

Aus der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Paech

**Histologische und elektromechanische Analyse gealterten
osteocondralen Regeneratgewebes im Großtiermodell**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von Nicola-Patricia Rudert aus Berlin

Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. habil. Jan C. Schagemann
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christoph Thorns

Tag der mündlichen Prüfung: 10.12.2021

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 10.12.2021

Promotionskommission der Sektion Medizin

Diese Arbeit ist
meiner verstorbenen Omi Reni,
meinen Eltern und meiner Schwester
in Liebe und Dankbarkeit
gewidmet.

„Honeste vivere, neminem laedere, suum cuique tribuere.“

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	5
1 Einleitung.....	7
2 Grundlagen.....	9
2.1 Gelenkknorpel.....	9
2.2 Knorpelregeneration.....	10
2.3 Outcome Measures.....	13
2.3.1 Klinische Beurteilung.....	13
2.3.2 Bildgebung.....	14
2.3.3 Histologie.....	15
2.3.4 Biochemische Analyse.....	17
2.3.5 Biomechanik.....	17
2.3.6 Elektromechanik.....	19
3 Fragestellung und Relevanz.....	21
4 Material und Methoden.....	22
4.1 Studiendesign.....	22
4.2 Implantate.....	22
4.3 Tierversuch.....	23
4.4 Arthro-BST™.....	24
4.4.1 Arthro-BST™ Messung.....	26
4.4.2 Diagnostischer Parameter (DP).....	27
4.5 Histologie.....	29
4.5.1 Präparate.....	29
4.5.2 Scoring.....	29
4.5.3 Scan und Digitalisierung.....	30
4.6 Statistik.....	31
4.7 Ethikvotum.....	31
5 Ergebnisse.....	32
5.1 Rehabilitation.....	32
5.2 Makroskopie.....	32
5.3 Arthro-BST™.....	34
5.3.1 Quantitativer Parameter (QP).....	34
5.3.2 Diagnostischer Parameter (DP).....	35

5.4 Histologie.....	36
5.4.1 deskriptive Histologie.....	36
5.4.2 histologisches Scoring.....	37
5.5 Korrelation: Histologie und Arthro-BST™.....	39
5.5.1 Defektareal.....	39
5.5.2 Unbehandelte Areale.....	42
6 Diskussion.....	43
7 Zusammenfassung.....	51
8 Literaturverzeichnis.....	52
9 Anhang.....	69
9.1 Tabellen.....	69
9.2 Danksagung.....	77

Abkürzungsverzeichnis

a.e.	am ehesten
Abb.	Abbildung
ACI	autologe Chondrozytenimplantation
ACT	autologe Chondrozytentransplantation
ant.	anterior
BMP	Bone morphogenetic proteins
bzgl.	bezüglich
CT	Computertomographie
DP	Diagnostischer Parameter
e.g.	eben genannte
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ehem.	ehemaligen
etc.	et cetera
GAG	Glykosaminoglykan
GDF	growth-differentiation factor
ggf.	gegebenenfalls
H&E	Hämatoxylin-Eosin
i.Allg.	im Allgemeinen
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
ICRS	International Cartilage Repair Society
IFN	Interferon
IGF	insulin-like growth factor
IL	Interleukin
K.I.	Konfidenzintervall
KCl	Kaliumchlorid
KOOS	Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score
L-LFC	linke laterale Femurkondyle
L-MFC	linke mediale Femurkondyle;
L-MTP	linkes (kontralaterales) Tibiaplateau
MACI	matrixassoziierte Chondrozytenimplantation
M-ACT	matrixassoziierte Chondrozytentransplantation

med.	medial
MOCART	Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue
MODS	modifizierter O 'Driscoll Score
MRT	Magnetresonanztomographie
o.g.	oben genannte
OARSI	Osteoarthritis Research Society International
p.o.	per os
PCL	Polycaprolacton
PDGF	platelet-derived growth factor
PGA	Polyglykolsäure
PLGA	Poly-D,L-Lactid-co-Glycolid
PLLA	Polymilchsäure
post.	posterior
PROM	Patient reported Outcome Measures
QP	Quantitativer Parameter
QP _R	Quantitativer Parameter Referenzwert
R-LFC	rechte laterale Femurkondyle
R-MFC	rechte mediale Femurkondyle
R-MTP	rechtes Tibiaplateau
SD	Standarddeviation/Standardabweichung
SE	Standarderror/Standardfehler
sog.	sogenannte
TGF	Transformierender Wachstumsfaktor
TNF	Tumornekrosefaktor
u.a.	unter anderem
u.E.	unseres Erachtens
u.U.	unter Umständen
v.a.	vor allem
WOMAC	Western Ontario And McMaster Universities Osteoarthritis Index
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Hyaliner Gelenkknorpel ermöglicht ein nahezu reibungsloses Gleiten korrespondierender Gelenkpartner und somit Bewegung. Im Gegensatz zu anderen mesenchymalen Geweben ist Gelenkknorpel jedoch avaskulär und anerval, mit einem hohen Wasseranteil und einem niedrigen Anteil an Chondrozyten, die wiederum einen reduzierten Metabolismus aufweisen. Gelenkknorpel ist somit bradytroph. Diese gewebespezifischen Charakteristika erklären kurz zusammengefasst das minimale intrinsische Regenerationspotential des hyalinen Knorpels.(107, 121) Bereits im 18. Jahrhundert wurde von William Hunter erstmals beschrieben, dass Knorpeldefekte nicht spontan heilen.(59) Defekter Knorpel wird vielmehr durch minderwertiges Narbengewebe oder im besten Fall durch Faserknorpel ersetzt, was zu Schmerzen, einer eingeschränkten Gelenkfunktion und zu einem frühzeitig einsetzenden Verschleiß führen kann.(84, 96)

Die Therapie von Knorpelschäden stellt bis heute eine Herausforderung und einen zentralen Forschungsschwerpunkt dar.(29) Ansätze des Tissue Engineerings und der regenerativen Medizin zielen auf die Regeneration beziehungsweise anatomische Wiederherstellung des untergegangenen hyalinen Knorpels hin.(66, 87) Aus diesen Ansätzen hervorgegangen sind z.B. die knochenmarkstimulierenden Techniken und Techniken, die autologe Zellen (re-)implantieren.(27, 87, 148) Obgleich diverser Weiterentwicklungen mit oder ohne Trägermaterial etc. haben die Grundprinzipien des idealen Konstrukts aus chondrogenen Zellen, einer biomimetischen und bioaktiven Matrix (Scaffold) und ggf. exogenen Stimuli weiterhin Bestand.(26) Eine reproduzierbare Wiederherstellung wahren hyalinen Knorpels gelang *bis dato* jedoch noch nicht.(29, 141) Zusätzlich spielt neben der Morphologie des Ersatzgewebes auch deren molekulare Zusammensetzung und ultimative biomechanische Kompetenz eine entscheidende Rolle.(50, 95)

Es stellt sich die Frage, anhand welcher sog. *Outcome Measures* die Qualität - was die biochemische Zusammensetzung, die biologische (Ultra-)Struktur und die biomechanische Funktionalität gleichermaßen betrifft - des Ersatzgewebes beurteilt werden kann.(54) Aktuell stellt die feingewebliche Untersuchung *den* Goldstandard dar, um Struktur und Zusammensetzung des Ersatzknorpels zu beschreiben.(55) Anhand einer Histologie können bedingt auch biomechanische Schlüsse gezogen,

anhand einer Biopsie biochemische Analysen durchgeführt werden. Eine Histologie ist jedoch bioptisch zu asservieren, somit invasiv und folgerichtig nur u.U. eine Option im klinischen Alltag. Andere *Outcome Measures* wie die Magnetresonanztomographie (MRT) sind zwar nichtinvasiv, eine Korrelation mit der Histologie konnte aber nicht belegt werden.(10, 67) *Patient Reported Outcome Measures*, sog. PROMs, sind funktioneller Natur und semiobjektiv; Techniken, die auf den Prinzipien der Indentationsmessung beruhen, konnten sich klinisch nicht durchsetzen, da die Tests kaum nichtinvasiv durchgeführt werden können.(138)

Somit ist es von großem Interesse, ein Verfahren zur Verfügung zu haben, welches nichtdestruktiv die Biomechanik und somit im Rückschluss auch die Zusammensetzung und Qualität des Neoknorpels beurteilen lässt. Ein innovativer Ansatz beruht auf der Erhebung elektromechanischer Strömungspotentiale, welche unabhängig von der Kraft des Aufsetzens des Messinstruments, der Aufsetzgeschwindigkeit oder dem Aufsetzwinkel am Gewebe erhoben werden können. Dieses Verfahren würde also keine Defekte im Neoknorpel herbeiführen. Ziel der vorliegenden Studie war es daher, ein elektromechanisches Messverfahren auf dessen Eignung zur Analyse von Regeneratknorpel im Großtiermodell zu testen und mit dem Goldstandard Histologie zu korrelieren.

