximum; t0) und 0,0081308s.E. (Minimum; t26).

Im Verlauf des Beobachtungszeitraums sinkt die Kurve bei t6 und t26 ab und steigt bei t12 und t52 an. Der Wert bei t52 entspricht 49% des Basisniveaus.

Bei t26 ist der untere Quartilabstand der sehr gering, der obere stark ausgeprägt, bei t6 sind beide Abstände von mäßiger Ausprägung. Im übrigen läßt sich eine starke Streuung beobachten.

OAT (Abb. 11B): Der Tiefstwert (0,0264881) wird bei t6, der Höchstwert (0,05080617) bei t52 erreicht.

Nach dem Absinken der Kurve bei t6 zeigt diese von t12 bis t52 aufsteigende Tendenz und liegt am Ende des Beobachtungszeitraumes deutlich über dem Ausgangsniveau (129%).

Die Streuung ist bei t0 und t26 stark, bei t6 und t12 mäßig und bei t52 gering ausgeprägt.

MF (Abb. 11C): Das Minimum liegt bei t0 (0,03790558s.E.), die Maxima bei t12 (absolutes Max.; 0,4853644s.E.) und t52 (relatives Max.; 0,04696907s.E.).

Die Kurve steigt zunächst bis t12 an, fällt bei t26 ab und zeigt bei t52 wieder aufsteigende Tendenz (124% des BW). Der gesamte Kurvenverlauf liegt über dem Ausgangsniveau.

Bei t0 und 52 ist die Streuung mäßig, bei t12 und 26 relativ hoch und bei t6 gering.

Vergleich: Die Basisniveaus aller 3 Methoden liegen eng beieinander (Für $C_{OAT}=100\%$ entspricht $C_{MF}=96,48\%$ und $C_{ACT}=86,25\%$).

Die Kurven der ACT und der OAT verlaufen zunächst fast identisch. Bei t6 sinken sie unter Basisniveau ab und steigen dann bei t12 leicht an, bleiben aber unter dem BW. Ab t26 divergieren die Kurven. Der Graph der ACT sinkt wieder ab und erreicht bei t52 einen Wert, der 49% des BW entspricht, jener der OAT steigt bei t26 über Basisniveau und weist sein Maximum bei t52 auf. Dagegen liegt die gesamte Kurve der MF über dem BW (t52: $C_{ACT}=49\%_{BW}$; $C_{MF}=124\%_{BW}$; $C_{OAT}=129\%_{BW}$).

Die Streuung ist bei der ACT stark, bei der OAT und MF gering ausgeprägt.

Bei t52 ist ein deutlicher Abfall der ACT unter die absoluten Werte der anderen Methoden im Vergleich zu t0 zu beobachten: Für $C_{OAT}=100\%$ entspricht $C_{ACT}=32,87\%$ und $C_{MF}=92,46\%$.

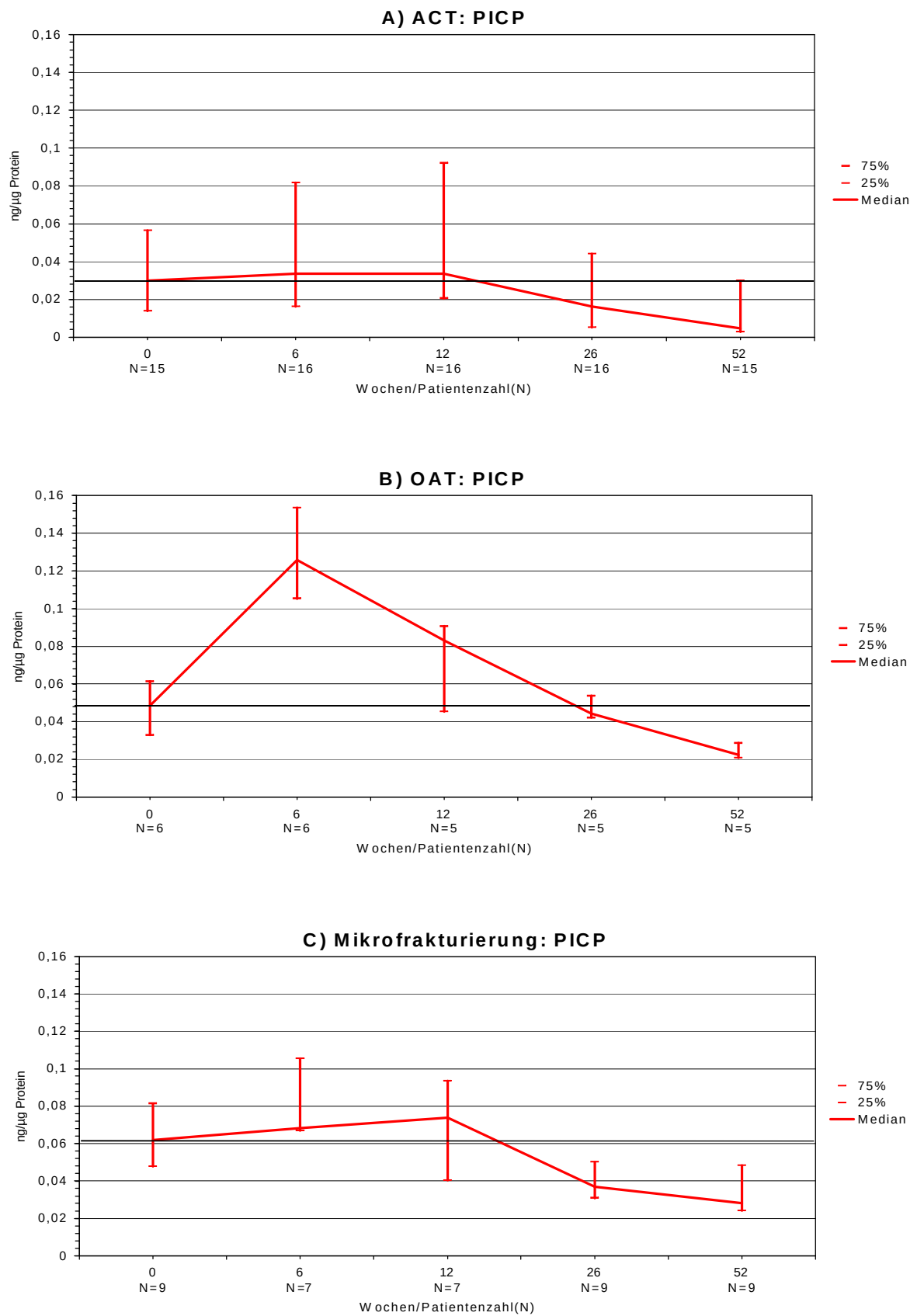


Abb.12: Darstellung von Medianen und Quartilen der PICP-Konzentration des Synoviapunktes vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

PICP:

ACT (Abb. 12A): Das Kurvenmaximum (0,0336292 ng/µg Protein) beobachtet man bei t6, das Minimum (0,00472s.E.) bei t52.

Vom BW aus steigt die Kurve bei t6 auf 112% desselben an, bleibt auf diesem Niveau bei t12 und fällt dann bis zum Zeitpunkt nach einem Jahr auf 16% des BW ab.

Die Streuung ist vor allem bei t6 und t12 stark, sonst mittelmäßig ausgeprägt.

OAT (Abb. 12B): Höchst- (0,12586s.E.) und Tiefstwert (0,022473355s.E.) liegen bei t6 und t52.

Die Kurve erreicht ihr Maximum von 260% des BW bei t6 und fällt dann bis zu t52 ab. Das Minimum bei t52 entspricht 46% des Basisniveaus.

Die Interquartilabstände sind bei t6 und t12 mittelmäßig, sonst gering ausgeprägt.

MF (Abb. 12C): Maximum (0,073891626s.E.) und Minimum (0,028061527s.E.) treten bei t12 und t52 in Erscheinung.

Zunächst steigt die Kurve auf 110% des BW bei t6 an und erreicht bei t12 ihr Maximum von 119% des BW. Danach fällt sie bis zu ihrem Minimum von 45% des BW bei t52 ab.

Bei t12 ist die Streuung stark, sonst mittelmäßig bis gering ausgeprägt.

Vergleich: Es zeigen sich deutliche Unterschiede bei der Betrachtung der absoluten Werte der Baselines (Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=78,24\%$ und $C_{ACT}=48,43\%$).

Die Kurven steigen zunächst an (t6) und liegen bei t12 über Basisniveau. Der Anstieg bei t6 und t12 ist bei der OAT deutlich am höchsten (t6: $OAT > ACT > MF = 260\%$ d. $BW_{OAT} > 112\%$ d. $BW_{ACT} > 110\%$ d. BW_{MF}). Nach einem halben Jahr liegen bereits alle Kurven unter dem BW und erreichen bei t52 ihr Minimum, wobei der Wert der ACT am deutlichsten unter dem Basisniveau liegt (t52: $C_{ACT}=16\%_{BW}$; $C_{MF}=45\%_{BW}$; $C_{OAT}=46\%_{BW}$).

Die abschließende Betrachtung der absoluten Werte bei t52 ergibt folgendes Bild: Für $C_{MF}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=80,09\%$ und $C_{ACT}=16,82\%$. Der ACT-Wert fällt im Vergleich zu den Werten der anderen Methoden deutlich ab.

3.3 Kernspintomographie

Bei der Befundung der Kernspintomographien der ACT, OAT und MF wurden folgende Kriterien deskriptiv über den Beobachtungszeitraum beurteilt:

- 1) Füllung des Defektes durch ein Knorpelregenerat, Signalintensität des Defektbereiches im Vergleich zum Referenzknorpel (T1 FFE; TSE) und Einschätzung der Defektursache falls möglich.
- 2) Beurteilung des subchondralen Knochens (T2 SPIR).

Die Entnahmestellen der osteochondralen Zylinder („donor sites“) bei der OAT wurden zusätzlich hinsichtlich dieser Kriterien befundet.

ACT:

- 1) Bei 6 von 17 Patienten wurde eine Osteochondrosis dissecans, bei den übrigen 12 eine Chondromalazie mit oder ohne traumatischen Einfluss dokumentiert. Zu Beginn des Beobachtungszeitraums nach 6 Wochen ließen sich die Transplantate bei allen Patienten deutlich vom umgebenden Knorpel abgrenzen. Dies lag zum einen an einer hypointensen Signalgebung (T1 FFE; TSE) im Defektbereich, zum anderen fand sich in einigen Fällen ein über das Knorpelniveau hinausragender Transplantatbereich mit hyperintensem Signal (T2 SPIR). Über den Beobachtungszeitraum zeigte sich eine progressive Anpassung der Signalintensität an den Referenzknorpel. Nach einem Jahr ließ sich eine gute Füllung des ursprünglichen Defektbereiches mit einer dem gesunden Knorpel nahezu identischen Signalintensität des Gewebes bei 14 von 17 Patienten beobachten (82% der Patienten; siehe Abb. 13).
- 2) Bei 13 von 17 Patienten war ein Knochenödem („bone bruise“) sichtbar, das sich bei 8 Patienten bei t52 vermindert hatte (62% der Patienten mit Ödem). Alle Defekte, die auf eine OD zurückzuführen waren (6), gingen mit einem Knochenödem einher. Nach einem Jahr zeigte sich bei 4 dieser 6 Patienten eine Persistenz oder Verstärkung des Ödems, bei den 2 anderen war es fast nicht mehr nachweisbar. Bei den 7 Patienten mit Ödem, die keine OD aufwiesen, fand sich nach einem Jahr bei 2 Patienten in etwa die selbe Ödemausprägung wie zu Studienbeginn, bei 4 Patienten war es vermindert und in einem Fall kernspintomographisch nicht mehr nachweisbar.

ACT nach einem Jahr:

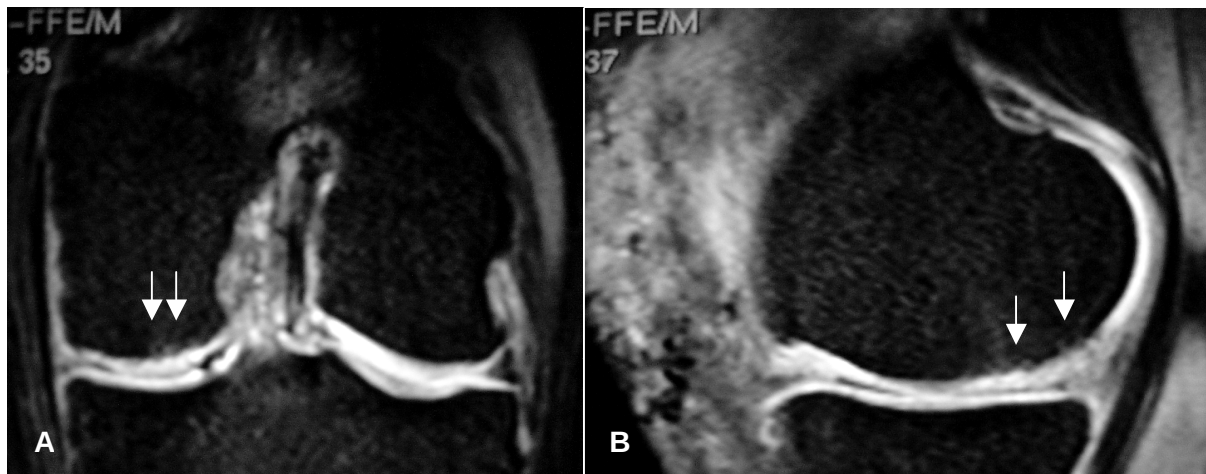


Abb. 13: **ACT-Patient mit einem guten OP-Ergebnis:** 31 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 5 cm²: Annähernd isointense Füllung des Knorpeldefektes in der Hauptbelastungszone des medialen Femurkondylus (**A:** Coronarschnitt; **B:** Sagittalschnitt; Sequenz: T1 FFE).

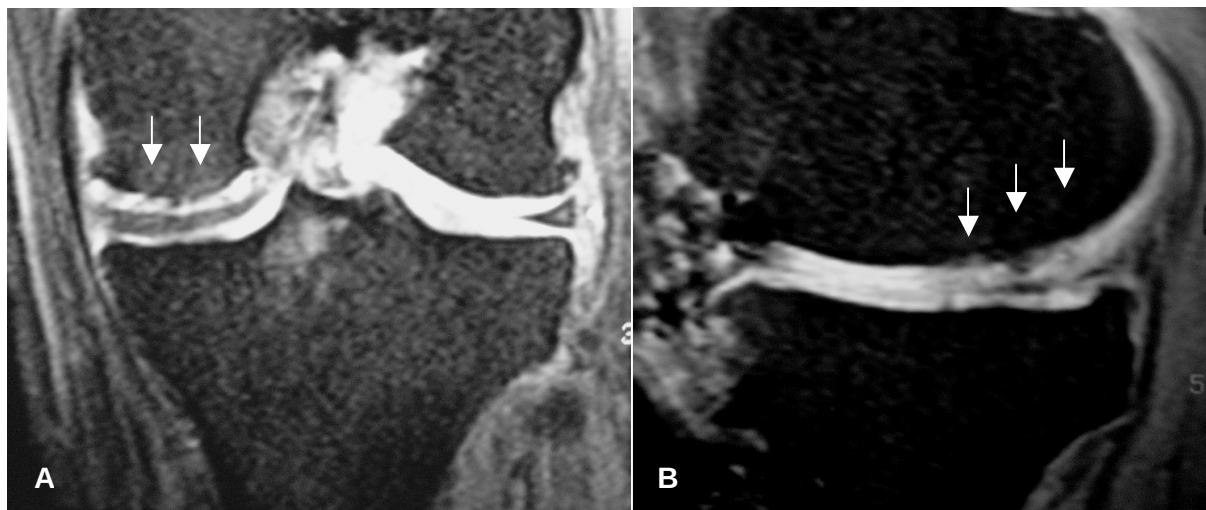


Abb. 14: **ACT-Patient mit einem mittelmäßigen OP-Ergebnis:** 32 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 3 cm²: Weitgehende Signalangleichung und Füllung des Knorpeldefektes in der Hauptbelastungszone des medialen Femurkondylus mit hypointenser Region in der Mitte der Transplantationszone (**A:** Coronarschnitt; **B:** Sagittalschnitt; Sequenz: T1 FFE).