2 Grundlagen

2.1 Gelenkknorpel

Anatomie und Histologie

Hyaliner Knorpel findet sich an nahezu allen Gelenkflächen.(79) Die Aufgabe des Gelenkknorpels besteht darin, die Kräfte, die auf ein Gelenk wirken, von einem auf den nächsten Skelettabschnitt zu übertragen und dabei ein nahezu reibungsloses Gleiten der Gelenkpartner zu ermöglichen.(157) Nach Krafteinwirkung, wie z.B. Druck oder Zug, gelangt das Knorpelgewebe durch seine Druckelastizität wieder in seine Ursprungsform zurück.(5) Knorpelgewebe besteht aus Chondrozyten, Interzellulärsubstanz und Wasser, wobei letzteres den Hauptanteil ausmacht. Der Gelenkknorpel ist – je nach Lokalisation – ungefähr 2 bis 5 mm dick und wird in vier unterschiedliche Zonen unterteilt.(125) Die Tangentialzone bildet die gleitende Gelenkoberfläche mit ihren kollagenhaltigen Fibrillen und den spindelförmigen Chondrozyten, welche parallel zur Gelenkoberfläche liegen und das Superficialzonenprotein sezernieren. Sie dient mit ihrer großen Oberfläche als druckstabile Membran und verteilt die einwirkenden (Scher-)Kräfte gleichmäßig. An die Tangentialzone schließt die Transitionalzone an. Diese besteht zu einem großen Teil aus Proteoglykanen, beinhaltet weniger Kollagenfibrillen, die nun bogenförmig oder senkrecht zur Oberfläche orientiert sind. Die Chondrozyten nehmen eine nahezu runde Form an. Darunter befindet sich die Radiärzone, in welcher die Chondrozyten säulenförmig, senkrecht zur Gelenkoberfläche, in Kolumnen angeordnet vorzufinden sind. Die Kollagenkonzentration ist in dieser Zone am geringsten. Die Kalzifizierungszone mit ihrem mineralisierten Knorpel und einem sehr geringen Anteil an Proteoglykanen ist die letzte Zone. Zwischen ihr und der Radiärzone bildet die sogenannte Tidemark die Grenzfläche.(104, 116) Es folgt das subchondrale Knochengewebe. Die Interzellulärsubstanz setzt sich aus Wasser und Elektrolyten (60-70 %) und der sog. *Trockensubstanz* zusammen. Diese besteht zu 50 % aus Kollagenfasern, 30 % Proteoglykanen und nicht-kollagenen Proteinen und zu 20 % aus Glykoproteinen.(68) Die Druckelastizität des Knorpels beruht v.a. auf der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Proteoglykane. Die Eigenschaft, Druck- und Scherkräften zu widerstehen, beruht auf der zonenspezifischen Orientierung der Kollagenfibrillen.(79, 142) Dabei bildet im

hyalinen Knorpel das Kollagen Typ II den Hauptanteil. Die Bindung des Wassers erfolgt durch die Proteoglykane, wobei hier Aggrecan und Decortin als wichtigste zu nennen sind.(38) Hyaliner Knorpel ist avaskulär, alymphatisch und anerval, somit bradytroph und daher degenerativen Prozessen eher unterlegen.(107, 121) Der Stoffwechsel erfolgt fast ausschließlich über die Synovialflüssigkeit *per diffusionem* und/oder durch intermittierende Druckbeanspruchung (34, 63, 140)

Knorpeldefekte

Aufgrund der o.g. Beschaffenheit weist ausgereiftes Knorpelgewebe lediglich ein minimales Regenerationspotential auf. Die Halbwertszeit des *turn overs* zellulärer und extrazellulärer Anteile des Gelenkknorpels soll bei 800-1000 Tagen liegen.(33) In gesundem Knorpelgewebe regulieren die Chondrozyten den Knorpelstoffwechsel durch den Auf- und Abbau von Kollagenen in ausgeglichenem Verhältnis.(116) Die Chondrozyten synthetisieren dazu als anabole Wachstumsfaktoren TGF- β , *insulin-like growth factor* (IGF) und *platelet derived growth factor* (PDGF), und als katabole Interleukin- (IL-) 1 β , Tumornekrosefaktor (TNF-) α und Interferon- (IFN-) γ .(101) Die Fähigkeit, auf mechanische Reize zu reagieren, ist limitiert. Ein Missverhältnis o.g. Prozesse, z.B. durch eine gesteigerte Apoptose, eine vermehrte Ausschüttung kataboler oder eine verminderte Sekretion anaboler Zytokine, kann die degenerative Kaskade auslösen und zu Knorpelschädigungen führen.(75) Eine biomechanische Beanspruchung über die intrinsische Kompensationsfähigkeit hinaus oder (Spitzen-)Traumata fördern die Initiierung inflammatorischer Prozesse und somit zusätzlich das Einwandern von Lymphozyten in die Matrix, welche wiederum die Signalkaskaden der Zytokine mit beeinflussen. Ein *circulus vitiosus* entsteht.(78)

2.2 Knorpelregeneration

Die Techniken und Prinzipien der regenerativen Medizin und des *Tissue Engineering* zielen auf die Regeneration beziehungsweise anatomische Wiederherstellung von untergegangenen Gewebe ab.(66, 87) Dabei wird durch Kultivierung, Rekrutierung und Aktivierung von Zellen in einem geeigneten Milieu versucht, biologisches Gewebe herzustellen, um damit einen biologischen Ersatz zur Erneuerung, Bewahrung oder Verbesserung der Gewebefunktion zu erhalten.(129)

Tissue Engineering

Das Grundprinzip des Knorpel Tissue Engineerings besteht in der Verwendung von Trägermaterialien (Scaffolds), welche mit chondrogenen Zellen und/oder bioaktiven Substanzen, die Zellwachstum und -differenzierung induzieren oder ermöglichen, besiedelt sind.(53)

Die Scaffolds sollen dabei Zellwachstum, -expansion und -anheftung, eine gleichmäßige Zellverteilung, uneingeschränkte Beweglichkeit und minimale Diffusionsstrecken ermöglichen. Zusätzlich sollte eine strukturelle und mechanische Stabilität sowie Biokompatibilität bestehen. Es haben sich dabei dreidimensionale, poröse, biomimetische Scaffolds als überlegen erwiesen.(53, 66, 71) Die biologischen Polymergele (z.B. Hyaluronsäure, Kollagen, Alginat) werden von den synthetischen Polymeren (z.B. Polymilchsäure: PLLA, Polyglykolsäure: PGA) unterschieden, wobei Copolymere (z.B. PLGA) besonders effektiv scheinen.(32)

Für das Knorpelengineering werden Zellen mit chondrogener Potenz benötigt. U.a. wurden Chondrozyten, mesenchymale Stamm- bzw. Stromazellen des Knochenmarks, synoviale Zellen, Stammzellen aus Muskel- oder Fettgewebe und multipotente Stammzellen unter Einfluss chondroinduktiver Substanzen dahingehend untersucht. Initial setzte sich die Verwendung autologer Chondrozyten aufgrund der bereits naturgemäß bestehenden Ähnlichkeit zum gewünschten Zielgewebe durch. Wegen altersbedingter Abnahme bzw. auch eines teilweise kompletten Verlustes des chondrogenen Potenzials bei der Materialgewinnung von Chondrozyten rückten mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark und multipotente Stammzellen in den Fokus der Forschungen.(41, 53, 66, 71) Bei den bioaktiven Substanzen handelt es sich z.B. um Wachstumsfaktoren wie BMP-2, 4, und 7, GDF-5, IGF-1 and TGF- β oder Gene.(60, 71)

Der aktuelle Schwerpunkt im Bereich des Knorpelengineerings liegt auf den bi- oder multiphasischen Konstrukten mit osteochondralem Charakter, welche die Integration in das umliegende Gewebe erleichtern und verbesserte Biokompatibilität aufweisen.(129, 151)

Knochenmarkstimulierende Techniken

Die Mikrofrakturierung und die sog. Pridiebohrung zählen zu den knochenmarkstimulierenden Techniken der ersten Generation. Ziel dieser Methoden ist es, durch

das Eröffnen des subchondralen Knochens pluripotente Stamm- oder Stromazellen zu rekrutieren, welche dabei helfen, den Defekt zu regenerieren.(115) Induziert durch diese Techniken kommt es zur Ausbildung eines a.e. faserknorpeligen, überwiegend Kollagen Typ I-haltigen Ersatzgewebes, welches biomechanisch minderwertiger und kurzlebiger ist als genuines Knorpelgewebe.(30, 89, 155)

Adjuvant kann zur Verbesserung des chondrogenen Milieus eine Deckung des mikrofrakturierten Defektes mit Matrices, z.B. aus (semi-)synthetischen Polymeren, Hyaluronsäure oder Kollagen, erfolgen.(7, 43) Eine dieser speziellen Techniken ist z.B. die *Autologe Matrix Induzierte Chondrogenese* (AMIC), die eine Kollagen Typ I/III Matrix (ChondroGide, Geistlich, Wollhusen/CH) verwendet.(8, 44)

Osteochondrale Transplantation

Bei der autologen oder allogenen osteochondralen Transplantation wird ein oder werden mehrere Knochen-Knorpel-Zylinder oder Teile eines Gelenkes in das Defektareal im- oder transplantiert. Definitionsgemäß zählt dieses Vorgehen nicht zu den regenerativen Techniken und soll daher nicht näher beschrieben, aber der Vollständigkeit halber erwähnt werden.

Chondrozytentransplantation

Bei der klassischen autologen Chondrozytentransplantation (ACT oder ACI) handelt es sich um ein zweizeitiges Verfahren zur Wiederherstellung von Knorpeldefekten. In einer ersten Arthroskopie wird eine Knorpelbiopsie entnommen, aus der dann die Chondrozyten *ex vivo* isoliert und amplifiziert werden. In einer zweiten Operation werden die Zellen als Suspension in das Defektareal implantiert und der Defekt, die sog. bioaktive Kammer, mit einem Periostlappen wasserdicht abgedeckt.(15)

Für die ACT konnte im Gegensatz zu den knochenmarkstimulierenden Techniken zumindest ein hyalinartiges Ersatzgewebe belegt werden. Aufgrund von Komplikationen wie Graftdelamination und -hypertrophie wurde das klassische Verfahren aber weitestgehend verlassen und weiterentwickelt. Die zweite Generation der ACT ersetzt den Periostlappen durch ein Kollagen- oder Hyaluronsäurefleece, die sog. *Matrix Assoziierte Chondrozyten Implantation* (MACI).(48) Durch die dreidimensionale zelluläre Anordnung innerhalb einer Matrix wird eine bessere Stabilität und Funktion der Chondrozyten erzielt.(14) Die

folgenden Generationen umfassen (Hydro-)Gele oder reimplantieren ganze Knorpelfragmente (Gruppe der *minced cartilage* Techniken).(52, 103, 128)

2.3 Outcome Measures

Um das *Outcome* o.g. Techniken beurteilen und Unterschiede verschiedener Ansätze identifizieren zu können, stehen nichtinvasive und invasive Untersuchungsmethoden zur Verfügung. Dabei zielen die sowohl am Tiermodell durchgeführten als auch die klinischen Untersuchungen am Menschen auf das klinisch funktionelle, histomorphologische oder das radiologische Ergebnis, die Biomechanik oder die biochemische Zusammensetzung des Regenerats ab.(55) Als bisheriger Goldstandard steht die histologische Analyse des Ersatzgewebes im Fokus vieler Studien.(55) Dennoch wird es immer wichtiger, auch die Funktionalität und die biomechanischen Eigenschaften des Knorpelregenerats mitbeurteilen zu können, so dass Korrelationen von Morphologie und Funktion i. Allg. immer weiter in den Vordergrund rücken.(3, 55, 127) Ebenso wird die Verfügbarkeit nichtinvasiver Untersuchungsmethoden stetig wichtiger.(98)

2.3.1 Klinische Beurteilung

Klinische Studien zur Beurteilung des Outcomes nach knorpelregenerativen Verfahren beschäftigen sich u.a. mit dem Schmerzempfinden, der Funktionalität des betroffenen Gelenkes im Beruf, im Alltag oder beim Sport, und der Lebensqualität der Patienten. Mithilfe von Fragebögen, sog. *Patient Reported Outcome Measures* (PROMs), werden die Patienten nach der Operation zu verschiedenen Punkten befragt. Bewährt haben sich hier v.a. der validierte *Western Ontario And McMaster Universities Osteoarthritis Index* (WOMAC) und der validierte *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score* (KOOS).(124) Der WOMAC besteht aus drei Untergruppen und insgesamt 24 Fragen aus den Bereichen Symptome und Schmerzen, Steifigkeit des Gelenks und Aktivitäten des täglichen Lebens.(24) Beim KOOS handelt es sich um einen Fragebogen mit fünf Untergruppen und insgesamt 42 Fragen. Die Untergruppen befassen sich mit Fragen zu Symptomen, Steifigkeit des Gelenks, Schmerzen, Aktivitäten des täglichen Lebens, Sport und Freizeit.(122) Weitere validierte Alternativen aus dem Bereich *des Clinician-reported Outcome* sind der *International Knee Documentation Committee Subjective Knee Evaluation Form* (IKDC SKF), die *Lysholm Knee Scoring Scale* und die *Tegner Activity Scale*

(TAS), wobei letztere nicht zur eigenständigen Testung, sondern in Ergänzung zur *Lysholm Knee Scoring Scale* verwendet werden sollte.(49, 80, 123, 143)

Klinische Scores sind jedoch semiobjektiv oder subjektiv und lassen keine Schlüsse über die feingewebliche Qualität, die biochemische Zusammensetzung oder die biomechanische Kompetenz des Ersatzgewebes zu.(55, 82, 98)

2.3.2 Bildgebung

Die klassischen bildgebenden Verfahren (Nativ-)Röntgen und die Computertomographie (CT) erlauben eine gute Darstellung knöcherner Strukturen. Die MRT ermöglicht zusätzlich eine teils detaillierte Darstellung der Weichteile und somit auch des Knorpelbelages und des darunterliegenden subchondralen Knochens; die MRT ist somit o.g. Modalitäten überlegen, auch weil sie ein nichtinvasives Verfahren ist.(13, 144, 145) Die MRT macht sich hauptsächlich die elektrischen Ladungen der Makromoleküle, insbesondere der Proteoglykane, der Kollagene und des Wassergehalts zu Nutze. Das Kollagenetzwerk ist besonders gut in T2-gewichteten Sequenzen darstellbar, die Proteoglykane haben ein spezifisches Relaxationsverhalten in T1-gewichteten Sequenzen.(55, 120, 145) Die gewöhnlichen T1- und T2-gewichteten Sequenzen weisen eine Sensitivität von 30-40 % zur Beurteilung von Knorpeldefekten auf; Protonengewichtete (PD), fett-supprimierte Turbospin-Echo-Techniken (TSE) und 3D-Gradientenecho-Techniken (GRE) eine weitaus höhere.(64) Jedoch ist es nicht selten, dass besonders Grad I Veränderungen nach Outerbridge durch die MRT nicht detektiert werden.(118, 150) Spezifischere und teils (noch) experimentelle MRT-Techniken, wie z.B. das T2-mapping, die „*magic-angle*“-Technik mit einem „*Sodium-23-nuclear-MR-imaging*“ oder das *dGEMRIC*, erlauben eine semiquantitative Analyse von knorpelspezifischen Makromolekülen, wie Kollagenen oder Proteoglykanen.(150) Um die Ergebnisse unterschiedlicher knorpelregenerativer Verfahren miteinander vergleichen und die MRT-Untersuchungen standardisieren zu können, wurden Scores, wie der *Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue* (MOCART), entwickelt und modifiziert (3D MOCART).(88, 134, 150, 152–154) Inwieweit das MR-tomographische Ergebnis aber mit dem histologischer, biochemischer oder biomechanischer Untersuchungen übereinstimmt, ist noch unklar. Eine

entsprechende Korrelation konnte *bis dato* noch nicht nachgewiesen werden.(47, 55, 94)

2.3.3 Histologie

Zunächst kann das Gelenk bzw. der Knorpelbelag makroskopisch beurteilt werden. Hierfür stehen Scores zur Verfügung, welche anhand MR-morphologischer und histologischer Ergebnisse validiert wurden.(45, 46, 77) Eines der ersten angewandten Systeme wurde 1949 von Collins und McElligott entwickelt.(127) Die heutzutage am häufigsten angewandten Scores sind der ICRS Score nach Protokoll A oder B und der *Oswestry Arthroscopy Score*.(112, 146, 147)

In der histologischen Aufarbeitung kann im Gegensatz zu den bisher erwähnten Untersuchungsmethoden die Qualität, die Morphologie und Zusammensetzung des Ersatzgewebes präzise beurteilt werden. Knorpelspezifische Färbungen, wie z.B. Hämatoxylin-Eosin (H&E), ermöglichen eine Darstellung der Zellmorphologie, Tidemark, Kalzifizierung und Knochen-Knorpel-Grenze, Färbungen wie Safranin-O oder Toluidin-Blau eine Beurteilung des Gehalts an Glykosaminoglykanen. Immunhistochemische Protokolle können z.B. Informationen über den Gehalt an knorpelspezifischen Makromolekülen wie Glykosaminoglykanen oder Kollagen Typ II liefern.(55, 127) Die Polarisationsmikroskopie ist geeignet, die Orientierung der Kollagenfibrillen darzustellen. Bzgl. standardisierter Studien- und Histologieprotokolle wurden seitens der *International Cartilage Repair and Joint Preservation Society* (ICRS) Empfehlungen und Richtlinien publiziert, die weithin Akzeptanz haben.(55) Kurz zusammengefasst sollen Proben aus dem gesamten Defekt mit angrenzendem Knorpelgewebe und subchondralem Knochen entnommen werden. Der Zeitpunkt der Probenentnahme sollte zur Beurteilung von Langzeiteffekten nicht unter 6 Monaten liegen. Das entnommene Gewebe sollte in 10 % gepuffertem Formalin oder 4 % Formaldehyd fixiert werden. Anschließend sollte eine Dekalzifizierung erfolgen. Diese kann bei größeren Präparaten bis zu einigen Wochen benötigen. Im Anschluss sollten Paraffinserienschnitte von 5 µm Dicke aus mindestens zwei zuvor bestimmten Regionen hergestellt und im Anschluss je nach Fragestellung gefärbt werden.

Genau wie für die Anfertigung von Präparaten gibt es auch Empfehlung für die Auswertung der Histologie. Die Beurteilung sollte von mindestens zwei bis drei

geübten Untersuchern und anhand eines geeigneten Scores erfolgen.(55) Über die letzten Jahrzehnte ist mit Zunahme der Forschung im Bereich der Knorpelregeneration auch die Anzahl der zur Auswertung angewandten Scores gestiegen. Diese wurden initial überwiegend für arthritische Veränderungen erstellt. Erst im Verlauf wurden Scores für die Anwendung auf Knorpelregenerate entwickelt. Ein idealer Score sollte dabei einfach in der Anwendung, nützlich, skalierbar, erweiterbar und vergleichbar sein.(117) Der erste zur mikroskopischen Auswertung von Arthrose beschriebene Score wurde 1971 von Mankin veröffentlicht.(85) Da dieser Score initial eine hohe *intra-* als auch *interrater* Variabilität aufwies, wurde er mehrfach modifiziert.(110, 111) Die Osteoarthritis Research Society International (OARSI) Arbeitsgruppe hat im Verlauf den sog. „OARSI-Score“ entwickelt, welcher adäquatere Ergebnisse zeigte. Jedoch wurde der Score weder auf menschlichen Knorpel angewandt, noch anhand von MRT oder biochemischen Parametern validiert.(28, 77, 117) Der erste explizit für Knorpelregeneratgewebe entwickelte Score war im Jahre 1989 der O’Driscoll Score.(106) Auch dieser Score wurde im Laufe der Zeit mehrfach modifiziert und von vier auf elf Kategorien erweitert. Zur Beurteilung aller Kategorien muss der Knorpeldefekt vollständig zum Scoren zur Verfügung stehen, was sich in klinischen Studien als limitierend erwies. Das Scoring erfolgt anhand von Ordinalskalen, z.B. im Sinne einer Punktevergabe von 0-3. Ähnliches galt für die ICRS Visual Assessment Scale (ICRS I Score) und andere ähnliche veröffentlichte Scores.(127) In den Vergleichsstudien dieser Scores zeigte sich sowohl beim O’Driscoll Score als auch beim ICRS I Score in einigen Unterkategorien eine hohe Reliabilität und Reproduzierbarkeit, in anderen Unterkategorien gab es jedoch eine deutliche Variabilität der Ergebnisse.(83, 105) Daraufhin publizierte die Arbeitsgruppe um Mainil-Varlet 2010 den ICRS II Score.(83) Das Scoring erfolgt dabei nicht anhand einer Ordinalskala, sondern an einer 100 mm langen visuellen Analogskala. In der Veröffentlichung des Scores wurden Beispielbilder für jede der Kategorien für 0 %, 50 % und 100 %-Ergebnis zur Verfügung gestellt. Mit einem $r > 0,8$ bestätigte sich die erhoffte *intra-* und *interrater* Reliabilität.(55, 83) Der ICRS II Score ist mittlerweile als Standard etabliert.