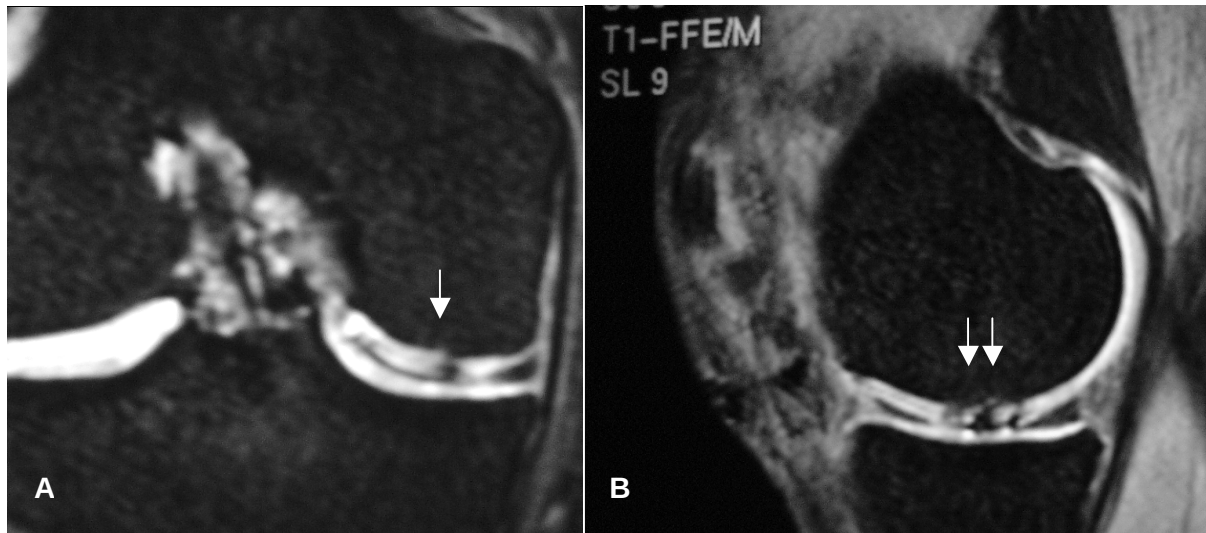


Abb. 15: **ACT-Patient mit einem unbefriedigenden OP-Ergebnis:** 35-jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 2,25 cm²: Unbefriedigende, zerklüftete Füllung des Knorpeldefektes mit hypointensen Arealen in der Hauptbelastungszone des medialen Femurkondylus (**A**: Coronarschnitt; **B**: Sagittalschnitt; Sequenz: T1 FFE).

OAT:

- 1) Bei 5 der 6 behandelten Patienten lag dem Knorpelschaden eine OD zugrunde und in einem Fall ein Kniegelenkstrauma. Die transplantierten zum Referenzknorpel isointensen Zylinder ließen sich bei allen Patienten über den gesamten Zeitraum und auch nach einem Jahr abgrenzen, da die Knorpeloberfläche und Knorpel-Knochen-Grenze von unregelmäßiger Struktur war (Abb. 16A, 17A, 18A/B/E) und die Zwischenräume teilweise nur hypointense Füllungen aufwiesen. Letzterer Befund war bei den Patienten, die nur mit 2 Zylindern behandelt wurden, geringer ausgeprägt. Bei 2 Patienten, bei denen mehr als 2 Zylindern transferiert wurden, zeigte sich kernspintomographisch ebenfalls eine gute Wiederherstellung der Gelenkoberfläche. Die Schichtdicke des hyalinen Knorpels der Zylindern war im Vergleich zum Referenzknorpel an den Defekträndern deutlich dünner (Abb. 16-18). Diese Befunde geben bei 3 Patienten (50%) kernspintomographischen Anhalt für ein gutes operatives Resultat im Defektbereich des Femurkondylus (Abb. 16). Bei 33% war es mangelhaft (Abb. 17), bei 17% schlecht (Abb. 18).
- 2) Alle Patienten wiesen präoperativ ein Knochenödem auf, das sich nach einem Jahr bei 5 Patienten (83%) deutlich vermindert und in einem Fall persistent oder gar verstärkt zeigte. Auffällig war bei allen Patienten eine sich unregelmäßig und abgestuft darstellende subchondrale Knochengrenze (Abb. 16A, 17A, 18A/B/E) im Defektbereich. Die operative Rekonstruktion einer homogenen subchondralen Knochenline gelang nicht.

Bereich der Zylinderentnahmestellen:

- 1) Die Lücken in der Knorpelschicht im Bereich der Zylinderentnahmestellen waren über den gesamten Zeitraum und nach einem Jahr durch Signalverminderung. Demarkiert (Abb. 16C/D, 17B/C, 18B/C). Bei allen Patienten fanden sich nach einem Jahr signalinhomogene unvollständige Füllungen einzelner Zylinderentnahmestellen im Sinne eines Knorpelschadens (Abb. 16C/D, 17B/C, 18B/C).
- 2) Zu Beginn der postoperativen Untersuchungen (t6, t26) war die Spongiosa im Bereich der „donor sites“ deutlich signalverstärkt. Im tieferen Spongiosabereich glich sich das Signal über den Beobachtungszeitraum dem des Referenzknochens an. Subchondral persistierte hingegen nach einem Jahr bei allen Patienten ein deutliches Ödem (Abb. 16B und 18D; Signalsteigerung v.a. in T2 SPIR), wobei die Knochenfüllung teilweise unvollständig war. Die Knorpel-Knochen-Grenze stellte sich in diesen Fällen konkav dar. Diese Befunde waren bei den Patienten, die mit großen Zylindern (Durchmesser > 6,5mm) behandelt wurden, verstärkt.

OAT nach einem Jahr:

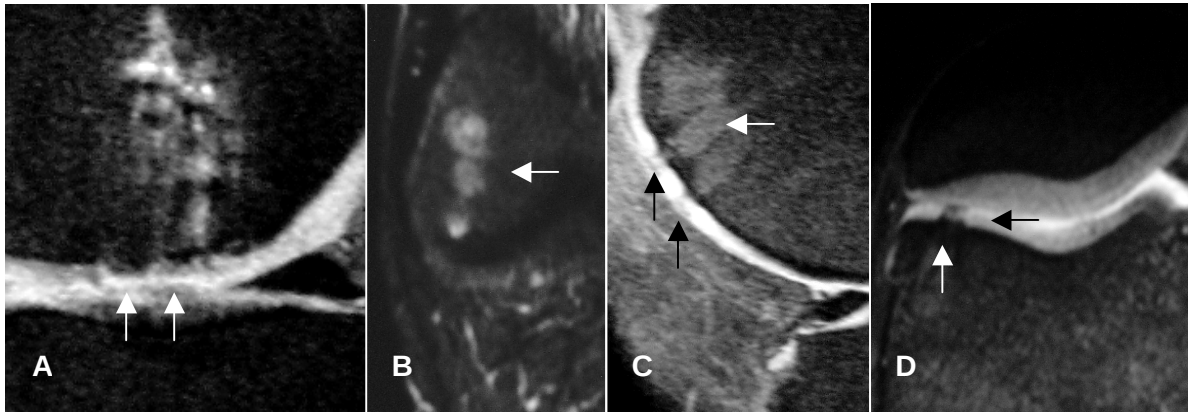


Abb. 16: **OAT-Patient mit einem guten OP-Ergebnis:** 21 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 1,25 cm²: Im Bereich der Hauptbelastungszone des medialen Kondylus sind 3 transplantierte Zylinder angeschnitten. Der Defekt ist durch die osteochondralen Zylinder isointens im Niveau der Knorpelschicht verlaufend gedeckt. Die Knorpel-Knochen-Grenze zeigt minimale Abstufungen (**A**: Sagittalschnitt, T1 FFE nach Gadolinium). Im Bereich der Trochlea des medialen Femurkondylus sind hyperintense Areale im Bereich des Knochens (**B**: Coronar, T2 SPIR) und hypointense Areale in der Knorpellamelle erkennbar (**C**: Sagittal, T1 FFE; **D**: Axial, T1 FFE), die den Zylinderentnahmestellen entsprechen. Die Füllung der Knorpelschicht an der Entnahmestelle in **D** ist gering.



Abb. 17: **OAT-Patient mit einem mittelmäßigen bis unbefriedigenden OP-Ergebnis:** 26 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 1,25 cm²: Im Bereich der Hauptbelastungszone des medialen Kondylus sind die beiden transplantierten Zylinder angeschnitten. Der Defekt isointenser im Vergleich zum Referenzknorpel durch die Knorpelschicht der Zylinder gedeckt, die Knorpelschicht und die Knorpel-Knochen-Grenze zeigen jedoch deutliche Abstufungen (**A**: Sagittalschnitt, T1 FFE). Im Bereich der Trochlea sind die Zylinderentnahmestellen weiterhin abgrenzbar (**B**: Axial, T1 FFE; **C**: Sagittal, TSE).

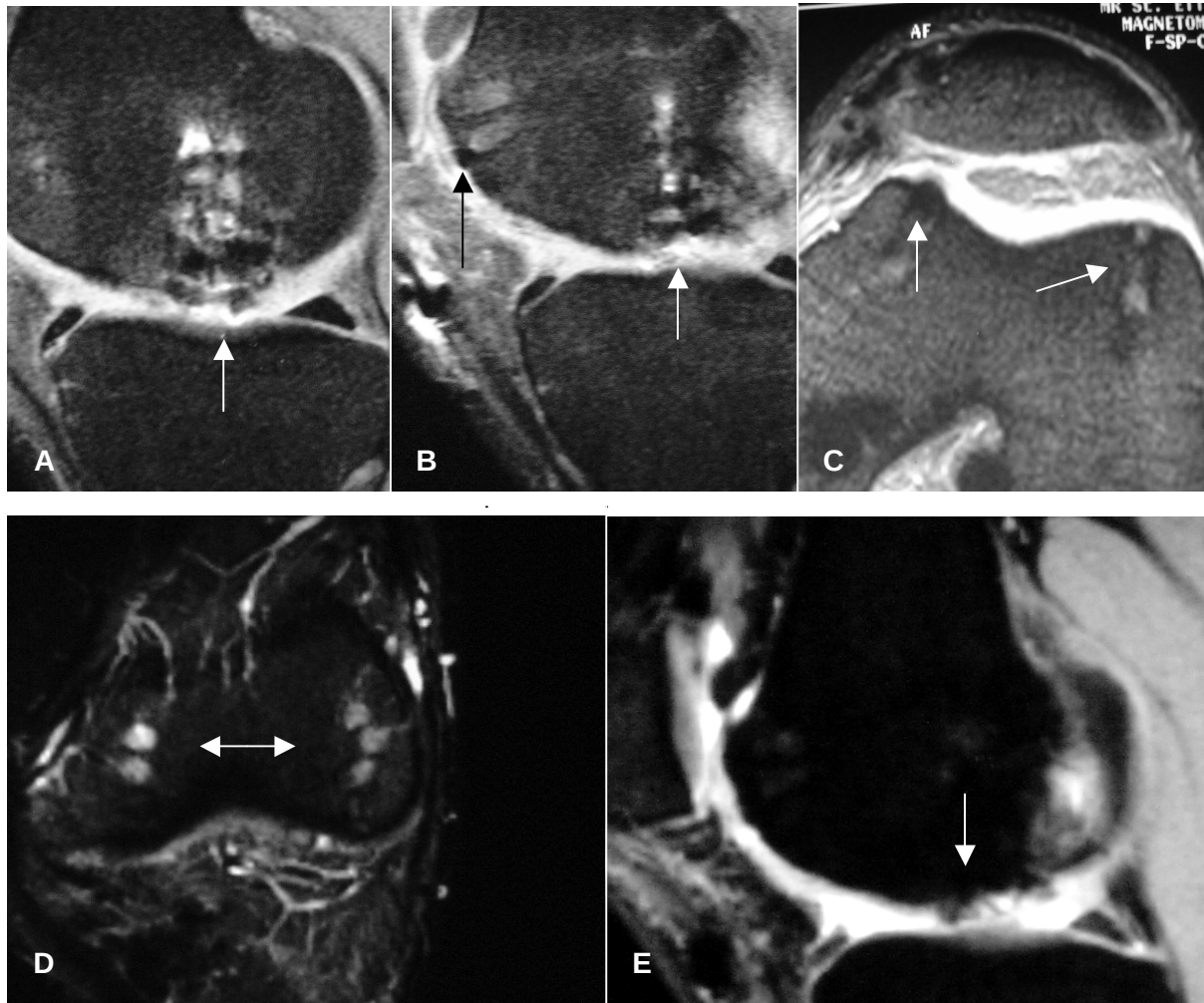


Abb. 18: **OAT-Patient mit einem unbefriedigenden OP-Ergebnis:** 22 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 1,5 cm². Im Bereich der Hauptbelastungszone des medialen Kondylus sind transplantierte Zylinder angeschnitten. Die Knorpelschicht und die Knorpel-Knochen-Grenze zeigen erhebliche Abstufungen (**A und B/Weiße Pfeile:** Sagittalschnitte, T1 FFE nach Gadolinium; **E:** Sagittal, T1 FFE). Im Bereich der Trochlea sind die Zylinderentnahmestellen osteochondral weiterhin abgrenzbar (**B/Schwarzer Pfeil:** Sagittal, T1 FFE; **C:** Axialschnitt, T1 FFE; **D:** Coronal, T2 SPIR).

MF:

- 1) Nur 2 Patienten wiesen eine OD auf, die übrigen eine CM mit oder ohne traumatischen Einfluss. Bei 8 von 9 kernspintomographisch untersuchten Defekten zeigte sich nach einem Jahr eine sehr dünne, wellig hypointense Knorpellamelle (Abb. 20/21, T1 FFE) im Vergleich zum umgebenden Knorpel und in einem Fall ein in der Schichtdicke dem Referenzknorpel entsprechendes Regenerat (Abb. 19). Fünf Defekte (66%) wiesen Ausdünnungen der Knorpelschicht bis auf den Knochen im Sinne eines dritt- bis viertgradigen Knorpelschadens auf (Abb. 20/21). Die übrigen (44%, N=4) zeigten eine durchgängige Abdeckung des subchondralen Knochens im Sinne eines guten (Abb. 19) bis befriedigenden kernspintomographischen Befundes.
- 3) Bei 7 Defekten zeigte sich präoperativ eine ödematöse Reaktion (signalgesteigerte subchondrale Knochensubstanz und Spongiosa in T2 SPIR). Diese war bei t6 vermehrt, wobei punktförmige Signalsteigerungen nach erfolgter Mikrofrakturierung nachweisbar waren. Dies zeigte sich auch bei den beiden Patienten, die präoperativ ein isointenses Knochensignal aufwiesen. Nach einem Jahr war bei letzteren eine Angleichung des Signals (vermindertes Knochenödem) nachweisbar. Bei 3 (43%) der 7 Defekte mit bei t0 bereits vorhandenem Ödem zeigte sich eine Signalverminderung, in 4 Fällen (67%) eine Signalpersistenz oder Signalsteigerung (gleichbleibendes oder gesteigertes Ödem, Abb. 21B, T1 FFE nach Gadolinium).

MF nach einem Jahr:

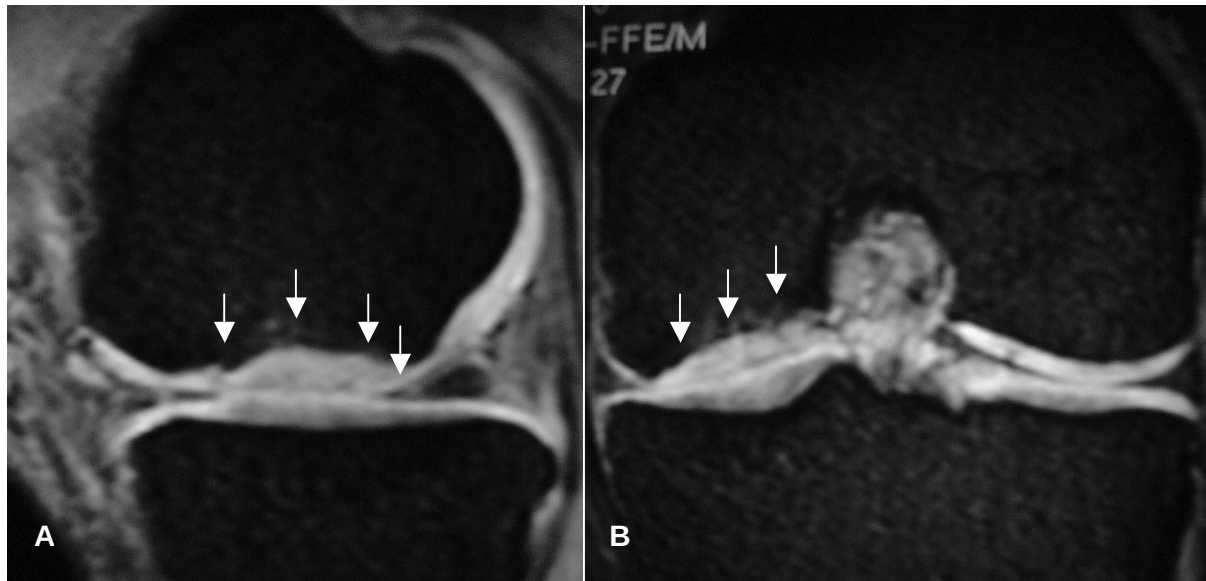


Abb. 19: **MF-Patient mit einem guten OP-Ergebnis:** 22 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 6,25 cm²: Annähernd isointense Füllung des Knorpeldefektes am Übergang von der Hauptbelastungszone zum anterioren Bereich des medialen Femurkondylus bei konkaver Knorpel-Knochen-Grenze mit starkem Substanzverlust des subchondralen Knochens nach einer OD (**A:** Sagittalschnitt; T1 FFE; **B:** Coronar, T1 FFE).