Die histologische Aufarbeitung und Auswertung ist jedoch trotz aller Vorteile eine invasive Messmethode. Ist im Tiermodell eine Biopsie oder Präparatentnahme *in toto* am Studienendpunkt zu rechtfertigen, stellt eine Biopsie im klinischen Setup,

rein zur wissenschaftlichen Aufarbeitung, keine rechtfertigende Indikation dar.(23, 25, 62)

2.3.4 Biochemische Analyse

Die biochemische Analyse von Knorpelregeneraten liefert Daten zum Gehalt an Zellen und knorpelspezifischen Molekülen. Dabei hängt die Zusammensetzung des Neoknorpels von der Art und der Lage des Gewebes ab. Weiter ist zu beachten, dass sich mit der Zusammensetzung auch die Knorpel Eigenschaften wie Steifigkeit oder Permeabilität ändern. Gleiches gilt auch für arthrotisch verändertes Gewebe und dementsprechend auch für Regeneratgewebe.(68, 90, 92) Wie auch bei der Histologie muss ein Präparat zur biochemischen Untersuchungen per Biopsie gewonnen werden. Die Methode ist somit obligat invasiv und destruktiv. Die gewonnenen Proben werden denaturiert und proteolysiert, und weiteren Assays zugeführt. Durch den Vergleich von Nassgewicht und Trockengewicht kann der Wassergehalt bestimmt werden.(57) Es wird empfohlen, biochemische und histologische Untersuchungen komplementär zu nutzen.(109)

2.3.5 Biomechanik

Biomechanische Untersuchungen analysieren das Gewebsverhalten unter mechanischem Reiz.(86) Die ursprüngliche Annahme, dass es sich um ein isotropes Verhalten mit linearer Veränderung handelt, bestätigte sich nicht. Vielmehr konnte gezeigt werden, dass sich Knorpelgewebe in Bezug auf die Viskoelastizität anisotrop und inhomogen verhält.(17, 31, 69, 99, 114) Man legte sich ein biphasisches Model des Knorpelgewebes zu Grunde: Der Anteil und das Verhältnis einer festen unkomprimierbaren Phase (feste Bestand- und Kollagenanteile) und einer flüssigen komprimierbaren Phase (wasserbindende, lösliche Bestandteile und Wasser) wurde dabei berücksichtigt. Unter Kraftereinwirkung kommt es zu Flüssigkeitsverschiebungen innerhalb des Gewebes.(31) Dieses Model wurde im weiteren Verlauf um eine weitere Konstante, die Ionenkonzentration, ergänzt. Die zur Verfügung stehenden biomechanischen Messmethoden unterscheiden sich in der zu untersuchenden Eigenschaft, nämlich Zug-, Kompressions-, und Reibungsverhalten.

Zu den etablierten Prüfverfahren zählen die Kompressionstests in zwei Varianten: Die „*unconfined compression*“, bei der eine flächige Belastung auf den Probekörper

einwirkt, sodass er sich nach lateral ausdehnen kann, und die „*confined compression*“, bei der sich um den Probekörper eine seitliche Umwandlung befindet. Die einzige Ausdehnung kann somit in Richtung der Kompression stattfinden.(35) Es erfolgt die Bestimmung des Elastizitätsmodul bzw. „0,25s-E-Modul“, oder des Kriechmoduls als Zeichen des Relaxationverhaltens.(72) Die Knorpeldicke muss bei diesen Tests im gesamten Präparat gleich dick sein, um adäquate Ergebnisse zu erhalten. Kompressionstests sind invasiv und destruktiv, da die Proben aus dem Knorpel herausgestanzt werden müssen.

Ein weiteres etabliertes Verfahren ist die Indentationsmessung. Die Messungen können nichtdestruktiv am gesamten Gelenk durchgeführt werden. Dabei wird ein Stempel, entweder plan oder abgerundet, auf das zu untersuchende Areal gedrückt. Dabei ist zu beachten, dass der Stempel das Gewebe komplett berührt. Während der Druckeinwirkung wird die Verformung gemessen. Anhand vorliegender Vergleichstabellen können so die Elastizität und Steifigkeit des Gewebes bestimmt werden.(58, 61) Eine erprobte Variante ist die Messung mittels eines Kugelstempels nach dem „*Very low Rubber Hardness*“-Prinzip. Dieses Verfahren wurde initial für weiche Materialien wie Silikon entwickelt und die Berechnungen basieren auf der Eindringtiefe des Messgerätes. In den durchgeführten Tests schien sich eine Zunahme des Härtewertes mit zunehmender Menge an Proteinen der Extrazellulärmatrix darzustellen.(73) Der Vorteil liegt in der Wiederholbarkeit der Tests, da das Gewebe nicht zerstört wird, was auch zur Folge hat, dass die Integrität und Ultrastruktur des Kollagens keiner Beeinträchtigung ausgesetzt sind.(86) Auf dieser Grundlage wurden Innovationen, gerade in Hinblick auf die innerklinische Anwendung, vorangetrieben. 1999 wurde die erste arthroskopische Indentationsmessung von Lyyra-Laitinen et. al. *in vivo* durchgeführt. (81) Resultat war das Instrument Artscan™. Weitere Entwicklungen, wie z.B. die Puls-Laser-Irradiation oder Ultraschall-Biomikroskopie, schienen ebenfalls geeignet, biomechanische Untersuchungen durchzuführen.(138) Dennoch haben sich die aktuell verfügbaren Methoden zur intraarthroskopischen Anwendung im klinischen Alltag nicht durchsetzen können. Grund dafür waren unter anderem die eingeschränkte Praktikabilität der Geräte, die exakte Positionsbestimmung und die benötigte konstante Dosierung der Kraftanwendung des Anwenders.(12, 138)

2.3.6 Elektromechanik

Die Messung von Strömungspotentialen ist ein innovativer Ansatz, um die strukturelle und funktionelle Integrität von Regeneratknorpel zu evaluieren. Wie von Sim et al. zusammengefasst, sind Strömungspotentiale kompressionsinduziert.(138) Diese werden in der durch die Proteoglykane negativ geladenen extrazellulären Matrix durch Interaktionen zwischen festen und flüssigen Bestandteilen generiert; positive Ionen existieren in der interstitiellen Flüssigkeit. Befindet sich der Knorpel in seiner Ursprungsform bzw. -ausdehnung, so findet sich kein elektrisches Feld, da Kationen und Anionen im Gleichgewicht sind.(1, 18–21, 40, 74) Im Falle einer Druckbelastung kommt es zu einer Bewegung mobiler positiver Ionen relativ zu den im Kollagengerüst fixierten negativen Ionen, also zu einem messbaren Strömungspotential.(36, 91) Dabei zeigt gesundes Knorpelgewebe normale Strömungspotentiale, degeneriertes Knorpelgewebe, welches durch einen Verlust von Proteoglykanen (also negativ geladenen Ionen) und Kollagenen gekennzeichnet ist, hingegen ein geringeres Strömungspotential.

Das Arthro-BST™ (Biomomentum, Laval, CA) ist ein manuell geführtes Instrument, welches solche kompressionsinduzierten Strömungspotentiale im Gelenkknorpel gleich welcher Qualität messen kann (Abb. 1). Dabei wird ein mit 37 Mikroelektroden aus Gold bestückter, halbrunder Sensor (Radius Sensor: 3,175 mm; Dichte der Elektroden: 5,08/mm², Durchmesser der Elektroden: 75 µm) auf das Knorpelgewebe für ca. ≤1 Sekunde aufgesetzt und die Potentiale bis zu einer Summe von 100 mV addiert. An jedem Messpunkt wird so ein quantitativer Wert berechnet. Mit der Anzahl der Mikroelektroden, welche den Knorpel berühren, um die Summe 100 mV zu erreichen, korreliert der quantitative Parameter (QP). Je höher der QP, desto schlechter sind die elektromechanischen Eigenschaften des Gewebes. Vorteil gegenüber den o.g. Indentationsverfahren ist, dass die Strömungspotentiale unabhängig von der Kraft des Aufsetzens gemessen werden.(39) Zudem sind die Messwerte unabhängig von der Aufsetzgeschwindigkeit oder dem Aufsetzwinkel; das Messverfahren ist somit nichtinvasiv. Studien der Arbeitsgruppe um M. Buschmann und M. Garon konnten zeigen, dass das Arthro-BST™ auf verletzten oder degenerierten Knorpel anwendbar ist und mit histologischen Scores und biomechanischen Eigenschaften des untersuchten Gewebes korreliert.(18, 39, 40, 138) Dabei zeigte das Verfahren

eine hohe Reliabilität und eine niedrige *intra- und interrater* Variabilität.(20) Ein Nachweis für Regeneratknorpel oder osteochondrales Gewebe steht aus.