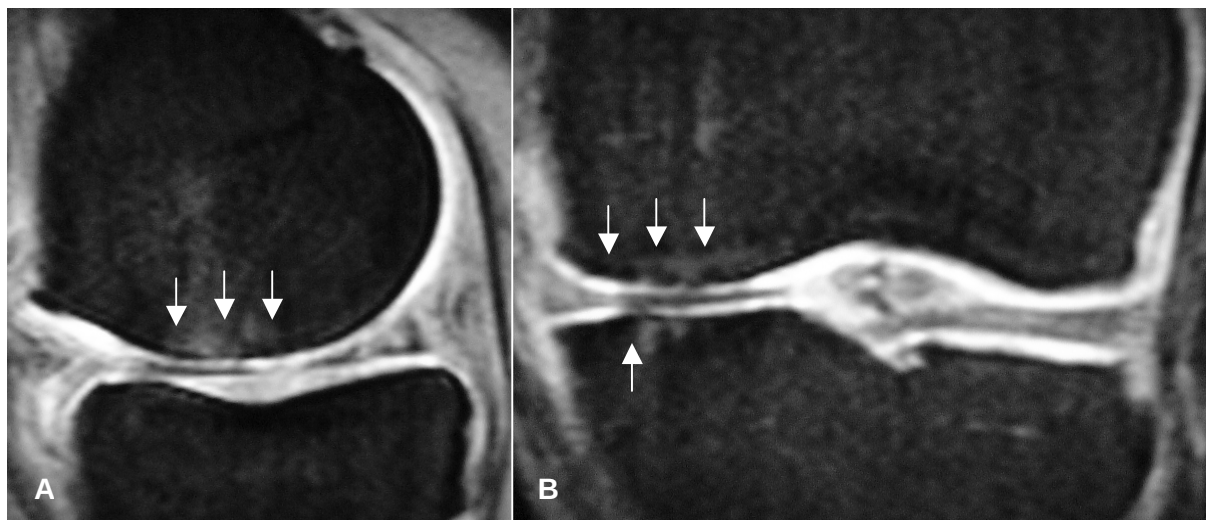


Abb. 20: **MF-Patient mit einem mittelmäßigen bis unbefriedigenden OP-Ergebnis:** 56 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 7cm²: Sehr dünne, im Vergleich zum Referenzknorpel teils isointense teils unterbrochene Knorpellamelle am medialen Femurkondylus mit subchondralen Signalanhebungen im Sinne ödematöser Reaktion des Knochens (**A:** Sagittal, T1 FFE; **B:** Coronar , T1 FFE). Es zeigt sich eine korrespondierende Knorpelläsion mit Unterbrechung der Knorpelschicht und subchondralem Ödem am gegenüberliegenden Tibiaplateau.

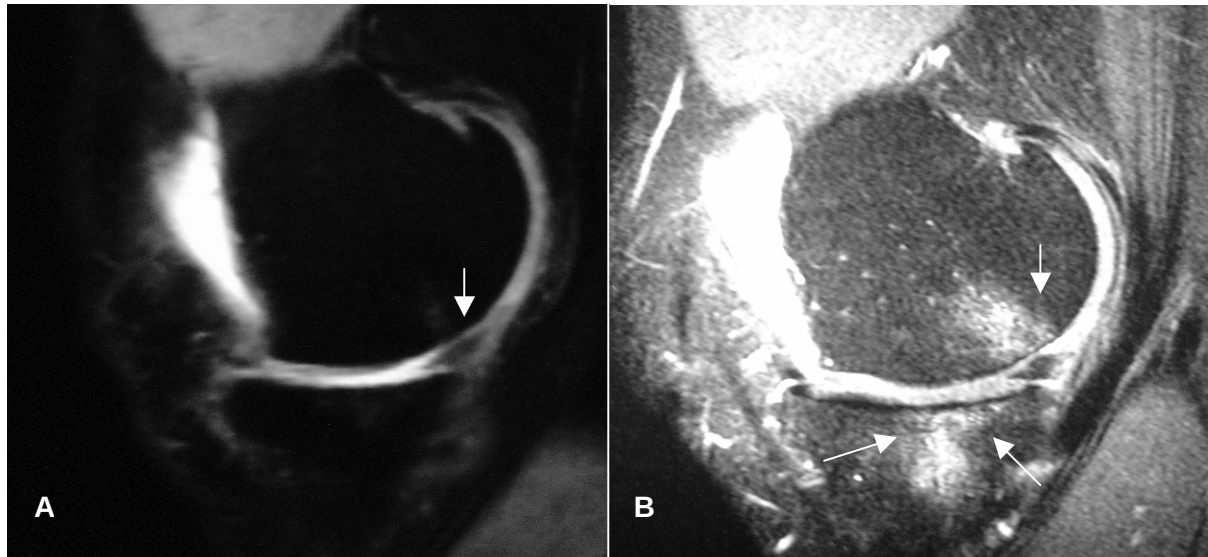


Abb. 21: **MF-Patient 3 mit einem unbefriedigenden OP-Ergebnis:** 41 jähriger, männlicher Patient; Defektgröße 3+3 cm² am medialen Kondylus und Tibiaplateau: Kaum nachweisbare Knorpelschicht mit subchondralen Signalanhebungen im Sinne ödematöser Reaktion des Knochens sowohl femoral als auch tibial (**A:** Sagittal, T1 FFE; **B:** Coronar, T1 FFE nach Gadolinium).

Tabelle 9 fasst die Ergebnisse der verschiedenen Methoden nach einem Jahr zusammen. Dabei weist die ACT bessere Defektfüllungen als die anderen Methoden auf. Die OAT zeigt eine günstige Entwicklung des Knochenödems im Defektbereich, bei kernspintomographischem Anhalt für eine gute Defektfüllung und Integrität der Zylinder in 50% der Fälle. Ihre Entnahmestellen zeigen sich teilweise unvollständig gefüllt (inhomogenes, hypointenses Signal) bei fortbestehendem Knochenödem. Bei der MF weisen 44% der behandelten Patienten gute bis befriedigende Defektfüllungen auf.

Tab. 10: MRT-Ergebnisse der verschiedenen Methoden nach einem Jahr.

OP-Methode	Defektstelle		Zylinderentnahmestellen	
	Knorpelschicht: Gute Defektfüllung und Integrität (Schichtdicke; Signalintensität in T1 FFE, TSE)	Vermindertes Knochenödem (Signalintensität in T2 SPIR)	Knorpelschicht (Schichtdicke; Signalintensität in T1 FFE, TSE)	Knochenödem (Signalintensität in T2 SPIR)
ACT	82%	62%	-----	-----
OAT	50%	83%	Teils unvollständige inhomogene Füllung	Deutlich vorhanden
MF	44%	43%	-----	-----

3.4 Klinische Score nach Larson

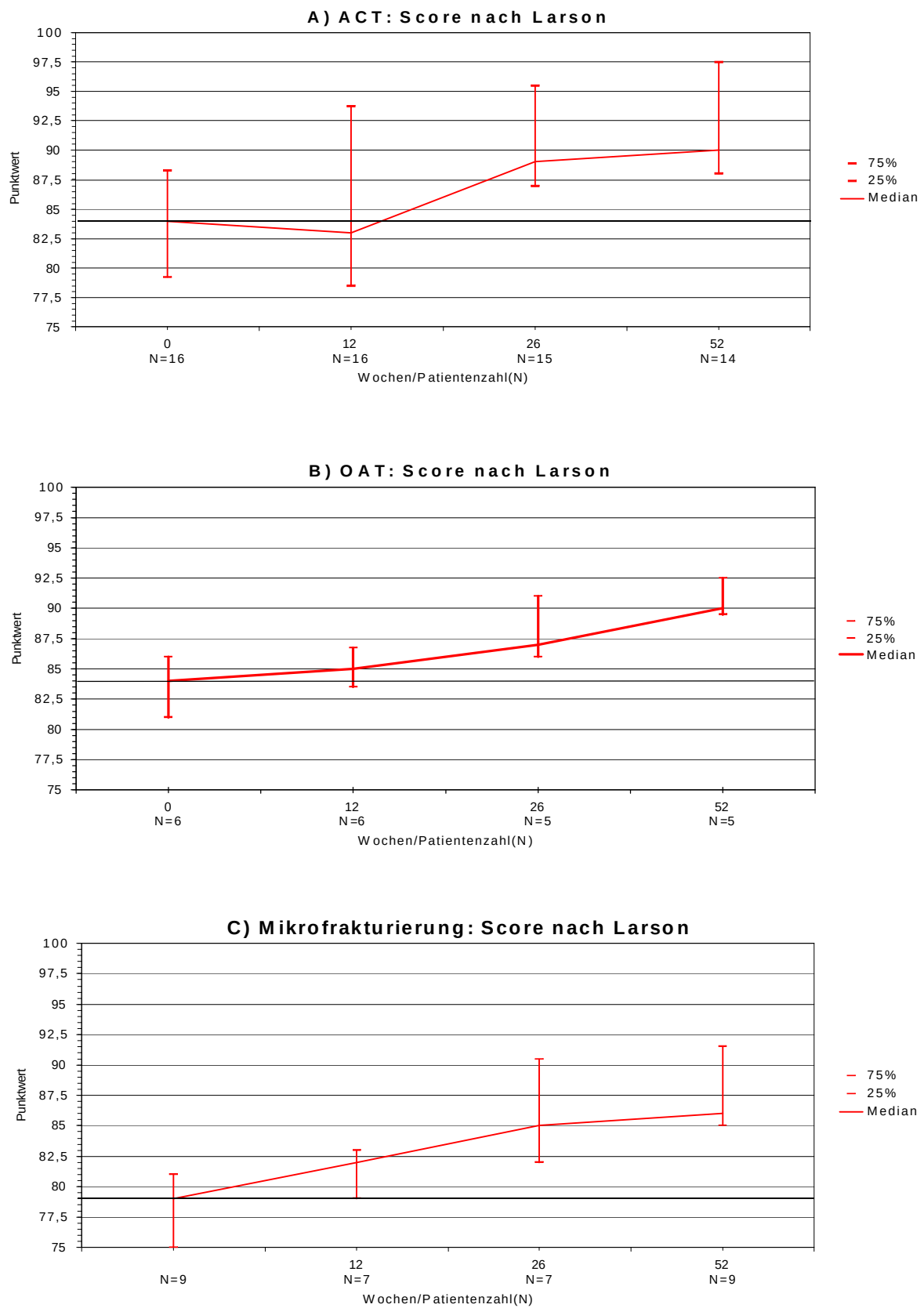


Abb.22: Darstellung von Medianen und Quartilen des Punktwertes des Scores nach Larson vor und nach Autologer Chondrozytentransplantation (A), Osteochondraler Autologer Transplantation (B) und Mikrofrakturierung (C) gegen die Zeit in Abweichung von der Baseline (schwarz).

Score nach Larson:

ACT (Abb. 22A): Das Basisniveau entspricht einem Punktwert von 84, mit etwa gleichen Interquartilabständen nach oben und unten (PW25%: 88,25; PW75%: 79,25). Bei t12 fällt die Kurve des Medians dann bei ausgeprägtem 75%-Quartil (PW: 93,25) auf einen Punktwert von 83 ab. Nach einem Jahr wird das Maximum von einem Punktwert von 90 erreicht, wobei der obere Quartilabstand groß, der untere klein ist (PW75%: 97,5; PW25%: 88).

OAT (Abb. 22B): Die Kurve des Medians weist ein Ausgangsniveau von 84 Punkten bei mäßig ausgeprägten Quartilabständen auf (PW75%: 86; PW25%: 81). Sie steigt im weiteren Verlauf über t12 (PW: 85) und t26 (PW: 87) bis zum Endwert bei t52 (PW: 90) stets an, wobei die Streuung anhand der Interquartilabstände gering ist.

MF (Abb. 22C): Bei t0 liegt das Basisniveau beim Punktwert von 79 mit leichter Streuung nach oben (81) und stärkerer nach unten (75). Die Kurve des Medians steigt über t12 (82) und t26 (85) in der Folge bis zu t52 stets an (86), wobei die Streuung nach oben vor allem bei t26 (PW75%: 90,5) und t52 (PW75%: 91,5) etwas stärker ausgeprägt ist .

Vergleich: Die klinischen Ausgangsniveaus der ACT und der OAT sind gleich (PW: 84), wobei die Interquartilabstände bei der ACT etwas größer sind.

Die Kurve des Medians der ACT fällt zunächst bei t12 leicht ab, erreicht dann aber bei t26 fast schon (PW: 89) ihr Höchstniveau, das schließlich nach einem Jahr erreicht wird (PW: 90) mit großem oberem Interquartilabstand (PW75%: 97,5). Die OAT erreicht bei t52 das gleiche Endniveau des Medians (PW: 90), mit geringerer oberer Abweichung des 75%-Quartils (PW75%: 92,5). Ab t12 ist die Streuung bei der ACT nach oben stark, bei der OAT hingegen deutlich geringer ausgeprägt.

Im Vergleich dazu liegt das Ausgangsniveau der MF deutlich tiefer (PW: 79). Ihr Median steigt über den gesamten Beobachtungszeitraum an und erreicht bei t52 einen Endwert von 86 Punkten. Die Streuung ist im Vergleich zu den anderen Methoden im gesamten Zeitraum von mäßiger Ausprägung.

4 DISKUSSION

Bisherige Studien zur Beurteilung derzeit führender Methoden operativer Knorpelbehandlung stützen sich hauptsächlich auf klinische und kernspintomographische Befunde und vereinzelt auf Kontrollarthroskopien mit histologischen und biomechanischen Untersuchungen [BAHUAUD 2000; BENTLEY et al. 2003; BRITTBERG et al. 1994; GERBER et al. 2002; GIANNINI et al. 2002; GROSS 2002; HANGODY et al. 1997; HART 2002; HORAS et al. 2003; KNUTSEN et al. 2004; PETERSON et al. 2000; STEADMAN et al. 1999]. Dabei herrscht ein Mangel an validen Parametern für ein standardisiertes Nachuntersuchungsprotokoll zur Messung des Outcomes. Derzeit ist kein diagnostisches Verfahren zur objektiven Beurteilung des Heilungsprozesses des Knorpels verfügbar. Bei dieser klinischen Studie wurden die ACT, die OAT und die MF mit üblichen klinischen und kernspintomographischen Methoden nachuntersucht. Die quantitative Bestimmung biochemischer Parameter in der Gelenkflüssigkeit kommt neu hinzu.

4.1 Problematik klinischer Scores

Um die klinischen Resultate nach operativer Knorpelbehandlung am Kniegelenk zu ermitteln, wurden zahlreiche Scores entwickelt. In der Vergangenheit kamen unter anderem der Larson- [LÖHNERT et al. 1999], Lysholm- [KNUTSEN et al. 2004; HORAS et al. 2003], Tegner- [KNUTSEN et al. 2004; HORAS et al. 2003], Cincinnati- [BAHUAUD et al. 2000; BENTLEY et al. 2003] und der HSS-Score [HANGODY et al. 1997] zur Anwendung. Dabei haben sämtliche Scores das Problem mangelnder Objektivität und Validität gemein. Im Oktober 1997 wurde die „International Cartilage Repair Society“ (ICRS) in Fribourg, Schweiz, gegründet. Es wurde vorgeschlagen, einen Konsens für eine Klassifikation von Knorpelverletzungen und ein standardisiertes, spezifisches System für die Beurteilung von Eingriffen am Knorpel zu etablieren [NEWSLETTER ICRS 1998].

Bei dieser vor Einführung des ICRS-Scores begonnenen Studie wurde der Larson-Score verwendet [LARSON et al. 1991]. Es handelt sich hierbei um einen zur allgemeinen Anwendung geeigneten Score, der ursprünglich für Kniegelenksendoprothesen konzipiert wurde. Er basiert zu 50% auf objektiven Daten und erfasst 7 verschiedene Kriterien unterschiedlicher Gewichtung [KRÄMER 1993]. BRITTBERG et al. erfassten die klinischen Resultate ihrer durchgeführten Eingriffe mit nur 4 Einteilungen (exzellent, gut, mäßig, schlecht) abhängig von nur wenigen Kriterien (Schmerz, Schwellung und Blockaden in Bezug zur Aktivität), die erheblichen subjektiven Einflüssen unterliegen [BRITTBERG et al. 1994]. Auch BENTLEY et al. zogen bei ihrer Vergleichsstudie von ACT und OAT den Cincinnati-Score heran [BENTLEY et al. 2003], der ebenfalls einen hohen Anteil subjektiver Kriterien aufweist [KRÄMER 1993]. Dieses Problem kann nur durch objektive Tests eingeschränkt werden. Ansätze dafür sind im ICRS-Protokoll vorhanden, doch auch dieses unterliegt subjektiven Einflüssen der Patienten und Untersucher mit Beeinträchtigung der intra- und interindividuellen Reliabilität.

Bei der vorliegenden Studie sind die Mediane der klinischen Ausgangsniveaus der ACT und OAT mit einem Punktwert von 84 identisch, deutlich darunter liegt der Punktwert der MF von 79. Der Ausgangszustand der Kniegelenke bei der Patientengruppe der Mikrofrakturierung ist demnach als schlechter als jener der beiden Vergleichsgruppen einzuschätzen, was mit dem höheren Patientenalter, der Defektgröße und zusätzlicher nicht behandelter Knorpelläsionen dieser Gruppe einhergeht. Alle Methoden zeigen eine deutliche Verbesserung bezogen auf die Ausgangssituation, bei unterschiedlichen Kurvenverläufen, die jedoch durch verschiedene, die Funktionalität beeinflussende Nachbehandlungsempfehlungen mitbedingt sein können. Hinsichtlich des Endwertes und der Steigerung im Punktwert liegt bei allen Methoden ein gutes klinisches Ergebnis nach einem Jahr im Sinne einer Verbesserung vor, was sich mit den publizierten klinischen Resultaten der verschiedenen Methoden [BAHUAUD et al. 2000; BRITTBERG et al. 1994; GILL 1999; HANGODY et al. 1997; HORAS et al. 2003; KNUTSEN et al. 2004; PETERSON et al. 2000; RODRIGO et al. 1994; STEADMAN et al. 1999] deckt. Bei den Untersuchungen von BENTLEY et al. zeigten sich nach einem Jahr ebenfalls gute klinische Ergebnisse bei der ACT (88%) und OAT (69%) [BENTLEY et al. 2003]. In Anbetracht mangelnder Validität der Scores lassen diese Ergebnisse jedoch kein Urteil über die verschiedenen Operationstechniken zu. Umso wichtiger ist daher die Auswertung anderer Nachuntersuchungsmethoden.

4.2 Möglichkeiten und Einschränkungen des MRT

Kernspintomographische Untersuchungen stellen ein geeignetes, nichtinvasives Verfahren zur Diagnostik von Knorpelverletzungen dar [GOLD et al. 1998]. Sowohl großflächige Fragmente, Erosionen und auf den subchondralen Knochen reichende Läsionen [OCHI et al. 1994], als auch kleine Defekte einer Tiefe von 1-3 mm [BUCKWALTER 1998; GYLIS-MORIN 1987; JONSSON et al. 1992; WOJTYS 1987] können abgegrenzt und visualisiert werden. Es bestehen jedoch kontroverse Aussagen bezüglich der Validität der Befunde. Bei den Untersuchungen von SPINDLER zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen arthroskopisch und kernspintomographisch erhobenen Gelenkknorpeldefekten [SPINDLER et al. 1993] und auch POTTER et al. gaben die kernspintomographische Sensitivität, Spezifität und Validität bei ihren Untersuchungen des Kniegelenkknorpels mit 87, 94 und 92% an [POTTER et al. 1998]. Dagegen konnten bei der Studie von Levy nur 21% der Knorpeldefekte, die arthroskopisch gesichert wurden, bei der Kernspintomographie erkannt werden [LEVY et al. 1996] und auch MUNK berichtete von deutlichen Diskrepanzen zwischen den Befunden der Kernspintomographie und Arthroskopie [MUNK et al. 1998]. Bei 9 von 13 Patienten dieser Studie zeigten sich ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen den kernspintomographisch und arthroskopisch festgestellten Defektflächen [SCHLEGEL 2001]. Die unterschiedliche Morphologie verschiedener dritt- und viertgradiger Knorpelschäden stellt eine Ursache unzuverlässiger Erfassung durch die Kernspintomographie dar. Komplette Läsionen bis auf den Knochen konnten zu 100% erfasst werden, wohingegen die Sensitivität von Erosionen (75%), Fragmentierungen (57%) und Erweichungen (14%) eingeschränkt war [OCHI et al. 1994]. Daher ist die Beurteilung der Größe von Defekten mit Erweichung oder Fragmentierung problematisch und kann zur Unterschätzung führen. Eine alleinig auf der Kernspintomographie basierende präoperative Operationsplanung ist daher nicht möglich. Auch die verwendeten Geräte, Sequenzen, Defektlokalisationen und die Fähigkeiten des befundenden Arztes tragen zu Einschränkungen der Aussagekraft der Kernspintomographie bei [BOBIC et al. 1999].

Zur Einschätzung des Behandlungserfolges nach operativer Knorpelbehandlung über einen längeren Zeitraum ist das MRT jedoch gut geeignet [BOBIC et al. 1998; LANG et al. 1998] und wird häufig eingesetzt [BURKHART u. IMHOF 2000; GRIFKA et al. 2000; HANGODY et al. 1997; IMHOFF et al. 1999; LÖHNERT et al. 1999]. Dabei können Knochenödeme als Merkmal schwerer Knorpelverletzungen erfasst [BOBIC et al. 1998] und ihre Entwicklung nach erfolgter operativer Intervention überwacht werden. Bisherige Untersuchungen

einschließlich dieser Studie gehen mit Problemen der Reproduzierbarkeit der zu vergleichenden Schnittebenen einher. Um einen exakten Vergleich der zu untersuchenden Knorpelregion zu gewährleisten, wäre es daher für zukünftige Längsschnittuntersuchungen günstig, eine definierte Lage des Kniegelenkes im Gerät in Höhe, Breite und Rotation bei jeder Untersuchung zu gewährleisten.

In den letzten Jahren wurde bei verschiedenen bedeutenden Studien wie der von Peterson mit einem Nachuntersuchungszeitraum über 9 Jahre [PETERSON et al. 2000] das Fehlen einer entsprechenden kernspintomographischen Verlaufskontrolle, angesichts der Beurteilungsmöglichkeiten kritisiert [ROBERT 2001]. Auch die Arbeiten über die MF von Steadman et al. entbehrten kernspintomographische Nachuntersuchungen [STEADMAN et al. 1999] und HANGODY et al. machten bei den nachuntersuchten OAT lediglich Aussagen über die Kongruenz der Gelenkfläche an der Transplantatstelle [HANGODY et al. 1997]. So zeigten sich bei der OAT bei anderen Untersuchern unterschiedliche Niveaus der Knorpel-Knochen-Grenzen im Defektareal ein Jahr postoperativ aufgrund unterschiedlicher Knorpeldicken der Transplantate und deutlich unterscheidbare Zylinder [IMHOFF et al. 1999], was sich auch bei den Kernspintomographien dieser Arbeit bestätigte (vgl. Abb. 16-18). Diese unterschiedliche Dicke der Knorpelschicht steht im Verdacht, ihre Einheilung und Inkorporation auf längere Sicht zu verhindern, wobei sich diese Aussage auf arthroskopische und histologische Befunde stützt [BENTLEY et al. 2003]. Außerdem wird die Abhängigkeit von einer soliden Faserknorpelregeneration in den Zylinderzwischenräumen als intrinsische Schwachstelle der Methode betrachtet [BENTLEY et al. 2003].

Kernspintomographien der ACT zeigten nach einem Jahr bei mehreren Untersuchern gut gefüllte und annähernd isointens integrierte Transplantatbereiche mit einer Signalangleichung gegenüber der Halbjahreskontrolle [BURKHART und IMHOF 2000; GRIFKA et al. 2000; LÖHNERT et al. 1999]. Diese Entwicklung zeigte sich auch bei dieser Studie (Abb. 13) mit einer guten Defektfüllung bei 82% (14 von 17) der behandelten Patienten [SCHNEIDER et al. 2003].

4.3 Beurteilung operativer Knorpelbehandlung anhand biochemischer Marker

Die standardisierte Analyse synovialer Marker scheint eine objektive Möglichkeit zur Beurteilung operativer Knorpelbehandlung darzustellen [LOHMANDER 1991; LOHMANDER et al. 1998]. Neben dem Vergleich der Markerverläufe der verschiedenen Operationstechniken galt es zu überprüfen, welche Marker sich für derartige Nachuntersuchungen eignen.

4.3.1 Ergebnisbeeinflussende Faktoren

Beim Vergleich von Operationsmethoden anhand der Analyse biochemischer Marker der Gelenkflüssigkeit muss der Frage nachgegangen werden, welche Faktoren neben den unterschiedlichen Operationstechniken das gemessene Ergebnis beeinflussen könnten. Bei der vorliegenden Arbeit kommen dabei folgende Kriterien in Frage:

- Strukturungleichheit der Vergleichsgruppen durch geringe Fallzahlen und fehlende Randomisierung hinsichtlich
 - Patientenalter
 - Voroperationen und Begleitläsionen
 - Dauer der Symptomatik
 - Defektgröße (Oberfläche)
 - Defekttiefe
 - Defektursache
 - Ergussbildung und Synovialitis
- Einfluss der Proben und ELISA-Tests
 - Inter- und Intratest-Variationskoeffizienten der ELISA-Tests
 - Unterschiedliche Lagerungsdauer der Proben

Randomisierung:

Ursache für die fehlende Randomisierung ist die kontroverse Einschätzung der Operationsmethoden durch die Operateure hinsichtlich der Indikationsstellung und des Operationserfolges [PETERSON 1998]. Außerdem spielt die Verfügbarkeit der Methoden in verschiedenen Kliniken eine wichtige Rolle. Daher wurden bei dieser Studie mehrere Zentren mit je 20 Patienten pro Methode als Studienziel integriert. Aufgrund der seltenen Durchführung der Methoden in den Zentren ließ sich diese Zahl jedoch nicht erreichen. Seither durchgeführte Studien sind häufig auf die monozentrische Untersuchung von nur einer Operationstechnik mit unterschiedlichen Nachuntersuchungsprotokollen reduziert [BAHUAUD et al. 2000; BRITTBURG et al. 1994; HANGODY et al. 1997; PETERSON et al. 2000; STEADMAN et al. 1999], wobei lediglich ein Vergleich zwischen verschiedenen Studien möglich ist. Auch hier ist keine Strukturgleichheit gewährleistet. Erst neueste Arbeiten können auf randomisierte Vergleichsgruppen verweisen [BENTLEY et al. 2003; KNUTSEN et al. 2004].

Patientenalter/Voroperationen und Begleitläsionen/Dauer der Symptomatik:

Bei der vorliegenden Studie lagen Durchschnittsalter und Median der ACT- und OAT-Patienten eng beieinander. Bei Gegenüberstellung dieser beiden Methoden scheint dieser Verzerrungsfaktor von untergeordneter Bedeutung zu sein. Hingegen waren Durchschnittsalter und Median der mikrofrakturierten Patienten deutlich höher. Der Zusammenhang zwischen dem Patientenalter und konsekutiv gesteigerter Knorpeldegradation könnte sich auf verschiedene Markerkonzentrationen auswirken, ebenso wie die unterschiedliche Dauer der Symptomatik bis zum Eingriff (ACT: 8,6 Jahre; OAT: 6,7 Jahre; MF: 10 Jahre), die Anzahl der verschiedenen Voroperationen (ACT: 1,8; OAT: 1,3; MF: 1,6) und ihre Art oder das Vorliegen zusätzlicher Knorpel- (Anteil der Patienten: ACT: 53%; OAT: 17%; MF: 88%) und Kreuzbandläsionen (Anteil der Patienten: ACT: 24%; OAT: 17%; MF: 22%). Diese Parameter werden als wichtige Einflußgrößen für die Progression der Arthrose [BUCKWALTER 2002] angesehen. Die Streuung hierbei wurde von anderen Untersuchern bei strengeren Einschlusskriterien stärker limitiert [KNUTSEN et al. 2004].

Defektgröße:

Hinsichtlich der Indikationsstellung für die Operationsmethoden war das Kriterium Defektgröße unmittelbar vor dem Jahr 2000 unklar definiert. Die von STEADMAN et al. veröffentlichten Empfehlungen für die Indikation zur Mikrofrakturierung betrafen Defekttiefe (Ausschluss partieller Defekte), Patientenalter, Einschätzung der Patientencompliance und vor

allem die Beinachsenverhältnisse, ohne Einschränkung der Defektgröße [STEADMAN et al 1999]. Hingegen beschreibt Bobic die „ideale“ chondrale Läsion für die Durchführung der OAT, als kleinen, 10-20 mm im Durchmesser umfassenden, durchgängigen chondralen Defekt, wobei er große Defekte als ungeeignet bezeichnet [BOBIC 1999]. Ursachen hierfür sind Probleme bei der Rekonstruktion der Oberfläche, begrenzte Verfügbarkeit der Zylindertransplantate und der Bedeutungsgewinn der Räume zwischen den Zylindern. Bei der ACT können auch große Defekte behandelt werden [BRITTBERG et al. 1994; PETERSON et al. 2000], sofern ein stabiler Randwall zur Verfügung steht. Erst unter Führung der ICRS wurde dieser Indikationsparameter genauer definiert. Wenn sich nach einem Debridement die Oberfläche eines Defekts auf weniger als 1cm^2 beläuft, ist das ökonomische und sparsame arthroskopische Vorgehen möglich (Abrasion, Perforation). Zwischen 1 und 3cm^2 sind Mikrofrakturierungen oder die OAT indiziert. Bei einer Größe über 3cm^2 ist die Transplantation von Chondrozyten anzuraten, wobei sie eventuell auch nach dem Versagen einfacher arthroskopischer Methoden vorgenommen werden kann [ROBERT 2001]. Diese Einteilung zur Indikation entspricht dem neuesten Konsens zur Indikation. Im Rahmen dieser Arbeit belief sich die durchschnittliche Defektgröße (Einzeldefekte im Kniegelenk berücksichtigt) auf $4,4\text{cm}^2$ bei der ACT, auf $1,3\text{cm}^2$ bei der OAT und auf $4,4\text{cm}^2$ bei der MF, wobei die Wahl der Operationstechnik den neuesten Indikationsempfehlungen hinsichtlich der Defektgröße [HUNZIKER 2002; JAKOB 2002] bei der ACT und OAT entspricht. Dies ist bei der MF nicht der Fall, da diese vor allem bis 2cm^2 indiziert ist und ab 4cm^2 nicht mehr empfohlen wird. Verschiedene Autoren beschrieben den Zusammenhang zwischen dem Ausmaß chondraler Destruktion [VAATAINEN et al. 1998; LOHMANDER 1993] und der Konzentration verschiedener Markersubstanzen. Es ist davon auszugehen, dass die unterschiedlichen Defektgrößen (vgl. Abb. 2) auch bei dieser Arbeit Einfluss auf bestimmte Markerkonzentrationen nehmen.

Defekttiefe und Ursache:

Auch Defekttiefe und Ursache chondraler Läsionen beeinflussen die Wahl der Methode. Läsionen, denen eine Osteochondritis dissecans zu Grunde liegt, sind oftmals sehr tiefgehend und profitieren von der Anwendung osteochondraler Transplantate [GROSS 1997; GARRETT 1997; HANGODY et al. 1999; IMHOF et al. 1999] oder autologer Chondrozytentransplantation [BRITTBERG et al. 1994; PETERSON 1998; ROBERT 2001]. Großflächige, tiefe osteochondrale Läsionen sind für die Anwendung der OAT aufgrund der Schwierigkeit, den subchondralen Knochen zu rekonstruieren und die Kontur der Gelenkfläche wiederherzustellen, ungeeignet [BOBIC 1999]. Solche Läsionen können mit der

ACT behandelt werden wenn geeigneten Defektränder zur Verfügung stehen. Im negativen Fall bleibt die Abrasion oder Mikrofrakturierung des betroffenen Areals als Alternative. Bei unseren Untersuchungen zeigten sich Inhomogenitäten der Vergleichsgruppen hinsichtlich der Ätiologie der Defekte. Läsionen, die mit einer MF, ACT, oder OAT behandelt wurden, gingen zu 22%, 35% und 85% auf eine Osteochondrosis dissecans zurück, die übrigen waren traumatisch degenerativer Natur. Diese Abweichungen könnten Einfluß auf die Messung biochemischer Marker im präoperativen Intervall haben, vor allem was die Marker des Knochenstoffwechsels betrifft.