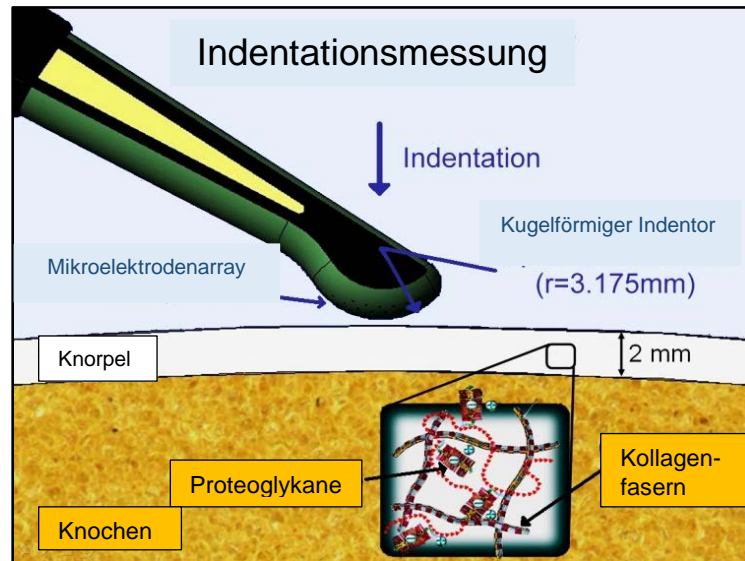


Abbildung 1 Schematische Darstellung des Arthro-BST™ Prinzips zur Messung von Strömungspotentialen im Gelenkknorpel. Das Messgerät mit halbrundem Indentorkopf ist bestückt mit 37 Mikroelektroden aus Gold. Abgeändert und übersetzt mit freundlicher Genehmigung von Biomomentum Inc.

3 Fragestellung und Relevanz

Valide *Outcome Measures* sind essenziell, um den Erfolg einer spezifischen knorpelregenerativen Technik abschätzen und Unterschiede zwischen unterschiedlichen Ansätzen identifizieren zu können. Sog. *Patient Reported Outcomes* (PROs) und/oder klinische Scores sind semiobjektiv, aber nützlich, um die Patientenzufriedenheit und die Funktionalität des betroffenen Gelenkes zu messen. Die feingewebliche Untersuchung von Ersatzknorpel gilt aber weiterhin als *der* Goldstandard zur Beurteilung der Gewebequalität – obgleich eine Histologie obligat im Rahmen eines *2nd look* bioptisch asserviert werden muss und somit invasiv ist. Nichtinvasiv, aber lediglich semiquantitativ, ist die MRT. Die aktuell verfügbare Literatur ist jedoch kontrovers in Bezug auf die Korrelation von klinischen, histologischen und MR-tomographischen Ergebnissen; daher sind diese Modalitäten als komplementär zu interpretieren. Informationen über die spezifische Zusammensetzung und Gewebemorphologie, anhand welcher wiederum Rückschlüsse auf die Funktionalität und Langlebigkeit des Neogewebes gezogen werden könnten, können *bis dato* ausschließlich invasiv und zugleich destruktiv gewonnen werden.

Die Messung von Strömungspotentialen ist ein innovativer Ansatz, um die strukturelle und funktionelle Integrität von Regeneratknorpel zu evaluieren. Das Arthro-BST™ ist ein manuell geführtes Instrument, welches solche kompressionsinduzierten Strömungspotentiale im Gelenkknorpel gleich welcher Qualität nichtdestruktiv messen kann. Studien belegen, dass das Arthro-BST™ auf verletzten oder degenerierten Knorpel anwendbar ist und mit histologischen Scores und biomechanischen Eigenschaften des untersuchten Gewebes korreliert. Dabei zeigte das Verfahren eine hohe Reliabilität und eine niedrige *intra- und interrater* Variabilität. Ein Nachweis für Regeneratknorpel und/oder osteochondrales Gewebe steht aktuell aber noch aus.

Ziel der vorliegenden Studie war daher, die elektromechanische Messmethode Arthro-BST™ auf Ihre Eignung zur Analyse von gealtertem osteochondralem Regeneratknorpel im Großtiermodell zu prüfen. Übergeordnetes Ziel war, diese innovative und noch nicht etablierte Modalität mit dem aktuellen Goldstandard Histologie zu korrelieren. Im Falle einer positiven Korrelation wäre die invasive und destruktive Histologie ggf. perspektivisch als obsolet zu bezeichnen.

4 Material und Methoden

4.1 Studiendesign

Ziel der vorliegenden Studie war, die elektromechanische Messmethode Arthro-BST™ auf Ihre Eignung zur Analyse gealterten osteochondralen Regeneratknorpels im Großtiermodell zu prüfen. Übergeordnetes Ziel war, diese innovative und noch nicht etablierte Modalität mit dem aktuellen Goldstandard Histologie zu korrelieren. Hierfür wurden n=12 adulte Schafe zwei unterschiedlichen knorpelregenerativen Maßnahmen zur Wiederherstellung artifiziell gesetzter osteochondraler Defekte im Kniegelenk unterzogen. Nach 19,5 Monaten wurden die Versuchstiere euthanisiert und histologischen und elektromechanischen Analysen zugeführt. Die Histologie wurde anhand des ICRS II Scores bewertet, die elektromechanischen Eigenschaften per Arthro-BST™ analysiert. Die Daten wurden statistisch ausgewertet, Korrelationsanalysen wurden durchgeführt.

4.2 Implantate

Zwei unterschiedliche biphasische Implantate wurde eingesetzt, um die artifiziell kreierte osteochondralen Defekte wiederherzustellen. Behandlungsgruppe 1 (Schaf 1-6) erhielt ein biologisches, biphasisches Implantat zusammengesetzt aus einer Kollagen Typ I/III Membran (ChondroGide®, Geistlich, Wollhusen, CH) für den cartilaginären Teil des Defektes und mikro- und makroporöses Apatitgranulat (Orthoss®, Geistlich) für den knöchernen Unterbau. Behandlungsgruppe 2 (Schaf 7-12) erhielt ein spezialangefertigtes, (semi-)synthetisches Implantat aus Poly-e-caprolacton (PCL). Die Oberfläche des biphasischen Implantates war nanofibrös, die dem Knochen zuwandten Anteile makroporös; das Implantat war somit unter osteochondrogenetischen Gesichtspunkten biomimetisch. Zur Herstellung wurden Techniken des *Rapid Prototyping* und des *Nanospinnings* angewandt. Eine detaillierte Beschreibung der Implantate und der Implantatherstellung kann der Publikation von Schagemann et. al. entnommen werden.(131)

4.3 Tierversuch

Ausgewachsene weibliche Schafe (n=12, Alter: 3-6 Jahre, Gewicht 62-84kg) wurden unter Analgosedierung (0,7 mg/kg Ketamin, 0,5 mg/kg Xylazin je i.m.) und Spinalanästhesie (1,6 ml Carbostesin® 0,5 %) unter Monitorüberwachung operiert. Perioperativ erhielten die Versuchstiere eine *single shot* Antibiotikaphylaxe mit 1 g Ampicillin i.v. Die Schafe wurden in Rechtsseitenlage fixiert, die linke Extremität extendiert. Die jeweils linken Kniegelenke wurden mittels medialer parapatellarer Arthrotomie eröffnet und inspiziert. In der Hauptbelastungszone der medialen Femurkondyle wurde jeweils ein 6 (Breite) x 20 (Länge) x max. 5 (Tiefe) mm großer osteochondraler Defekt mittels standardisiertem Kastenmeißel gesetzt. Anschließend wurden die Defekte den beiden o.g. Implantatgruppen randomisiert zugeordnet und nummeriert.

Behandlungsgruppe 1 (Schaf 1-6)

Orthossgranulat wurde in 0,9 % NaCl eingeweicht und dann in den knöchernen Teil des Defektes eingestößelt. *Ex situ* wurde eine trockene ChondroGide auf die richtige Größe unter Zuhilfenahme einer Aluminiumschablone zugeschnitten. Die Matrix wurde dann mit Fibrinkleber (Tissucol, Baxter, DE) in den Defekt geklebt – mit der porösen Oberfläche zum Knochen hinzeigend – und zusätzlich mit 4/0 PDS Nähten am Umgebungsknorpel transfixiert.

Behandlungsgruppe 2 (Schaf 7-12)

Das ausgemeißelte osteochondrale Fragment wurde als Schablone benutzt, um das makroporöse PCL entsprechend dem knöchernen Defekt *ex situ* zuzuschneiden. Ein passendes nanofibröses PCL Fleece wurde mit 4/0 PDS daran befestigt und das nun biphasische Implantat in *press fit* Technik in den Defekt vorsichtig eingestößelt.

In beiden Gruppen wurden die Gelenke mehrfach durchbewegt, um eine Graftdelamination auszuschließen. Zu diesem Zeitpunkt akkumulierten beide Implantatarten – wie gewünscht – ein Blutgerinnsel. Die Kapsel wurde wasserdicht verschlossen (0 Vicryl) gefolgt von einem schichtweisen Wundverschluss (2/0 Vicryl). Die Haut wurde fortlaufend mit nicht resorbierbarem Nahtmaterial (3/0 Monocryl) und Sprühpflaster verschlossen. Fortan erhielten die Tiere eine suffiziente Analgesie mit Metamizol p.o. Eine Ruhigstellung – soweit möglich – wurde für drei Tage

eingehalten; danach waren keine weiteren Bewegungseinschränkungen vorgesehen. Die Tiere erhielten freien Auslauf im Stall oder auf der Weide im Herdenverbund.

19,5 Monate postoperativ erfolgte die Euthanisierung (100 mg/kg Trapanal, 2 mM/kg 7,45 % KCl je i.v.) unter Analgosedierung (0,7 mg/kg Ketamin, 0,5 mg/kg Xylazin je i.m). Zwei der n=12 Schafe (Schaf 1 und Schaf 11) mussten bereits zu einem früheren Zeitpunkt (13 und 16 Monate postoperativ) euthanasiert werden, da sie an einer Pneumonie erkrankten. Die Femurkondylen dieser Schafe standen lediglich für die histologischen Untersuchungen zur Verfügung. Die unteren Extremitäten wurden im Hüftgelenk exartikuliert, die Kniegelenke unter standardisierten Bedingungen explorativ arthrotomiert und makroskopisch auf osteophytäre Anbauten, zystische Strukturen, Hypertrophie, Pannusbildung oder Synovitis untersucht. Dann wurden die distalen Femura und proximalen Tibiae mittels oszillierender Säge abgetrennt.