Ergussbildung und Synovialitis:

Bei verschiedenen Patienten zeigen sich diverse Ausprägungen von Synovialitis und Gelenkergüssen. Um dieses Problem zu umgehen, stellten VAATAINEN et al. die Verhältnisse verschiedener Marker zueinander dar [VAATAINEN et al. 1998]. Bei dieser Arbeit haben wir die Markerkonzentrationen zur Gesamtproteinkonzentration der Synovialflüssigkeit ins Verhältnis gesetzt und als relative Konzentrationen dargestellt. Dies scheint plausibel zu sein, da die Proteinkonzentration mit dem Verdünnungsfaktor korreliert. Somit dient die Proteinkonzentration als feste Bezugsgröße für die Marker und gewährleistet die inter- und intraindividuelle Vergleichbarkeit.

Bezüglich der Strukturungleichheit des Patientengutes der Vergleichsgruppen sind weitere Faktoren denkbar, die aufgrund der geringen Fallzahlen Einfluss auf die gemessenen Werte nehmen könnten und die Interpretation erschweren. Bei der Betrachtung der Markerkurven verschiedener Methoden erscheint es deshalb schwierig die absoluten proteinbezogenen Konzentrationen der Baselines zu vergleichen, da sich vor erfolgter Operation die genannten Verzerrungsfaktoren am stärksten auswirken. Es erscheint daher sinnvoll, die intraindividuelle Kurvenentwicklung der Marker über die Zeit (relative baselinebezogene Werte) gemeinsam mit den absoluten proteinbezogenen Endkonzentrationen der Marker nach einem Jahr zum Vergleich der verschiedenen Operationsmethoden heranzuziehen. Dies ist günstig, da alle Vergleichsgruppen etwa gleiche Proteinkonzentrationen bei t52 aufwiesen.

Einfluß der Proben und ELISA-Tests:

Hinsichtlich der Proben und Testmaterialien könnten sich vor allem die Inter- (3%-14,6%) und Intratest-VK (2,1%-19%) der unterschiedlichen Tests auf das gemessene Ergebnis auswirken. Da aber die interindividuelle Variation deutlich größer ist, sind diese Variationskoeffizienten vernachlässigbar. Was die unterschiedliche Dauer der Lagerung der Proben angeht (zwischen 0,5 und 2 Jahren), so ist bei einer Lagerungstemperatur von -80°C

nur von geringen Einflüssen auszugehen. Mehrere Einfrier- und Auftauzyklen könnten sich aber geringfügig auswirken (maximal 3 bei dieser Studie). Die Hersteller der ELISA-Kits verweisen auf eine maximal vertretbare Anzahl von 3-5 solcher Zyklen.

4.3.2 Verlauf biochemischer Marker und Korrelation mit dem MRT

Primäres Ziel operativer Knorpelbehandlung ist die Verbesserung der klinischen Situation des Patienten, vor allem aber die Unterbrechung des Fortschreitens der Gelenkdestruktion. Durch Schädigung des Gelenkknorpels werden Metaboliten frei, die ihrerseits Enzyme zum Abbau der geschädigten Knorpelstrukturen induzieren. Diese Prozesse führen jedoch nicht nur zum begrenzten Abbau geschädigten Knorpels, sondern greifen auch auf intakten Knorpel über und führen zu einer Art Selbstverdau [MANKIN et al. 1994]. Ein *circulus vitiosus* entsteht, der zur Zerstörung des Gelenkknorpels führt [PETERSON 1996]. Die Unterbrechung derartiger autolytischer Kreisläufe ist das Ziel operativer Knorpelbehandlung. Über die genauen Mechanismen dieser Prozesse sind noch wenige Kenntnisse vorhanden [VAATAINEN et al. 1998]. Es können jedoch verschiedene, während der Degenerationsprozesse freigesetzte Fragmente und Metaboliten bestimmt werden, die Einblick in die Gelenksituation ermöglichen [LOHMANDER et al. 1991; LOHMANDER et al. 1998]. Bei dieser Studie wurden die Knorpelmarker MMP-1, MMP-3, TIMP-1, YKL-40, Proteoglykane und die Knochenmarker DPD, NTx und PICP in der Synovialflüssigkeit von 17 Patienten nach ACT, 6 Patienten nach OAT und 9 Patienten nach MF untersucht.

Protein:

Alle Kurven der verschiedenen Methoden zeigten charakteristische Verläufe mit initialem deutlichen Anstieg der Werte auf ein Höchstniveau nach 6 Wochen, korrelierend mit dem Operationstrauma. Danach fielen die absoluten Konzentrationen von UZ zu UZ kontinuierlich ab, wobei die ACT nach einem Jahr als einzige Methode unter ihre Baseline abfiel, die jedoch einen sehr hohen Wert aufwies. Dies bleibt vor dem Hintergrund der Verzerrungsfaktoren bei t6, t12 und t26 unklar, zumal die Defektgrößen der ACT und MF vergleichbar waren. Ein gewisser Einfluss von Anzahl (1,8) und Art der Voroperationen (Menisken) könnte dazu beitragen. Trotz dieser hohen Werte der ACT zu Beginn der Untersuchungen bleibt der niedrigste absolute Wert der ACT nach einem Jahr festzuhalten, wobei die Werte aller Methoden zu diesem Zeitpunkt sehr eng beisammen lagen (Für $C_{ACT}=100\%$ entspricht $C_{OAT}=105\%$ und $C_{MF}=109\%$), was sich vorteilhaft auf den Vergleich der proteinbezogenen Markerkonzentrationen nach einem Jahr auswirkt. Bei der OAT könnte die Defektgröße, die

kurze Dauer der Symptomatik (6,7 Jahre) und die geringe Anzahl von Voroperationen (1,3) das niedrigste Basisniveau mitbedingen. Ebenso ist ein Einfluss der hintereinander durchgeführten Proteintests bei einem Intertest-VK von 14,6% wahrscheinlich.

MMP-1 und MMP-3:

Matrixmetalloproteinasen wurden in Erwägung gezogen, eine wichtige Rolle bei der Degradation der ECM zu spielen [NGUYEN et al. 1989; DEAN et al. 1989]. Sie sind fähig, Proteoglykane und Kollagene zu spalten. Hohe Konzentrationen wurden bei Osteoarthrose (OA) und der rheumatoider Arthritis (RA) nachgewiesen [LOHMANDER et al. 1993; PELLETIER et al. 1990]. Synthetisiert werden sie von Synovial- und Knorpelzellen genauso wie ihre Gewebehinhibitoren (TIMPs) [LEFEBVRE et al. 1990; MCCACHREN et al. 1990; MACNAUL et al. 1990] und sind nur in geringer Konzentration in der Gelenkflüssigkeit gesunder Kontrollpersonen vorhanden. MMP-3 war unter normalen Bedingungen nach Gelenkspülungen mit 20ml steriler physiologischer Kochsalzlösung in sehr niedriger Konzentration und MMP-1 nicht messbar [VAATAINEN et al.1998].

Bei unseren Untersuchungen zeigten sich präoperativ unterschiedliche MMP-1-Basiskonzentrationen. Dies könnte mit am Ausmaß der chondralen Schädigung liegen, denn VAATAINEN et al. konnten die Korrelation zwischen dem Grad der Chondromalazia patellae (Grad I-IV nach Outerbridge) und der Konzentration dieses Markers signifikant nachweisen. Hinsichtlich der Defektgröße scheint daher plausibel, warum die OAT eine deutlich geringere Baseline-Konzentration als die anderen Methoden aufwies, jedoch lag die Baseline der ACT auch hier deutlich über dem Ausgangsniveau der MF. Dies korreliert mit dem präoperativen Befund der Proteinkonzentration. Die Ursache dafür bleibt unklar, jedoch streuten die Werte der ACT zum präoperativen Zeitpunkt stärker als die anderen Methoden bei großem unteren Quartil. Dies deutet auf einen geringeren Unterschied der präoperativen Ausgangswerte der ACT und MF hin, als es durch die Baselines auf den ersten Blick zum Ausdruck kommt. Der charakteristische Anstieg des Markers bei allen Methoden nach 6 Wochen lässt sich auf den unmittelbar zurückliegenden Eingriff zurückführen. Auffällig ist der stetige Abfall des Markers bei der ACT auf 16% des Basiswertes gegenüber der Kurve der MF, die von der Tendenz her einen ähnlichen, weniger ausgeprägten Verlauf nahm und bei 46% des Basiswertes endete. Hingegen verlief der Graph der OAT uncharakteristisch und wies nach einem Jahr 101% des Ausgangswertes auf. Dies scheint den selben Grad chondraler Destruktion wie vor der Operation wiederzuspiegeln und könnte in Zusammenhang mit den offenverbliebenen Transplantatentnahmestellen stehen, die ihrerseits neue Defekte darstellen,

was sich bei allen Patienten nach einem Jahr an mindestens einer Entnahmestelle auch kernspintomographisch zeigte. Im Gegensatz dazu strebte die Kurve der ACT gegen physiologische Bereiche, was für eine erfolgreiche Normalisierung des Gelenkmilieus durch das Operationsverfahren spricht. Der Vergleich der absoluten Konzentrationen nach einem Jahr untermauert diese interindividuellen Tendenzen. So betrug der OAT-Wert 257% und der MF-Wert 184% des ACT-Wertes.

Die Ausgangskonzentrationen der MMP-3 aller Methoden zeigten über das physiologische Niveau erhöhte Werte. Auch in anderen Untersuchungen wurden bei Osteoarthritis oder vorausgegangenem Trauma 15-45fach höhere MMP-3-Konzentrationen als bei Gesunden nachgewiesen [LOHMANDER et al. 1993₂]. VAATAINEN und Mitarbeiter fanden ebenfalls signifikant höhere synoviale Konzentrationen dieses Markers bei Patienten mit Chondromalacia patellae als bei Vergleichspersonen [VAATAINEN et al. 1998]. Bei unseren Bestimmungen zeigten die Graphen der MMP-3 aller Methoden charakteristische Kurvenverläufe mit ähnlichen Verlaufstendenzen wie die Kurven der MMP-1. Nach 26 Wochen fand sich aber bei der OAT kein Anstieg des Markers wie bei der MMP-1. Der Graph der OAT blieb auch hier nach einem Jahr knapp über Ausgangsniveau, wohingegen die Werte der ACT und MF die Baseline unterschritten. Ein korrelierender Verlauf von MMP-1 und MMP-3, die andere Untersucher feststellten [ISHIGURO et al. 1999], lässt sich bei den Verlaufstendenzen der Marker und beim Vergleich der absoluten Konzentrationen aber trotzdem nur eingeschränkt beobachten. Auffällig ist vor allem das niedrige Basisniveau der ACT (in Bezug zu den anderen Techniken) bei der MMP-3 im Vergleich zur MMP-1. In Anbetracht der großen Streuung der MMP-1 zum präoperativen Zeitpunkt im unteren Quartil scheint sich diese Diskrepanz etwas zu relativieren. Bei Betrachtung der absoluten Werte ein Jahr nach den Operationen wies die ACT wie bei der MMP-1 die geringste absolute Konzentration auf, näherte sich also am deutlichsten an physiologische Konzentrationen an (Für $C_{MF}=100\%$ entsprach $C_{OAT}=96,29\%$ u. $C_{ACT}=52,62\%$). Vor dem Hintergrund der Untersuchungen von Vaatainen et al. scheint die ACT in Anbetracht der gleichförmig sinkenden Kurve den Gelenkstoffwechsel am günstigsten zu beeinflussen, und als zeige sie den niedrigsten Grad chondraler Schädigung nach einem Jahr.

TIMP-1 und Quotienten:

Dieser Marker zeigte bei den Untersuchungen der CM der Patella [VAATAINEN et al. 1998], bei RA [CLARK et al. 1993] und bei OA [LOHMANDER et al. 1993₂] die selben Tendenzen wie die MMPs. Bei den untersuchten Patienten dieser Studie wies der Marker bei der ACT

und OAT nach 6 Wochen einen charakteristischen Anstieg auf, der bei der ACT von einem homogenen Abfall unter Basisniveau gefolgt war: Konträr hingegen war der ansteigende Verlauf bei der OAT ab der 12. Woche (t_{52} : 176% d. BW_{OAT}). Die ACT scheint hier im Vergleich zur OAT einen Markerverlauf zu induzieren, der auf physiologische Bereiche zustrebt (t_{52} : 81% d. BW_{ACT} ; $C_{ACT}=11,39\%$ u: $C_{OAT}=75,85\%$ für $C_{MF}=100\%$). Uncharakteristisch war der Verlauf bei der Mikrofrakturierung mit einem Abfall unter die Ausgangskonzentration des Markers, bei auffällig hohen absoluten Markerkonzentrationen. Vor dem Hintergrund der Defektgröße, des Alters und der klinischen Ausgangssituation der Patienten ist es schwer zu interpretieren, inwiefern die Operationsmethode diesen Verlauf induzierte. Es scheint vielmehr, als sei sie ohne prägenden Einfluss.

Da durch Bindung von TIMP-1 im Verhältnis von 1:1 die Aktivität dieser matrixspaltenden Proteasen gehemmt wird [COULOMBE et al. 1992; MORT et al. 1993] ist es von Interesse die Verhältnisse der untersuchten Metalloproteinasen zu TIMP-1 zu betrachten. VAATAINEN und Mitarbeiter beobachteten bei CM der Patella stets konstante Verhältnisse zwischen der MMP-3 und dem Inhibitor. Hingegen zeigten die Quotienten aller Methoden bei dieser Arbeit charakteristische Verläufe, die von der Tendenz her homogen abfielen, verursacht durch eine Aufregulierung des Inhibitors bis zu einem Jahr. Trotz dieses Überschusses ist das Vorliegen von aktiver Metalloproteinase in der Knorpelmatrix im zeitlichen Verlauf nicht ausgeschlossen [VAATAINEN et al.1998].

YKL-40:

Das Glykoprotein YKL-40 (auch Chondrex genannt) wird von Chondrozyten des Gelenkknorpels [HAKALA et al. 1993; JOHANSEN et al. 1993], Fibroblasten der Synovialis [NYRIKOS u. GOLDS 1990], Makrophagen und neutrophilen Granulozyten produziert und freigesetzt [JOHANSEN 1999]. Verschiedene Autoren postulierten die Beteiligung von Chondrex am Umwandlungsprozess von Gewebe [HAKALA et al. 1993; JOHANSEN et al. 1993; JOHANSEN 1996]. Bei Patienten mit entzündlichen und degenerativen Gelenkerkrankungen zeigten sich signifikant höhere YKL-40-Konzentration in der Gelenkflüssigkeit als bei gesunden Vergleichspersonen [HARVEY 1998], wobei eine Relation der Konzentration des Markers von der Gelenkflüssigkeit zum Serum von 10 zu 1 nachgewiesen wurde [JOHANSEN 1996]. Im gesunden Knorpel konnte YKL-40 nur vereinzelt in Zonen großer Druckbelastung nachgewiesen werden [VOLK et al. 1999]. Die bei dieser Arbeit gemessenen Baseline-Konzentrationen der verschiedenen Patientengruppen lagen über dem physiologischen Bereich und differierten auch bei diesem Marker erheblich.

Dabei lag der Ausgangswert der ACT über dem der OAT und deutlich darüber der Wert der MF, was für einen Zustand fortgeschrittener degenerativer Gelenkerkrankung spricht. Im Einklang dazu steht bei der MF das höhere Patientenalter, die Defektgröße, die Dauer der Symptomatik (10 Jahre), das Vorhandensein zusätzlicher Knorpelläsionen (bei 88% der Patienten) und die schlechtere klinische Ausgangssituation (Score), was einen Vergleich mit den Patientengruppen der ACT und OAT unmöglich macht. Die Patientengruppen der ACT und OAT lassen sich gut vergleichen, wobei der präoperative Ausgangszustand (Defektgröße, Dauer der Symptomatik, Art und Anzahl der Voroperationen, Begleitleäsionen) in Zusammenhang mit der höheren Basiskonzentration der ACT-Patienten zu stehen scheint. Hinsichtlich der charakteristischen Kurvenanstiege der Methoden nach 6 Wochen fällt vor allem der starke Anstieg bei der OAT auf über 400% des Ausgangswertes auf, der die starke Gelenkraumatisierung dieser Operationsmethode mit Behandlung des Knorpeldefektes auf Kosten neuer Defekte (Entnahmestellen) wiederzuspiegeln scheint, die als ein Hauptproblem dieser Operationstechnik betrachtet werden [BENTLEY et al. 2003; ROBERT 2001]. Die erhöhten relativen, baselinebezogenen und absoluten (proteinbezogenen) Werte der OAT nach einem Jahr (151% d. BW_{OAT} ; $C_{OAT}=91,49\%$ u. $C_{ACT}=32,84\%$ für $C_{MF}=100\%$) bestätigen die Belastung des Gelenkes durch diese Eingriffe, was mit den kernspintomographischen Befunden ungenügender Reparatation an den donor sites einhergeht (vgl. Abb. 16-18). Auch die unterschiedlichen Niveaus der Knorpel-Knochen-Grenze an den Transplantatstellen und die unterschiedlichen Knorpeldicken der Zylinder, die im MRT zu Darstellung kamen, werden für die Einheilung der Zylinder auf längere Sicht (> 1 Jahr) als ungünstig eingeschätzt. Ebenso die Räume zwischen den Zylindern [BENTLEY et al. 2003]. Dies könnte sich schon unmittelbar postoperativ im Stoffwechsel des Knorpels niederschlagen und die erhöhten Markerkonzentrationen der OAT mitbedingen. Markant dagegen ist die Kurve der ACT, die schon nach 26 Wochen ein sehr niedriges annähernd physiologisches Niveau erreicht, das auch nach 52 Wochen Bestand hat (38% d. BW_{ACT}). Dies ist hinsichtlich des Gelenkmilieus im Sinne eines normalisierenden Einflusses der Operationsmethode zu werten.

Proteoglykane:

Glykosaminoglykane (Chondroitin-, Keratan-, Dermatan-, und Heparansulfat) als Spaltprodukte von Proteoglykanen wie Aggrekan können bei OA und Gelenkverletzungen als Marker der Synthese und Degradation des Knorpels dienen. So wurden in diesem Zusammenhang von verschiedenen Untersuchern erhöhte Konzentrationen fragmentierter Aggrekane nachgewiesen [DAHLBERG et al. 1994; LOHMANDER et al. 1993₁; LOHMANDER et al. 1993₂; LOHMANDER et al. 1998; RIZKALLA et al. 1992]. Diese in

der Literatur beschriebenen Zusammenhänge können bei der Untersuchung unseres Patientengutes weder bestätigt noch verneint werden. Es zeigten sich uncharakteristische Kurvenverläufe der einzelnen Methoden, wobei viele Proben am Rande des Detektionslimits oder gar darunter angesiedelt waren. Ein Zusammenhang zwischen den Operationsmethoden und den Markerverläufen war nicht erkennbar. Folglich scheint dieser Marker zur vergleichenden Untersuchung fokaler Knorpeldefekte unter den angewandten Versuchsbedingungen nicht geeignet zu sein.

PICP:

Bevor bei der Synthese des Knochenkollagenes (Typ I) die Prokollagenmoleküle quervernetzt werden, spalten spezifische Proteasen die Propeptidanhängsel ab [BURGESON 1988]. Die vom carboxyterminalen Ende abgespaltene Sequenz ist als c-terminales Propeptid des Typ I-Kollagens (PICP oder CICP) bekannt und wird in einem Verhältnis von 1:1 zu den in die Knochenmatrix eingebauten Kollagenen ins Serum freigesetzt [RISTELI u. RISTELI 1992]. Deshalb kann die Serumkonzentration von PICP den Stoffwechsel und die Synthese des Knochens indizieren [PARFITT et al. 1987; SIMON et al. 1984]. Darüber hinaus scheint es, als könne der Marker auch über synoviale Bestimmung genutzt werden [HAKALA et al. 1995] und Aufschlüsse über die Knochenneubildung und Regeneration bei Gelenkerkrankungen liefern. HAKALA konnte bei Rheumatikern erhöhte Konzentrationen aminoterminaler Propeptide in der Synovialflüssigkeit nachweisen. Synoviale Analysen des c-terminaler Propeptides wurden jedoch bisher noch nicht beschrieben. Die verschiedenen Patientengruppen unserer Untersuchungen wiesen alle erhöhte Basiskonzentrationen des Markers auf, jedoch von unterschiedlicher Ausprägung. Hierbei scheint es, als bestehe ein Zusammenhang zwischen dem höchsten präoperativen Niveau der MF und dem präoperativen Gelenkzustand dieser Patientengruppe. Diese Annahme widerspricht jedoch der Betrachtung dieses Zusammenhanges bei der OAT. Hier könnte sich jedoch neben verschiedenen Verzerrungsfaktoren die Ätiologie der Knorpeldefekte dieser Vergleichsgruppe auswirken, denn in 85% der Fälle lag den Läsionen eine Osteochondrosis dissecans zugrunde (35% bei der ACT, 22% bei der MF). Ein erhöhter Knochenumsatz ist bei den tiefgehenden, den Knochen stark involvierenden OD-Defekten durchaus wahrscheinlich. Alle Graphen zeigten charakteristische Verläufe mit über Ausgangsniveau erhöhten Markerkonzentrationen bis einschließlich 12 Wochen nach den Eingriffen. Auffallend ist vor allem der Anstieg bei der OAT nach 6 Wochen auf absolute Höchstwerte im Vergleich aller Methoden (260% d. BW), ähnlich wie beim Marker YKL-40. Ein Zusammenhang mit den offen verbliebenen Zylinderentnahmestellen liegt auf der Hand, denn sie stellen tiefe, frische osteochondrale

Defekte dar, die erhebliche Knochensynthese- und Umbauvorgänge induzieren. Dies deckt sich mit den zu diesem Zeitpunkt kernspintomographisch festgestellten erheblichen Signalsteigerungen des Knochens bei unvollständiger Knochenabdeckung (vgl. Abb.16-18). Nach einem Jahr lagen die Kurven aller Methoden deutlich unter den Baselines und waren von abfallender Tendenz, die absoluten Werte der OAT und der MF jedoch noch erhöht, wohingegen sich die ACT bereits an physiologische Bereiche annäherte ($C_{MF}=100\%$ entsprach $C_{OAT}=80,09\%$ u. $C_{ACT}=16,82\%$). Durch die operative Behandlung mit der ACT scheinen Stoffwechsel und Neubildung des Knochens anhand dieses Markers nur noch in geringem Maße nachweisbar zu sein.

DPD:

Pyridinolin und Deoxypyridinolin (DPD) sind kovalente Quervernetzungen („crosslinks“) des Kollagens [FUJIMOTO et al. 1980], wobei Pyridinolin im Kollagenen verschiedener Gewebe, DPD hingegen vor allem im Knochen und nicht im Knorpel vorkommt [EYRE et al. 1984; SEIBEL et al. 1992]. Daher eignet sich DPD als Marker der Knochenresorption [EASTELL et al. 1997; ROBINS 1986]. Bei Osteoarthritis des Kniegelenkes wurden signifikant erhöhte Urinkonzentrationen von DPD im Vergleich zu Gesunden nachgewiesen [MacDONALD et al. 1994; STEWART et al. 1999], was die Knochenresorption im Rahmen der Gelenkdestruktion aufzeigt. Der Beitrag anderer Gewebe wie der Synovialis zur DPD-Freisetzung wurde diskutiert [TAKAHASHI et al. 1996; MacDONALD et al. 1994]. Man geht jedoch von Knochenspezifität des Markers bei Bestimmung in der Synovia aus. Die Analysen bei den Patienten dieser Studie zeigten zwar leicht erhöhte Konzentrationen des Markers, diese lagen jedoch größtenteils am Detektionslimit im Pikkogramm-Bereich des ELISA-Testes. Daher war zu verschiedenen Messzeitpunkten bei manchen Patienten kein DPD in der Synovia nachweisbar. Das hohe präoperative Niveau des Markers bei der ACT, das auch nach 6 und 12 Wochen bestand hatte, fiel nach einem Jahr auf das tiefste absolute Niveau aller Methoden ab und zeigte auch die deutlichste relative Absenkung unter den Ausgangswert. Die anderen Kurven waren weniger charakteristisch und wiesen präoperativ und in den ersten 12 Wochen des Beobachtungszeitraums deutlich niedrigere absolute Werte auf. Diese verschiedenen Ausgangskonzentrationen der Methoden sind vor dem Hintergrund möglicher Verzerrungsfaktoren bei sehr geringen Konzentrationen schwer interpretierbar, wobei sich der Einfluss des präoperativen Gelenkzustandes (Defektgröße, Tiefe, Dauer der Symptomatik, Anzahl und Art der Voroperationen, BegleitleSIONen etc.) und des Alters der Patienten nur beim Vergleich zwischen ACT und OAT prägend darstellt. Angesichts dieser Unklarheiten und der Problematik, mit der synovialen Verdünnung des Versuchsprotokolles

nur geringste DPD-Konzentrationen bestimmen zu können (erhöhte Inter- und Intratest-VKs bei geringen Konzentrationsbereichen), bleiben Zweifel an der Aussagekraft dieses Markers unter den angewandten Testbedingungen zur Beurteilung der Knorpelheilung.

NTx:

Die aminoterminalen Telopeptidregionen von Kollagen Typ I (NTx) stellen nichthelikale Quervernetzungsstellen zu helikalen Regionen gebundener Nachbarmoleküle dar. Im Urin scheint der Marker mit der DPD-Konzentration zu korrelieren [GERTZ et al. 1994]. Beide stehen bezüglich ihrer Herkunft in enger Verbindung zueinander, denn NTx ist an 60% der DPD-Bindungen des Knochens beteiligt [OGAWA et al. 1982]. Während der Degradation knöchernen Gewebes wird NTx freigesetzt und kann aufgrund seiner Aminosäuresequenz eindeutig dem Knochen zugeordnet werden. Deshalb ist der Marker als spezifischer Indikator der Knochenresorption nutzbar [AKESSON 1995]. Bei den Untersuchungen dieser Studie zeigten die Patienten aller Methoden deutlich erhöhte NTx-Konzentrationen zu Studienbeginn und waren unter dem angewandten Versuchsprotokoll unter Verwendung von Kontrollreagenzien gut im Detektionsbereich bestimmbar. Eine Auswertung und Interpretation der Korrelationen zwischen NTx und DPD scheint aufgrund der Problematik der DPD-Analyse nicht sinnvoll zu sein. Die Basiswerte der verschiedenen Methoden waren alle im selben Bereich angesiedelt mit hoher Streuung nach oben bei der ACT. Vor dem Hintergrund sämtlicher verzerrender Einflüsse stellten sich diese Ausgangswerte nivelliert dar. Ausgehend von dieser Basis waren die Kurvenverläufe weniger charakteristisch als bei anderen Markern, zeigten jedoch von der Tendenz bei der ACT abfallenden und bei den anderen Methoden aufsteigenden Charakter. Nach einem Jahr lag die ACT deutlich unter Ausgangsniveau, die anderen Methoden lagen dagegen darüber (49% d. BW_{ACT} , 124% d. BW_{MF} , 129% d. BW_{OAT}). Auch die absoluten Konzentrationen waren bei der ACT am geringsten (Für $C_{OAT}=100\%$ entsprach $C_{MF}=92,46\%$ u. $C_{ACT}=32,87\%$). Dies könnte ein Hinweis für eine Verminderung der Knochenresorption durch die knochenversiegelnde Behandlung der Läsion mit Knorpelgewebe durch die ACT sein, zumal sich kernspintomographisch in 82% der Fälle eine gute Füllung und Knochenabdeckung der Defekte fand. Hingegen zeigte sich eine gesteigerte Knochenresorption bei der OAT und MF bei hohen absoluten Werten nach einem Jahr. Die durch Mikrofrakturierung induzierten Knorpellammellen waren sehr dünn und in 66% der Fälle partiell bis auf den Knochen ausgedünnt (MRT), was die hohen Markerwerte erklären könnte. Bei der OAT ist ein Zusammenhang mit den Transplantatentnahmestellen bei ungenügender Knochenabdeckung bei der MF angesichts der kernspintomographischen Befunde durchaus möglich, denn bei

allen OAT-Patienten zeigten nach einem Jahr persistierende subchondrale Knochenödeme an allen „donor sites“ bei unbefriedigender signalinhomogener Abdeckung (vgl. Abb. 16-18). Angesichts erheblichen nicht zu unterschätzenden Druckes auf diese Entnahmestellen während der Gelenkartikulation [SIMONIAN et al. 1998], ist eine von ihnen ausgehende langfristige Progression chondraler Destruktion vorstellbar, zumal sich an den Defekträndern dieser Stellen erhöhte Kontaktdrücke aufbauen [BROWN et al. 1991]. Ein Einfluss der als problematisch angesehenen Zwischenräume im Mosaik der transplantierten Zylinder [BENTLEY et al. 2003] auf die Markerkonzentration ist ebenfalls denkbar.

Diese Studie ist die erste, die moderne Knorpelbehandlungstechniken anhand synovialer Analyse vergleichend untersucht. Die verwendeten Marker MMP-1, MMP-3, TIMP-1, YKL-40, Proteoglykane, PICP, NTx und DPD erwiesen sich unter den angelegten Versuchsbedingungen für die Beurteilung operativer Knorpelbehandlung unterschiedlich geeignet. Dabei ist es nicht möglich, einzelne Marker alleinig zur Beurteilung der Knorpelheilung heranzuziehen, jedoch zeigte das Auftreten ähnlicher Verläufe verschiedener Marker gewisse Tendenzen auf. Vor allem die Matrixmetalloproteinasen, TIMP-1, YKL-40, PICP und NTx lieferten nach synovialer Analyse charakteristische Verlaufstendenzen des Knorpel- und Knochenstoffwechsels, welche die ACT als schonende und das Gelenkmilieu normalisierende Methode ausweisen, wobei die absoluten proteinbezogenen Markerkonzentrationen und die auf das Basisniveau bezogenen Werte die günstige Wirkung in Übereinstimmung zeigen. Dagegen spiegelte sich die Invasivität des operativen Eingriffes der OAT bei den MMPs und TIMP-1, vor allem aber bei Betrachtung von YKL-40, PICP und NTx wieder. Dies deckt sich bei beiden Operationsmethoden mit den kernspintomographischen Befunden. Hinsichtlich einer langfristigen Degeneration des Knorpels sind sowohl die osteochondralen Entnahmestellen der OAT als auch die Integration der Zylinder als bedenklich einzuschätzen. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit neueren arthroskopischen Vergleichsuntersuchungen der ACT und OAT 2 Jahre postoperativ, die unter Anwendung des ICRS-Scores für Kontrollarthroskopien ausgewertet wurden [BENTLEY et al. 2003]. Demnach fanden die guten ACT-Resultate anderer Untersucher signifikante Bestätigung in 88% der Fälle. Die Fortsetzung der OAT wird als „von zweifelhaftem Wert“ angesehen aufgrund von lediglich 34% signifikant guter Ergebnisse. Kontrovers hierzu befürworten HORAS et al. die OAT [HORAS et al. 2003] aufgrund histologisch nachgewiesenem hyalinen Knorpel der Zylinder im Defektbereich. Dabei wurden jedoch nur wenige Patienten nach einem ausreichend langen Zeitraum biopsiert, und die

Abstufung der Knorpelknochengrenze, die Integration über die Zylinderzwischenräume und das Outcome der Entnahmestellen wenig in Erwägung gezogen. Die MF zeigte bei der hier vorliegenden Studie weniger charakteristische Kurvenverläufe und scheint in der Gesamtschau der biochemischen Befunde das Gelenkmilieu wenig zu beeinflussen. Dies widerspricht sich mit den Ergebnissen von Knutsen et al., die ACT und MF randomisiert mit einer hohen Patientenzahl (n=40 pro Gruppe) verglichen, wobei 84% der Patienten histologisch untersucht wurden. Hierbei zeigte die MF nach 2 Jahren signifikant höhere klinische Verbesserung als die ACT bei gleichen makroskopischen und histologischen Ergebnissen ohne signifikante Unterschiede [KNUTSEN et al. 2004]. Insgesamt werden dabei beide Methoden als akzeptabel mit vergleichbarem Resultat eingestuft. Die Studienaufnahme wurde dabei unter strenger Berücksichtigung von Ausschlusskriterien wie BegleitleSIONen, Patientenalter, Defektgröße und Ausgangssituation der Gelenke vorgenommen. Da in der vorliegenden Arbeit beim Patientenkollektiv der MF die Gelenke stark vorbelastet waren, ist die Aussagekraft der Marker bei dieser Vergleichsgruppe zur Verlaufskontrolle nach operativer Knorpelbehandlung stark limitiert.

Aufgrund nicht durchführbarer Randomisierung und geringer Fallzahlen kann diese Studie, nur als Pilotstudie mit eingeschränkter Aussagekraft gewertet werden, deren Ergebnisse in zukünftigen Studien mit größerer Patientenzahl weiterverfolgt werden sollten, zumal die Markerdiagnostik einen neuen, vielversprechenden Ansatz zur Beurteilung operativer Knorpelbehandlung bietet. Es gibt jedoch zur Zeit noch keinen idealen, absolut spezifischen Knorpelmarker. Hierzu sind weitere Entwicklungen notwendig, um bei der objektiven Einschätzung operativer Knorpelbehandlungstechniken weitere Fortschritte zu erzielen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe biochemischer Marker ist es möglich geworden, die Knorpel- und Knochenschädigung in Gelenken zu objektivieren. Diese Studie ist die erste mit dem Versuch, aktuelle Operationstechniken zur Knorpelbehandlung durch Quantifizierung biochemischer Marker in der Synovialflüssigkeit vergleichend zu beurteilen. Dabei wurden Patienten, die sich Autologer Chondrozytentransplantation (ACT), Osteochondraler Autologer Transplantation (OAT) und Mikrofrakturierung (MF) unterzogen, nachuntersucht. Gleichzeitig wurde überprüft, ob die unterschiedlichen Marker zur Dokumentation der postoperativen Heilung verwendet werden können.