Insgesamt standen so 10 Präparate Femurkondyle (FC) und 10 Präparate Tibiaplateau (TP) für die elektromechanische Untersuchung mit Arthro-BST™ zur Verfügung.

4.4 Arthro-BST™

Die vorbereiteten Femurkondylen und Tibiaplateaus wurden mithilfe von mindestens drei Schrauben mit einem Mindestabstand von 1 cm zur zu betrachtenden Gelenkfläche auf einer zylinderförmigen Halteformation (Durchmesser: 8,5 cm) befestigt. Die Präparate wurden mit einer Messlehre ausgemessen und in eine vorgefertigte Testkammer (Durchmesser: 19 cm, Höhe: 10 cm) gelegt. Diese Testkammer verfügte über eine hochauflösende Kamera (1280 x 960 Pixel) und eine Positionssoftware (SW534 ver.2.0.0.17 Arthro-BST™ Cartilage Mapping, Biomomentum, Laval, CA), mit welcher eine erneute Fotodokumentation erfolgte (Abb. 2). Die Position der Präparate in Bezug zur Kamera wurde so eingestellt, dass das gesamte Präparat gerade noch vollständig zu sehen und die posteriore Seite der Femurkondylen unten auf dem Bild abgebildet war. Zur genaueren Spezifizierung des ehemaligen Defektareals wurde jeder Defekt in drei Regionen unterteilt (Abb. 3). Hierfür wurde ein Rechteck mit einer Größe von 6 x 20 mm visuell über das Defektareal gelegt (durchgehende schwarze Linie). Dieser Bereich wurde als

„Gesamt“ bezeichnet. Ein weiteres Rechteck mit einer Größe von 3 x 17 mm wurde ins Zentrum des Defektes gelegt (gepunktete schwarze Linie) und „Zentrum“ genannt. Der Raum zwischen den beiden Rechtecken wurde als „Peripherie“ definiert.



Abbildung 2 Übersichtsbild des Arthro-BST™ Versuchsaufbaus mit Testkammer, Kamera, Messgerät, Positions- und Auswertungssoftware. Mit freundlicher Genehmigung von Biomomentum.Inc.

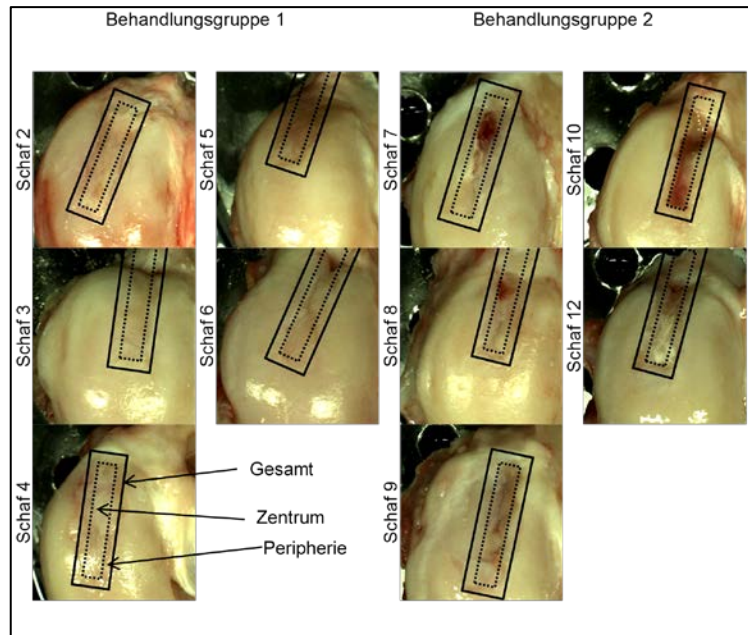


Abbildung 3 Standardisierte Fotodokumentation der Defektareale in L-MFC Präparaten der n=10 Versuchstiere. Markierung der Unterteilung in die für die elektromechanische Auswertung genutzten Areale „Gesamt“ (durchgezogene schwarze Linie), „Zentrum“ (gepunktete schwarze Linie), und „Peripherie“ zwischen den beiden Linien.

4.4.1 Arthro-BST™ Messung

Mithilfe o.g. Software wurde ein Netz mit insgesamt 475 Positionen über das per Kamera aufgenommene Bild gelegt und sogenannten Positionsindizes (x,y) zugeordnet. Zwecks detaillierterer Messung im Defektbereich wurden die Positionen in diesem Bereich engmaschiger gewählt. Insgesamt wurde pro Präparat an ca. 100 Positionen gemessen (Abb. 4). Vor Beginn der Messung wurde die Testkammer mit einer physiologischen Kochsalzlösung (0,15 M, pH=7,4) bis 1 cm über Präparathöhe befüllt. Nach 15 Minuten und unter Kamerasicht wurde dann an jeder der zuvor bestimmten Positionen das Messgerät für ≤ 1 Sekunde aufgesetzt. Aus den jeweiligen Strömungspotentialen wurde so automatisch mithilfe der o.g. Positionssoftware ein quantitativer Wert (QP) ermittelt. Nachdem alle Positionen ausgemessen waren, wurde durch die Kamerasoftware aus den Ergebnissen QP(x,y) eine Karte erstellt. Dabei wurde die Farbe Rot für sehr hohe Messwerte und die Farbe Blau für sehr niedrige Messwerte vergeben und auf der Karte als Farbverlauf dargestellt (Abb. 5). Die farbliche Skala reicht von einem QP Wert von 4 (blau) bis zu einem QP Wert von 20 (rot). Die Transparenz der Farbe wurde mit 60 % gewählt, um die makroskopische Struktur darunter noch erkennen zu können.

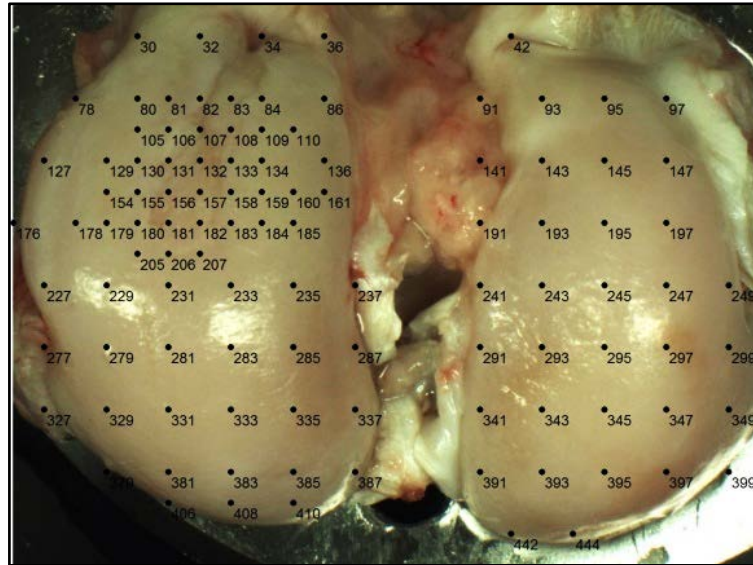


Abbildung 4 Fixierung und Positionierung der Femurkondylen auf der Messplatte am Beispiel von Schaf 6. Links im Bild befindet sich die mediale Femurkondyle, unten im Bild die posteriore Seite der Femurkondyle. Der Kondyle sind durch die Positionssoftware 106 Positionen für die Messungen zugeordnet worden. Im Defektareal findet sich eine erhöhte Dichte an Messpositionen.

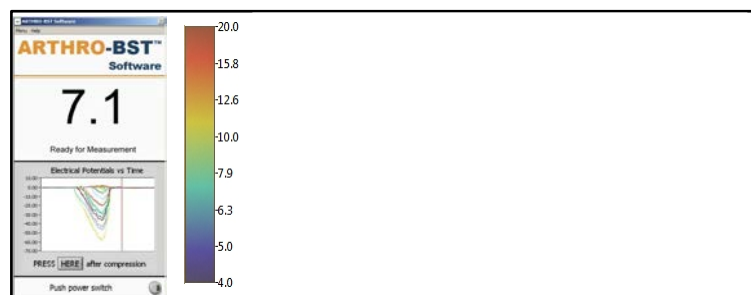


Abbildung 5 Links: Darstellung der errechneten Strömungspotentiale [mV] als Messung jeder Elektrode über die Zeit. Der quantitative Parameter (QP), im Bild hier als Beispiel mit 7,1, wurde nach jeder Position bestimmt. Mitte: Eine logarithmische Skala von blau (4: niedriger QP Wert) bis rot (20: hoher QP Wert). Rechts: Darstellung Arthro-BST™ QP Mapping mit den Ergebnissen der QP am Beispiel der linken Femurkondyle von Schaf 2 mit der zum Vergleich dargestellten Fotodokumentation. Mit freundlicher Genehmigung von Biomomentum Inc.

4.4.2 Diagnostischer Parameter (DP)

Der diagnostische Parameter (DP) ist ein Wert, der die elektromechanischen Eigenschaften des Gewebes im Vergleich zum Referenzwert (QP_R) beschreibt, da der QP Wert nicht direkt eine Aussage über die Qualität des Gewebes liefern kann. Der Referenzwert QP_R entspricht dem QP Wert in gesundem Knorpelgewebe und ist abhängig von Spezies, Topografie, Alter, Geschlecht und anderen physiologischen Parametern. Zum Vergleich werden Referenzwerte $QP_R(x,y)$ möglichst

entsprechend der selbigen Eigenschaften wie die des zu untersuchenden Gewebes benötigt. Diesbezüglich wurden in Vorstudien auch unter Einbeziehen des SE $\Delta QP_R(x,y)$ Referenzwerte erstellt.(137, 138) In dieser Arbeit wurde die $QP_R(x,y)$ aus dem Durchschnittswert der Messungen an den unbehandelten kontralateralen Femurkondylen der n=10 Schafen ermittelt. Des Weiteren wurden SE für jede Position auf der Map berechnet. Ein ermittelter Wert, welcher in das 95 % K.I. der Referenzwerte fiel, wurde als normal beschrieben. Das K.I. wurde an jedem Messpunkt aus dem SE des QP x 1,96 berechnet (Abb. 6).