Im Rahmen dieser prospektiven Studie wurden 17 ACT-Patienten, 6 OAT-Patienten und 9 MF-Patienten sowohl präoperativ als auch 6, 12, 26 und 52 Wochen nach den operativen Eingriffen untersucht. Die Kniegelenke wurden mit 50ml isotonischer Kochsalzlösung gespült und die Parameter Metalloproteinase 1 (MMP-1), Metalloproteinase 3 (MMP-3), Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1 (TIMP-1), YKL-40 (Chondrex), Proteoglykane (PG), Deoxypyridinoline (DPD), quervernetzte N-Telopeptide des Kollagens Typ I (NTx) und c-terminales Propeptid des Kollagens Typ I (PICP) mittels handelsüblicher ELISA-Kits quantifiziert. Dabei wurden die gemessenen Werte in Bezug zur totalen Proteinkonzentration der synovialen Spülflüssigkeit gesetzt. Neben den biochemischen Analysen wurden klinische und kernspintomographische Untersuchungen durchgeführt.

Die Verlaufstendenzen (baselinebezogen) und die absoluten proteinbezogenen Konzentrationen der Marker MMP-1, MMP-3, TIMP-1, YKL-40, NTx und PICP nach einem Jahr und in der Gesamtbetrachtung bestätigen ihre Eignung zur Überprüfung osteochondraler Heilung und reflektierten einen günstigen Einfluss der ACT auf das Gelenkmilieu. Die Markerkonzentrationen fielen ab und strebten gegen physiologische Bereiche. Dagegen deckten die Markerverläufe bei der OAT den traumatisierenden Einfluss dieser Operationsmethode mit einer ungünstigen Stoffwechselsituation am Ende des Beobachtungszeitraumes auf. Deutlich zeigte sich dies bei den Markern YKL-40 und NTx,

die bei der OAT nach einem Jahr über der Baseline lagen, bei der ACT dagegen klar darunter. Auch die absoluten proteinbezogenen Werte von YKL-40 und NTx waren bei der OAT im Vergleich zur ACT bei guter Vergleichbarkeit (gleiche Proteinkonzentrationen nach einem Jahr) stark erhöht. Auch PICP zeigte bei der OAT im Vergleich mit der ACT und MF diese Tendenz, wobei die Baseline nur gering unterschritten wurde.

Diese Ergebnisse wurden durch die kernspintomographischen Befunde untermauert, die bei der ACT in 82% der Fälle gute Defektfüllungen nachwiesen. Bei der OAT fanden sich bei allen Patienten unvollständige Defektheilungen an mindestens einer Zylinderentnahmestelle, wobei die übrigen demarkiert waren. Im Defektbereich zeigte sich bei 50% der Patienten ein gutes, bei 33% ein mangelhaftes und bei 17% ein unbefriedigendes Transplantationsergebnis. Die Einflüsse der Mikrofrakturierung auf die biochemischen Marker waren bei einer schlechten präoperativen Ausgangssituation der Gelenke ohne Aussagekraft und nicht mit den Patientengruppen der ACT und OAT vergleichbar.

Angesichts nicht möglicher Randomisierung und geringer Fallzahlen kann diese Studie nur als Pilotstudie mit eingeschränkter Aussagekraft gewertet werden. Zukünftige Studien mit größeren Patientenzahlen müssen die unterschiedlichen Tendenzen im Vergleich der Operationsmethoden weiterverfolgen. Die Markerdiagnostik bietet einen neuen vielversprechenden Ansatz zur Beurteilung operativer Knorpelbehandlung, jedoch gibt es noch keinen idealen, absolut spezifischen Knorpelmarker. Hierzu sind weitere Entwicklungen notwendig, um beim Problem der objektiven Einschätzung von Knorpelbehandlungstechniken weitere Fortschritte zu erzielen.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Aichroth PM, Patel DM, Moyes ST (1991) A prospective review of arthroscopic debridement for degenerative joint disease of the knee. *International Orthopaedics (SICOT)* 15: 351-355.
- Åkesson K (1995) Biochemical markers of bone turnover. *Acta Orthop Scand* 66:376-386.
- Bahuaud J, Yonnet G, Faict TW, Bouvet R, Kerdiles N, Vaujany P (2000) Autologous chondrocyte implantation (ACI) for cartilage repair on 28 cases. *International Cartilage Research Society, Göteborg* (27-29 avril).
- Bentley G, Biant LC, Carrington RWJ, Akmal M, Goldberg A, Williams AM, Skinner JA, 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-B :223-230.
- Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA (1993) Matrixmetalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 4:197-250.
- Bobic V (1996) Arthroscopic osteochondral autograft transplantation in anterior cruciate ligament reconstruction: a preliminary clinical study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 3: 262-264.
- Bobic V (1998) Magnetic resonance imaging of chondral defects. *ICRS Newsletter* 1:16-18.
- Bobic V (1999) Die Verwendung von autologen Knochen-Knorpel-Transplantaten in der Behandlung von Gelenkknorpelläsionen. *Orthopäde* 28:19-25.
- Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L (1994) Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 331:889-895.
- Bruns J, Behrens J (1998) Osteochondrosis dissecans. *Arthroskopie* 11:166-176.
- Bruns J, Steinhagen J (1999) Transplantation chondrogener Gewebe zur Behandlung von Gelenkknorpeldefekten. *Orthopäde* 28:52-60.
- Buckwalter JA (1998) Articular cartilage: injuries and potential for healing. *J Orthop Sports Phys Ther* 28:192-202.
- Buckwalter KA (1998) Magnetic resonance imaging of the knee. *The Radiologist* 3:101.

- Buckwalter JA (2002) Articular cartilage injuries. Clin Orthop 402:21-37.
- Burkhart A, Imhoff AB (2000) Bildgebung nach autologer Chondrozytentransplantation. Korrelation kernspintomographischer, histologischer und arthroskopischer Befunde. Orthopäde 29:135-144.
- Burgeson RE (1988) New collagens, new concepts. Annu Rev Cell Biol 4:551-577.
- Cawston TE, Galloway WA, Mercer E, Murphy G, Reynolds JJ (1981) Purification of rabbit bone inhibitor of collagenase. J Biochem 195:159-165.
- Cawston TE, Murphy G, Mercer E, Galloway WA, Hazleman BL, Reynolds JJ (1983) The interaction of purified rabbit bone collagenase with purified rabbit bone metalloproteinase inhibitor. Biochem J 211:313-318.
- Clark IM, Powell LK, Ramsey S, Hazleman BL, Cawston TE (1993) The measurement of collagenase, Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP), and collagenase-TIMP complex in synovial fluid from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 36:372-379.
- Cohen NP, Foster RJ, Mow VC (1998) Composition and dynamics of articular cartilage: structure, function and maintaining healthy state. J Orthop Sports Phys Ther 28:203-215.
- Coulombe B, Ponton A, Kerbel RS, Skup D (1992) Structure and function of murine TIMP gene. Matrix Suppl 1:269-274.
- Dahlberg L, Fridén T, Roos H, Lark MW, Hoerrner LA, Lohmander LS (1994) Longitudinal study of cartilage matrix metabolism in patients with cruciate ligament rupture – synovial fluid concentrations of aggrecan fragments, stromelysin-1, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1. Br J Rheumatol 33:1107-11.
- Dean DD, Martel-Pelletier J, Pelletier J-P, Howell DS, Woessner JF Jr. (1989) Evidence for metalloproteinase and metalloproteinase inhibitor imbalance in human osteoarthritic cartilage. J Clin Invest 84:678-685.
- Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J (1997) Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis. J Bone Miner Res 12:59-65.
- Eyre DR, Koob TJ, Nes van KP (1984) Quantification of hydroxypyridinium cross-links in collagen by high-performance liquid chromatography. Analyst Biochem 137:380-388.
- Fujimoto D (1983) Evidence for natural existence of pyridinoline crosslink in collagen. Biochem Biophys Res Commun 93(3):948-953.
- Garret J (1997) Osteochondral allografts. AAOS Instructional Course Lecture, Annual AAOS Meeting San Fransisco, pp 355-358.

- Gerber BE, Robinson D, Nevo Z et al. (2002) Mechanical Resistance of biological repair cartilage: comparative in vivo tests of different surgical repair procedures. *Int J Artif Organs* 25:1109-1115.
- Gertz BJ, Shao P, Hanson DA (1994) Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Min Res* 9:135-141.
- Ghadially FN, Thomas I, Oryschak AF (1977) Long term results of superficial defects in articular cartilage. A scanning electron-microscopy study. *J Pathol* 121:213-217.
- Giannini S, Vannini F, Buda R (2002) Osteoarticular grafts in the treatment of OCD of the talus: mosaicplasty versus autologous chondrocyte transplantation. *Foot Ankle Clin* 7:621-633.
- Gill T (1999) the technique and results of microfracture for the treatment of articular cartilage defects in the knee. *Annales de la Société Française d'arthroscopie*, Sauramps médical, Montpellier.
- Gold GE, Bergman AG, Pauly JM, Lang P, Butts RK, Beaulieu CF, Hargreaves B, Frank L, Boutin RD, Macovsky A, Resnick D (1998) Magnetic resonance imaging of knee cartilage repair. *Top Magn Reson Imaging* 9:377-392.
- Grifka J, Anders S, Löhnert J, et al. (2000) Regeneration von Gelenkknorpel durch die autologe Chondrozytentransplantation. *Arthroskopie* 13:113-122.
- Gross AE (1997) Long term results of fresh osteochondral allograft for osteochondral defects of the knee secondary to trauma or osteochondritis dissecans. *AAOS Instructional Course Lecture*, Annual AAOS Meeting San Fransisco, p 329.
- Gross AE (2002) Repair of cartilage defects in the knee. *J Knee Surg* 15:167-169.
- Gyls-Morin VM, Hayek PC, Satoris DJ, Resnick D (1987) Detectibility in cadaver knees with MRI. *AJR Am J Roentgenol* 148:1153-1157.
- Hakala BE, White C, Recklies AD (1993) Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family. *J Biol Chem* 268:25803-25810.
- Hakala M, Åman S, Luukkainen R, Risteli L, Kauppi M, Nieminen P, Risteli J (1995) Application of markers of collagen metabolism in serum and synovial fluid for assessment of disease process in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 54:886-890.
- Hangody L, Kish G, Karpai Z, Szerb I, Udvarhelyi I (1997) Arthroscopic autogenous osteochondral mosaikplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 3:262-267.
- Hart JAL, Bardana D, Paddle-Ledinik J (2002) Arthroscopic evaluation of cartilage repair following autologous chondrocyte implantation. *J Bone Joint Surg Br* 84:275.

- Harvey S, Weisman M, O'Dell J, Scott T, Krusemeier M, Visor J, Swindlehurst C (1998) Chondrex: new marker of joint disease. *Clin Chem* 44:509-516.
- Horas U, Pelinkovic D, Herr G, Aigner T, 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* 85:185-92.
- Hunter W (1743) On the structure and diseases of articulating cartilages. *Philos trans Roy Soc* 42B:514-521.
- Hunziker EB (2002) Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage* 10:432-463.
- Imhoff AB, Öttl GM, Burkart A, Traub S (1999) Osteochondrale autologe Transplantation an verschiedenen Gelenken. *Orthopäde* 28:33-44.
- Ishiguro N, Ito T, Ito H, Iwata H, Jugessur H, Ionescu M, Poole AR (1999) Relationship of matrix metalloproteinases and their inhibitors to cartilage proteoglycan and collagen turnover: analyses of synovial fluid from patients with osteoarthritis *Arthritis Rheum* 42:129-136.
- Jakob RP, Franz T, Gautier E, Mainil-Varlet P (2002) Autologous osteochondral grafting in the knee: Indication, results, and reflections. *Clin Orthop* 401:170-184.
- Johansen JS, Jensen HS, Price PA (1993) A new biochemical marker for joint injury. Analysis of YKL-40 in serum and synovial fluid. *Br J Rheumatol* 32:949-955.
- Johansen JS, Hvolris J, Hansen M, Backer V, Lorenzen I, Price PA (1996) Serum YKL-40 levels in healthy children and adults. Comparison with serum and synovial fluid levels of YKL-40 in patients with osteoarthritis or trauma of the knee joint. *Br J Rheumatol* 35:553-559.
- Johansen JS, Stoltenberg M, Hansen M, Florescu A, Hørslev-Petersen, Lorenzen I, Price PA (1999) Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relation to disease activity. *Rheumatol* 38:618-626.
- Jonsson K, Buckwalter K, Helvie M, Niklason L, Martel W (1992) Precision of hyaline cartilage thickness measurements. *Acta Radiol* 33:234-239.
- Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC et al. (2004) Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee: a randomized trial. *J Bone Joint Surg Am* 86-A:455-464.
- Krämer KL, Maichl FP, Stock M, Biskup TH, Wiedemann J (1993) Knie: allgemeine Scores. In: Scores, Bewertungsschemata und Klassifikation in Orthopädie und Traumatologie. Thieme Verlag Stuttgart, New York. 320.

- Lang P, Bergman G, Bobic V (1998) Stanford protocol for MRI of articular cartilage: State of the art 1998. Stanford University Medical Center, Department of Radiology, Stanford. Personal communication. ICRS Newsletter 3.
- Larson KR, Cracchiolo A, Dorey FJ, Finerman GA (1991) Total knee arthroplasty in patients after patellectomy. Clin Orthop 246:243-254.
- Lefebvre V, Peeters-Joris C, Vaes G (1990) Modulation by interleukin 1 and tumor necrosis factor of production of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases and collagen types in differentiated and dedifferentiated articular chondrocytes. Biochem Biophys Acta 1052:366-378.
- Levy AS, Lohnes J, Scully S, LeCroy M, Garrett W (1996) Chondral delamination of the knee in soccer players. Am J Sports Med 24:634-639.
- Linden B (1977) Osteochondritis dissecans of the femoral condyles : a long term follow-up study. J Bone Surg 59A:769-76.
- Lindgren L (2000) The Bone and Joint Decade 2000-2010: an update Acta Orthop Scand 71:3-6.
- Löhnert J, Ruhnau K, Gossen A, et al. (1999) Autologe Chondrozytentransplantation (ACT) im Kniegelenk: Erste klinische Ergebnisse. Arthroskopie 12: 34-42.
- Lohmander LS (1991) Markers of cartilage metabolism in arthrosis. Acta Orthop Scand 62:623-632.
- Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark LW (1993₁) Metalloproteinases, tissue inhibitor, and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis. Arthritis Rheum 36:181-189.
- Lohmander LS, Neame PJ, Sandy JD (1993₂) The structure of aggrecan fragments in human synovial fluid: evidence that aggrecanase mediates cartilage degradation in inflammatory joint disease, joint injury, and osteoarthritis. Arthritis Rheum 36:1214-1222.
- Lohmander LS, Ionescu M., Jugessur H, Poole R (1998) Changes in joint cartilage aggrecan after knee injury and in osteoarthritis. Arthritis Rheum 42:534-544.
- MacDonald AG, McHenry P, Robins SP, Reids DM (1984) Relationship of urinary pyridinium crosslinks to disease extent and activity in osteoarthritis. Brit J Rheum 33:16-19.
- MacNaul K, Chartrain N, Lark M, Tocci MJ, Hutchinson NI (1990) Discoordinate expression of stromelysin, collagenase, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in rheumatoid human synovial fibroblasts. J Biol Chem 265:17238-17245.
- Mankin HJ, Mow VC, Buckwalter JA, Lannotti JP, Ratcliff A (1994) Form and Function of articular cartilage. Simon SR (Ed) Orthopaedic basic science. AAOS, Rosemont, pp 1-44.

- Martel-Pelletier J, McCollum R, Fujimoto N, Obata K, Cloutier JM, Pelletier J-P (1994) Excess of metalloproteinase over tissue inhibitor of metalloproteinase may contribute to cartilage degradation in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Lab Invest* 70:807-815.
- McCachren SS, Haynes BF, Nield JE (1990) Localization of collagenase mRNA in Rheumatoid arthritis synovium by in situ hybridization histochemistry. *J Clin Immunol* 10:19-27.
- Messner K, Gillquist J (1996) Cartilage repair. A critical review. *Acta Orthop Scand* 67:523-529.
- Messner K, Maletius W (1996) The long term prognosis for severe damage to weight bearing cartilage in the knee: a 14 year clinical and radiographic follow-up in 28 athletes. *Acta Orthop Scand* 67:165-68.
- Mort DS, Dodge GR, Roughley P, Liu J, Finch SJ, Dispasquale G (1993) Direct evidence for active metalloproteinases mediating matrix degradation in interleukin 1-stimulated human articular cartilage. *Matrix* 13:95-102.
- Munk B, Madsen F, Lunddorf E, Staunstrup H, Schmidt SA, Bolvig L, Hellfritsch MB, Jensen J (1998) Clinical magnetic resonance imaging and arthroscopic findings in knees: a comparative prospective study of meniscus, anterior cruciate ligament, and cartilage lesions. *Arthroscopy* 14:171-175.
- Murphy G, Koklitis P, Carne AF (1989) Dissociation of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) from enzyme complexes yields fully active inhibitor. *Biochem J* 261:1031-1034.
- Newsletter ICRS: The cartilage standard evaluation form / knee and cartilage repair assessment (1998) Newsletter ICRS (Issue Spring 98): 5-8.
- Nguyen Q, Murphy G, Roughley PJ, Mort JS (1989) Proteoglycan aggregate degradation by a cartilage metalloproteinase. Evidence for the involvement of stromelysin in the generation of link protein heterogeneity in situ. *Biochem J* 259:61-67.
- Nyrikos P, Golds EE (1990) Human synovial cells secrete a 39 kDa protein similar to a bovine mammary protein expressed during the non lactating period. *Biochem J* 268:265-268.
- Ochi M, Sumen Y, Kanda T, Ikuta Y, Itoh K (1994) The diagnostic value and limitation of magnetic resonance imaging on chondral lesions in the knee joint. *Arthroscopy* 10: 176-183.
- Ogawa T, Ono T, Tsuda M, Kawaniski Y (1982) A novel fluor in insoluble collagen: A cross-linking moiety in collagen molecule. *Biochem Biophys Res Commun* 107:1252-1257.
- Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM (1987) Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide inserum as marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Min Res* 2:427-436.

- Pelletier J-P, Mineau F, Faure M-P, Martel-Pelletier J (1990) Imbalance between the activation and inhibition of metalloproteinases in early lesions of experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 33:1466-1476.
- Peterson L (1996) Articular cartilage injuries treated with autologous chondrocyte transplantation in the human knee. *Acta Orthopaedica Belgica* 62:Suppl. I.
- Peterson L (1998) Autologous chondrocyte transplantation in articular cartilage repair. Regeneration and transplantation, Symposium. Presented at the 65th annual meeting of the AAOS, New Orleans, LA.
- Peterson L, Minas T, Britberg M, Nilsson a, Lindahl A (2000) Two to nine year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop* 374:212-234.
- Poole AR, Alini M, Hollander AH (1995) Cellular biology of cartilage degradation. In: Henderson B, Edwards JCW, Pettipher ER, editors. *Mechanism and models in rheumatoid arthritis*. London: Academic Press pp 163-204.
- Potter HG, Linklater JM, Allen AA, Hannafin JA, Haas SB (1998) Magnetic resonance imaging of articular cartilage in the knee. *J Bone Joint Surg Am* 80:1276-1284.
- Pridie KH (1959) A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg Br.* 41:618-619.
- Risteli L, Risteli J (1992) Carboxyterminal propeptide of type I procollagen. A new direct indicator of bone matrix fpormentation. *Ital J Min & Electrol Metab* 6 :1-6.
- Rizkalla G, Reiner A, Bogoch E, Poole AR (1992) Studies of the articular cartilage proteoglycan aggrecan in health and osteoarthritis: evidence for molecular heterogeneity and extensive molecular changes in disease. *J clin Invest* 90:2268-2277.
- Robert H (2001) Techniques of chondral and osteochondral repair in the knee. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 11:97-102.
- Robins SP, Stewart P, Astbury C, Bird H A (1986) Measurements of the cross-linking compound, pyridinoline, in urine as an index of collagen degradation in joint disease. *Ann Rheum Dis* 45:969-973.
- Robins SP (1995) Collagen crosslinks in metabolic bone disease. *Acta Orthop Scan* 66 (Suppl. 266):71-175.
- Rodrigo JJ, Steadman JR, Siliman JF, Fulstone HA (1994) Improvement of full-thickness chondral defect healing in the human knee after debridement and microfracture using continous passive motion. *Am J Knee Surg* 7:109-116.

- Schlegel U (2001) Untersuchungen zum Einfluß der autologen Chondrozytentransplantation auf den Knorpelmetabolismus und die Gelenkfunktion mittels funktioneller, kernspintomographischer und biochemischer Parameter. Med. Dissertation, Universität Heidelberg.
- Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP (1992) Urinary pyridinium crosslinks of collagen. Specific markers of bone resorption in metabolic bone disease. *Trends Endocrinol Metab* 3:263-270.
- Simon LS, Krane SM, Wortmann PD, Krane IM, Kovitz KL (1984) Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *J Clin Endocrinol Metab* 58:110-120.
- Spindler KP, Schils JP, Bergfeld JA, Andrish JT, Weiker GG, Anderson TE, Piraino DW, Richmond BJ, Medendorp SV (1993) Prospective study of osseous, articular, and meniscal lesions in recent anterior cruciate ligament tears by magnetic resonance imaging and arthroscopy. *Am J Sports Med* 21:551-557.
- Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, Briggs KK (1997) Microfracture technique for full-thickness chondral defects: technique and clinical results. *Operat Tech Orthop* 7:300-304.
- Steadman JR, Rodrigo JJ, Briggs KK, Rodkey WG, Silliman JF, Sink E (1998) Long term results of full thickness articular cartilage defects of the knee treated with debridement and microfracture. (Submitted and in review).
- Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK, Rodrigo JJ (1999) Die Technik der Mikrofrakturierung zur Behandlung von kompletten Knorpeldefekten im Kniegelenk. *Orthopäde* 28:26-32.
- Stewart A, Black A, Robins SP, Reid DM (1999) Bone density and bone turnover in patients with osteoarthritis and osteoporosis. *J Rheumatol* 26:622-626.
- Stone KR, Walgenbach AW (1999) One-step american technique of articular cartilage paste grafting to traumatic and arthritic defects in the knee joint (2-7 years follow-up). Second Isakos Conference. May 31.
- Takahashi M, Kushida K, Hoshino H, Suzuki M, Sano M, Miyamoto S, Inoue T (1996) Concentrations of pyridinoline and deoxypyridinoline in joint tissues from patients with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 55:324-327.
- Vaatainen U, Lohmander LS, Thonar E, Hongisto T, Agren U, Ronkko S, Jaroma H, Kosma VM, Tammi M, Kiviranta I (1998) Markers of cartilage and synovial metabolism in joint fluid and serum of patients with chondromalacia of the patella. *Osteoarthritis Cartilage* 6:115-124.
- Van Kampen A, De Waal Malefijt MC, Jerosch J, Castro WH, Busch M, Pape M (1998) Interobserver variance in diagnostic arthroscopy of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 6:16-20.
- Volk B, Ostergaard K, Johansen JS, Garbasch C, Price PA (1999) The distribution of YKL-40 in osteoarthritic and normal human articular cartilage. *Scand J Rheumatol* 28:171-179.

Wojtys E, Wilson M, Buckwalter K, Braunstein E, Martel W (1987) Magnetic resonance imaging of knee hyaline cartilage and intraarticular pathology. Am J Sports Med 15:455-63.

6.1 Eigene Publikation

Schneider U, Schlegel U, Bauer S, Siebert C.H. (2003) Molecular markers in the evaluation of autologous chondrocyte implantation. Arthroscopy 19:397-403.

7 ANHANG

Klinischer Untersuchungsbogen:

Name:.....Datum:.....

Allgemeine Anamnese / Unerwünschte Ereignisse:.....

Score nach Larson:

Schmerz	Keine Schmerzen	30
	Gelegentlich, leicht	25
	Anlaufschmerz, oder nach bestimmten Belastungen, NASR gelegentlich	20
	Keine bis leichte in Ruhe, bei Belastung, NASR regelmäßig	15
	Ununterbrochen, erträglich, starke Medikation gelegentlich, NASR regelmäßig	10
	Ununterbrochen, unerträglich, starke Medikation regelmäßig	0
	NASR = Nichtsteroidale Antirheumatika	
Gehen	Keine Stützen oder merkliches Hinken	10
	Keine Stützen mit Hinken oder eine Stütze und kein Hinken	8
	Keine Stützen für weniger als einen Häuserblock, mit einer Stütze bis zu 5 Häuserblöcke, oder mit beidseitigen Stützen uneingeschränktes Gehen	6
	Keine Stützen und hausgebunden oder beidseits Stützen für kurze Strecken	4
	Rollstuhl, Benutzung eines Gehbockes	2
	Bettlägerig	1
Funktion	Uneingeschränkte Funktion	10
	Stehende Arbeit mit leichten Einschränkungen	8
	Die hauptsächliche Haus-/Schreibtischarbeit ist möglich	6
	Eingeschränkte Haus-/Schreibtischarbeit	4
	Unabhängige Verrichtungen/Aktivitäten des täglichen Lebens sind möglich	2
	Keine der obigen	0
Bewegungsfreiheit	Einen Punkt für jede 7° Bewegung (max.20 Pkt.)	
Muskelkraft	M.quadriceps nicht überwindbar	5
	M.quadriceps stärker als die Schwerkraft	4
	M.quadriceps hält der Schwerkraft stand	3
	M.quadriceps kann positioniert werden, hält der Schwerkraft jedoch nicht stand	2
	M.quadriceps mit geringer/keiner Aktivität	1
	Kniebeuger nicht überwindbar	5
	Kniebeuger stärker als die Schwerkraft	4
	Kniebeuger halten der Schwerkraft stand	3
	Kniebeuger können positioniert werden halten jedoch der Schwerkraft nicht stand	2
	Kniebeuger mit geringer/keiner Aktivität	1
Beugekontraktur	Keine Kontraktur	10
	Weniger als 5°	8
	5-10°	5
	Mehr als 10°	0
Instabilität bei 20° Beugung	Keine AP oder ML Instabilität	10
	Weniger als 5 mm AP Instabilität oder 0-5° einer ML Instabilität, oder beides	8
	6-10 mm einer AP Instabilität oder 6-15° einer ML Instabilität, oder beides	5
	> 10 mm einer AP Instabilität oder > 15° einer ML Instabilität, oder beides	0
Subtraktion	Streckdefizit von 5°	-2
	Von 5-10°	-3
	Von 15°	-5
Ergebnis	> 85 P: exzellent; 70-84 P: gut; 60-69 P: mäßig; < 60 P: schlecht	

8 DANKSAGUNG

Herrn Ärztl. Direktor Univ.-Prof. Dr. med. F.U. Niethard möchte ich dafür danken, dass er es mir ermöglichte, diese Arbeit an der Orthopädischen Universitätsklinik der RWTH Aachen fortzusetzen.

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn PD Dr. med. U. Schneider für die Überlassung des Themas, die fachlich hervorragende Unterstützung und vor allem für die zuverlässige Betreuung der Arbeit auch nach seinem Wechsel nach Aachen.

Herr Dr. med. Simon aus der Stiftung Orthopädische Universitätsklinik Heidelberg half mir bei der Durchführung der Kniegelenksspülungen. Ihm gilt mein ganz besonderer Dank für seine Einsatzbereitschaft für diese Arbeit.

Auch danke ich Herrn Dr. med. Lösel vielmals für die zeitweilige Betreuung und die freundschaftliche Zusammenarbeit in Heidelberg.

Für die Überlassung von 11 Patienten möchte ich mich sehr bei Herrn Dr. med. Schlegel aus der orthopädischen Universitätsklinik Heidelberg bedanken.

Außerdem gilt Herrn Dr. med. Libicher mein Dank für die kompetente Mitarbeit und Unterstützung bei der kernspintomographischen Auswertung, des weiteren Frau Gass und den Mitarbeiterinnen der Kernspintomographie der orthopädischen Universitätsklinik Heidelberg.

Den Ärzten der orthopädisch-chirurgischen Gemeinschaftspraxis in der Elisabethklinik Heidelberg Herrn Dr. med. Arza, Herrn Dr. med. Beks, Herrn Dr. med. Ridder, Herrn Dr. med. Maibaum, Herrn Dr. med. Huber, Herrn Dr. med. Utzinger und Herrn Dr. med. Ackermann danke ich für ihre Unterstützung bei der Gewinnung von 10 Patienten für die Studie, außerdem dem übrigen Praxisteam, allen voran Frau Laabs.

Herrn Dr. med. Halt, Herrn Dr. med. Fallahi und den Mitarbeitern Herr Bachmann und Frau Kaiser der radiologischen Praxis in der Elisabethklinik Heidelberg gilt mein Dank für ihren Beitrag zur Durchführung der MRT der Patienten aus der orthopädischen-chirurgischen Gemeinschaftspraxis.

Bei Herrn Dr. med. Bös aus der Arcusklinik in Pforzheim möchte ich mich herzlich für die Bereitschaft, an der Studie teilzunehmen und die Eingliederung von 4 Patienten in die Studie bedanken. Auch gilt mein herzlicher Dank Herrn Dr. med. Sobau für seine Unterstützung.

Den Mitarbeiterinnen des Laborteams der orthopädischen Universitätsklinik der RWTH Aachen um Herrn Dr. rer. biol. hum. Gavenis möchte ich für die herzliche und kompetente Unterstützung während der Durchführung der ELISAs in Aachen vielmals danken.

Ebenfalls gilt den Mitarbeitern des ehemaligen Zelllabors der orthopädischen Universitätsklinik Heidelberg Frau Dr. rer. nat. Vettel und Herrn Dr. rer. nat. Merckelbach mein Dank für die Anleitung bei der Durchführung der ersten ELISA-Serie.

Des weiteren bin ich folgenden Mitarbeiterinnen der orthopädischen Universitätsklinik in Heidelberg meinen Dank schuldig: Frau Buchow und Frau Opitz aus der Verwaltung für die Mitarbeit bei der Organisation und Frau Gassmann für die Unterstützung bei der Literaturbeschaffung.

Abschließend danke ich herzlichst allen Freunden und Bekannten für ihr Interesse, vor allem Philippe Ollier.

9 LEBENSLAUF

PERSONALIEN

Name, Vorname	Bauer, Stefan
Geburtsdatum/Geburtsort	11. Juli 1974 / Neuenbürg, Enzkreis
Nationalität	Deutsch
Eltern	Walter und Sieglinde Bauer, geb. Klumpp

SCHULISCHER WERDEGANG

1985-1994	Heinrich-Heine-Gymnasium in Ostfildern-Nellingen
Juni 1994	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife (Note: 1,9)

ZIVILDIENTST

09/1994 - 12/1995	Pflegetätigkeit Städtischen Krankenanstalten Esslingen
-------------------	--

STUDIUM

April 1996	Immatrikulation zum Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen
April 1998	Ärztliche Vorprüfung
Oktober 1998	Fortführung des klinischen Studiums am Universitätsklinikum Mannheim der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
September 1999	1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
November 1999	Beginn der Dissertationsarbeit an der Orthopädischen Universitätsklinik Heidelberg
April 2004	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2004-2005	Prakt. Jahr Innere Medizin: Uniklinikum Mannheim Anästhesie: HU Genève Chirurgie: RI of Edinburgh
Mai 2005	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Gesamtnote: gut; 2,5)

PUBLIKATION

April 2003	Ulrich Schneider, M.D.; Ulf Schlegel, M.D.; Stefan Bauer und Christian H. Siebert, M.D. Molecular Markers in the Evaluation of Autologous Chondrocyte Implantation. Arthroscopy 19:397-403.
------------	---

SPEZIELLE TÄTIGKEITEN / KURSE

2000-2001	OP-Assistenzen in der orthopädisch-chirurgischen Gemeinschaftspraxis im Elisabethkrankenhaus, Heidelberg
November 2003	Heidelberger Anästhesie- (1 Woche) und Notfallmedizin-Modul (1 Woche)

AUSLANDSAUFENTHALTE

Juni 2001	Famulatur an der orthopädischen Universitätsklinik in Montpellier, Frankreich
Juni 2003	Famulatur in der Notaufnahme des Regionalkrankenhaus Chubert in Vannes, Frankreich
Juli 2002 bis Januar 2004	Berufsfußballspieler und Trainer in Vannes, Frankreich

SPRACHKENNTNISSE

Französisch (DALF = DIPLÔME APPROFONDI DE LANGUE FRANÇAISE 2003); Englisch; Kleines Latein

SPORT

1998-2003	Berufsfußballspieler beim VFR Mannheim, FC Sachsen Leipzig und Vannes Olympique Club, Frankreich
1994, 2001, 2004	Erwerb der Württembergischen-Jugendtrainerlizenz, der B-Lizenz (DFB) und des BEES 1 (Fédération Française de Football)

SPORTLICHE ERFOLGE

1997 / 2000	Meister der Oberliga Baden-Württemberg und Aufstieg in die Regionalliga-Süd / 3. Regionalliga-Süd
2002/2003	Teilnahme am französischen Landespokal „Coupe de France“