Die Berechnung des DP ergibt sich aus der Formel: $DP(x,y)=QP(x,y)-(QP_R(x,y)\pm \Delta QP_R(x,y))$. Da nicht in allen Regionen eine gleiche Anzahl an Messungen vorlag, dies jedoch zum besseren Vergleich der Werte wichtig ist, wurden an den fehlenden Positionen Durchschnittswerte der umliegenden Messpunkte eingesetzt und in die Berechnung mit aufgenommen. Die Referenz Map wurde mithilfe der Software äquivalent zur QP Map über die Präparate gelegt, sodass die Messpunkte möglichst genau übereinstimmten. Die Differenz der Werte wurde von der Software berechnet und letztendlich eine Skala mit Werten von -8 (blau) bis 8 (rot) erstellt. Die DP Schwelle lag bei 1,37. Ein DP Wert zwischen -1,37 und 1,37 soll normalem Knorpel entsprechen, ein DP Wert $<-1,37$ sehr dünnem Gewebe und/oder inkompletter Reparatur, und DP Werte $>1,37$ Knorpeldegeneration jeweils mit einem 95 % K.I.

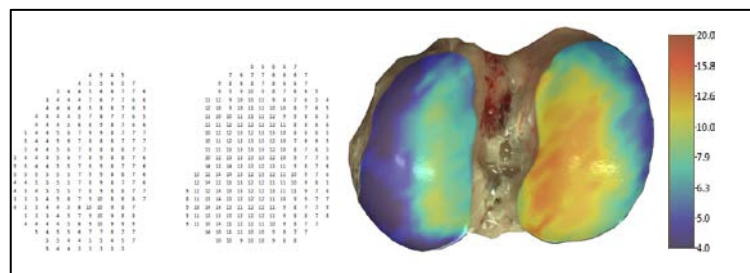


Abbildung 6 Darstellung der Referenz Map $QP_R(x,y)$ links numerisch und rechts als farbkodierte Karte am Beispiel des rechten Kniegelenks von Schaf 5. Eine logarithmische Skala von blau (4: niedriger QP Wert) bis rot (20: hoher QP Wert) wurde verwendet.

4.5 Histologie

4.5.1 Präparate

Nach erfolgter elektromechanischer Testung wurden aus den Gelenken Präparate aus den behandelten medialen Femurkondylen (L-MFC), den jeweils artikulierenden Tibiaplateaus (L-MTP), den kontralateralen nicht behandelten medialen Femurkondylen (R-MFC) mit den jeweils artikulierenden Tibiaplateaus (R-MTP) mitsamt Synovia gewonnen. Bei den L-MFC Präparaten wurde darauf geachtet, dass die gesamte ehemalige Defektzone einschließlich nativem Umgebungsgewebe erfasst wurde. Die Präparate wurden lichtgeschützt in 4 % Formaldehyd-Lösung bei 5°C fixiert und anschließend für 13 Wochen in EDTA bei 37°C dekalzifiziert. Im Anschluss wurden sie in Paraffin eingelegt. Die Präparate der behandelten Femurkondylen (L-MFC) wurden im Bereich des Defektes in drei Abschnitte (anterior, medial, posterior) unterteilt, um den gesamten Defekt bestmöglich beurteilen und eine potenzielle Heterogenität des Regenerats darstellen zu können. Aus jedem dieser Areale wurden Serien im Koronarschnitt von 5 µm Dicke hergestellt. Von den anderen Präparaten wurde jeweils eine repräsentative Präparatserie ohne weitere Unterteilung erstellt. Die Schnitte wurden nach Standard H&E und Toluidin-Blau Protokollen gefärbt. Native Schnitte standen zur Polarisationsmikroskopie zur Verfügung. Aus technischen Gründen konnten für L-MFC anterior von Schaf 3 und 4, und für R-MTP von Schaf 1 und 11 keine histologischen Präparate asserviert werden.

4.5.2 Scoring

Das histologische Scoring erfolgte, gemäß den Empfehlungen der ICRS, verblindet durch drei unabhängige Untersucher an den insgesamt n=68 vorhandenen Präparaten.(83) Die Präparate L-MFC 3 med., L-MFC 4 med., L-MFC 5 med., L-MTP 5, L-MTP 12 und R-MFC 12 wurden mehrfach beurteilt, um die Reproduzierbarkeit des Scorings und die *intra- und interrater* Variabilität zu evaluieren.

ICRS II Score

Der 14 Kategorien umfassende ICRS II Score war Grundlage des histologischen Scorings des Knorpelregenerates in den L-MFC Präparaten sowie des nativen

Gewebes in den Übrigen. Eine Übersetzung ins Deutsche sowie die von Mainil-Varlet et al. veröffentlichten repräsentativen Beispielbilder wurden zur Verfügung gestellt.(83) Das Scoring erfolgte anhand einer 100 mm langen visuellen Analogskala (Abb. 7). Die Untersucher waren aufgefordert, eine Strichmarkierung auf diesem Strahl zu setzen.

Histological Parameter		Score (0-100%)
1. Tissue morphology	(0% :Full thickness collagen fibres- 100%: Normal cartilage birefringence)	_____
2. Matrix staining	(0% :No staining-100%: Full metachromasia)	_____
3. Cell morphology	(0%:No round/oval cells-100%:mostly round/oval cells)	_____
4. Chondrocyte clustering (4 or more grouped cells)	(0% :Present-100%: Absent)	_____
5. Surface architecture	(0%:Delamination, or major irregularity 100%: Smooth surface)	_____
6. Basal integration	(0%: No integration-100% :complete integration)	_____
7. Formation of a tidemark	(0%:No calcification front-100%:Tidemark)	_____
8. Subchondral bone abnormalities/ marrow fibrosis	(0%:Abnormal-100%: Normal(no infiltrates))	_____
9. Inflammation	(0%:Present-100%:Absent)	_____
10. Abnormal calcification/ossification	(0%:Present-100%:Absent)	_____
11. Vascularization (within the repaired tissue)	(0%:Present-100%:Absent)	_____
12. Surface/superficial assessment	(0%:Total loss or complete disruption- 100%:Resembles intact articular cartilage)	_____
13. Mid/deep zone assessment	(0%: Fibrous tissue-100%:Normal hyaline cartilage)	_____
14. Overall assessment	(0%:Bad(fibrous tissue)-100%:Good(hyaline cartilage))	_____

Abbildung 7 Darstellung des zur Verfügung gestellten Scoring-Bogens auf der Grundlage des ICRS II Scores mit 14 Kategorien mit jeweils exakt 100 mm langer Skala zum Einzeichnen des Ergebnisses. Abb. im Verhältnis 1:3.

Auswertung

Der Abstand jeder Markierung wurde ausgemessen und in Werte zwischen 0 und 1,0 umgewandelt. Dabei entsprach eine Markierung bei 0 mm einem Wert von 0 und bei 100 mm einem Wert von 1,0. Die Ergebnisse der 14 Kategorien wurden zu einer Gesamtpformance aufsummiert. Somit konnte für jedes Präparat ein Maximalwert von 14 erzielt werden. Es erfolgte im Anschluss die Mittelung sowohl der Ergebnisse der Regionen zu einer Gesamtpformance als auch eine Mittelung der Ergebnisse der 3 Scorer je Präparat.

4.5.3 Scan und Digitalisierung

Zur Digitalisierung und Vermessung der Knorpeldicke erfolgte das Einscannen der Präparate mit dem Panoramic DESK (3D Histech, Budapest, HUN) mit 40x Objektiv und 2,5-facher Vergrößerung. Zum Einscannen der Präparate durften diese eine maximale Dicke von 1,4 mm aufweisen, sodass nicht alle Präparate eingescannt werden konnten. Von Schaf 4, 6, 8, 9 und 10 standen nur vereinzelt oder gar kein

Präparat aus den behandelten Arealen, von Schaf 7 weder Präparate aus den behandelten noch aus den unbehandelten Arealen zum Scan zur Verfügung. Mit dem Panoramic Viewer Version 1.15.4 RTM (3D Histech) konnten die Präparate digitalisiert und vermessen werden. Es wurde zuerst die Gesamtlänge des Präparates ermittelt. Die Dickenmessungen erfolgten jeweils auf einer Länge von 25 %, 50 % und 75 % des Präparates. Die Dickenmessung erfolgte zur Korrelation der Knorpeldicke und Indentationsmessungen.

4.6 Statistik

Die erhobenen Score- und Messdaten wurden mittels Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA) katalogisiert. Zur Darstellung der quantitativen Daten wurde der Median sowie Mittelwert, die Standardabweichung (SD) und der Standardfehler (SE) bestimmt. Die statistische Auswertung der elektromechanischen Daten erfolgte anhand des DP mit der SAS Version 9.3 (SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA). Die statistische Auswertung der histologischen Daten erfolgte mithilfe der 2-Faktor und 1-Faktor Varianzanalyse mit und ohne Wiederholungsmessungen je nach Anwendbarkeit. Zusätzlich erfolgten bei unverbundenen Gruppen in Abhängigkeit von Normalverteilung und Varianzberechnung die Durchführung von T-Test, Welch-Test und Mann-Whitney-U-Test. Hierfür wurden die Programme IBM SPSS Statistics Subscription (IBM, Armonk, NY, USA) und DataTab (DataTab.E.U, Graz, A) verwendet. Die Korrelationsanalysen wurden mittels des Pearson's Korrelationskoeffiziententest (r) durchgeführt; Werte für r liegen dabei zwischen -1 und 1. Je näher r an Null liegt, desto schwächer, je näher an 1 oder -1, desto stärker ist der lineare Zusammenhang. Das 95 % Konfidenzintervall wurde berechnet und eine Regressionsanalyse (ANOVA) durchgeführt. In allen Signifikanztests wurden p -Werte $<0,05$ als statistisch signifikant angesehen. Die Erstellung der Grafiken erfolgte mithilfe von Microsoft Office Excel und IBM SPSS Statistics Subscription.

4.7 Ethikvotum

Die Experimente wurden vom Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein (V312-72241.122-15(109-11/10)) überprüft und genehmigt sowie unter tierärztlicher Anleitung durchgeführt.

5 Ergebnisse

5.1 Rehabilitation

Im freien Herdenverbund zeigten sich keine prolongierten Einschränkungen bzgl. der Mobilisation. Die p.o. Analgesie konnte kurzfristig abgesetzt werden. In einem Fall kam es zu einer revisionspflichtigen Wunddehiszenz mit prolongierter Antibiotikagabe. Die Wunde heilte fortan *per primam*. In einem anderen Fall (Schaf 2) wurde 2 Monate postoperativ eine Mittelfußfraktur der nichtbehandelten Seite festgestellt, was eine vermehrte Belastung des operierten Gelenkes zur Folge hatte. Therapiebedürftig war die Fraktur nicht.

5.2 Makroskopie

An den behandelten Femurkondylen konnten im Bereich der Defektzone heterotope Ossifikationen unterschiedlicher Ausprägung und Schweregrade festgestellt werden. Pannusbildung, Hypertrophiezeichen der Synovialmembran oder Graft-versus-Host-Reaktionen wurden nicht gefunden. Die ehemaligen Defektareale waren fast komplett mit Reparationsgewebe gefüllt, welches sich makroskopisch zumindest knorpelähnlich darstellte. Insgesamt zeigte sich das Ersatzgewebe heterogen mit teilweise auch unregelmäßiger, fragmentierter Oberfläche. Die zuvor gesetzten Implantate erschienen komplett umgebaut und integriert. Die posterioren Anteile der Defekte schienen besser zu heilen als die anterioren, in denen vereinzelt Zysten gefunden wurden. Die durchschnittliche Größe der Kondylen betrug $48,4 \pm 2,8$ mm (Breite) x $34,0 \pm 1,1$ mm (Länge). Im Paardifferenzentest konnte keine signifikante Differenz ($p > 0,05$) der Größenverhältnisse zwischen rechter und linker Seite festgestellt werden. Die Oberflächen der nicht behandelten Gelenkabschnitte (laterale Femurkondyle, mediales und laterales Tibiaplateau, kontralaterale nichtbehandelte mediale Femurkondyle) wiesen keine Auffälligkeiten auf. Vereinzelt fiel in den behandelten Gelenkabschnitten Osteophytenbildung auf. In den kontralateralen Gelenken konnte keine Osteophytenbildung festgestellt werden (Abb. 8).

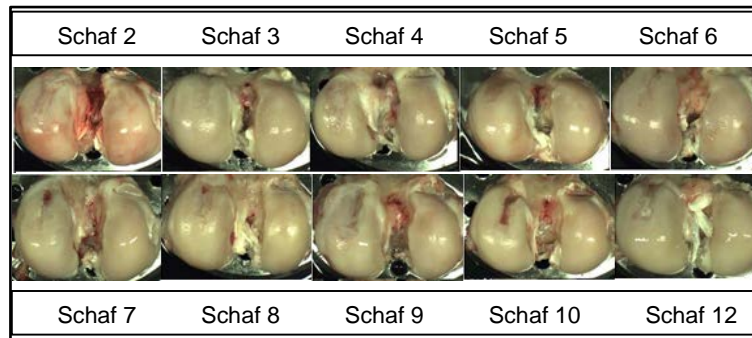


Abbildung 8 Makroskopische Darstellung der Femurkondylen 19,5 Monate nach Rekonstruktion des Defektes mit jeweils einem biphasischen Implantat (obere Reihe: Behandlungsgruppe 1; biologisches Implantat; untere Reihe: Behandlungsgruppe 2; synthetisches Implantat).

5.3 Arthro-BST™

5.3.1 Quantitativer Parameter (QP)

Abb. 9 zeigt die Fotodokumentation und die QP Map der unbehandelten (R-MFC) und behandelten (L-MFC) medialen Femurkondylen jeweils im direkten Vergleich. Unabhängig von den unterschiedlichen Behandlungsgruppen zeigte der Farbverlauf im Abgleich mit der logarithmischen Skala niedrigere QP Werte für das Ersatzgewebe im ehem. Defektbereich (L-MFC) im Vergleich zu den kontralateralen unbehandelten medialen Femurkondylen (R-MFC).

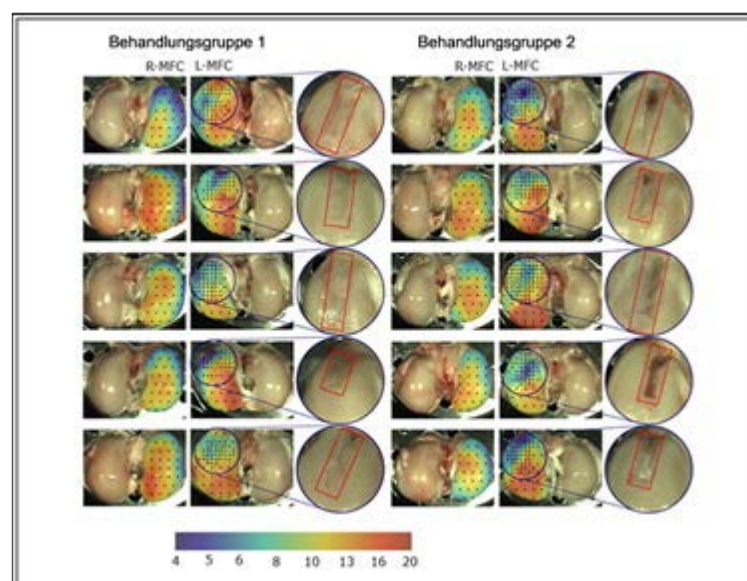


Abbildung 9 Fotodokumentation und QP Map der R-MFC (unbehandelt) und L-MFC (behandelt) mit gezielter Aufnahme des Defektareals. Eine logarithmische Skala von blau (4: niedriger QP Wert) bis rot (20: hoher QP Wert) wurde genutzt. Eine 60%ige Transparenz wurde eingestellt, um die anatomischen Orientierungspunkte weiter identifizieren zu können. Die schwarzen Punkte repräsentieren die einzelnen Testpositionen. Die ehem. Defektregion wurde mit einer 200%igen Vergrößerung exponiert.

5.3.2 Diagnostischer Parameter (DP)

Tab. 1 (siehe Anhang) zeigt die durch die Software errechneten DP Werte in den verschiedenen Regionen, anhand derer Abb. 10 erstellt wurde.

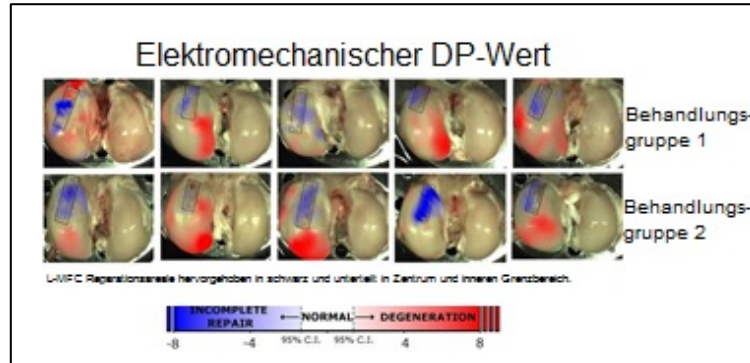


Abbildung 10 DP Mapping der beiden Behandlungsgruppen. Die Differenz der Werte wurde von der Software berechnet und eine Skala mit Werten von -8 (blau) bis 8 (rot) erstellt. DP Wert $>1,37$: Hinweise für Knorpeldegeneration, DP Wert $<-1,37$: Hinweise auf dünnes Knorpel- oder Regeneratgewebe, DP Wert im Intervall zwischen $-1,37$ und $1,37$: normales Knorpelgewebe. Die Reparationsareale wurden durch die schwarze Umrandung hervorgehoben. Durch die gepunktete schwarze Linie wurde das Areal in den Bereich Zentrum und Peripherie unterteilt.

Defektbereich

Für das Ersatzgewebe im ehem. Defektareal fanden sich ausnahmslos negative DP Werte. Unabhängig von der Behandlungsgruppe betrug der DP Gesamtwert $-2,05 \pm 2,8$ SD ($n=521$), der im Zentrum $-3,1 \pm 2,7$ SD ($n=225$), und in der Peripherie $-1,25 \pm 2,6$ SD ($n=296$). In der Peripherie zeigten sich signifikant bessere DP Werte als im Zentrum des Defektes (Behandlungsgruppe 1: $p < 0,001$; Behandlungsgruppe 2: $p < 0,001$). Auffällig war der *Outlier* Schaf 10 mit einem sich signifikant von den anderen Schafen unterscheidenden DP Wert von $-5,0 \pm 2,9$ SD ($n=47$, $p < 0,01$). Unter Herausnahme des *Outliers* fand sich ein DP Gesamtwert $1,7 \pm 2,5$ SD ($n=474$), Zentrum von $2,7 \pm 2,5$ SD ($n=204$) und Peripherie $1,0 \pm 2,3$ SD ($n=270$). Ein signifikanter Unterschied fand sich nicht ($p > 0,1$)

Defektumgebung

Für beide Behandlungsgruppen konnten Frühzeichen einer Knorpeldegeneration in den dem ehem. Defekt angrenzenden/benachbarten Knorpelarealen nachgewiesen werden (DP $>1,37$). Für Behandlungsgruppe 1 ergaben sich ein DP Wert von $1,55 \pm 2,92$ SD ($n=922$), für Behandlungsgruppe 2 ein DP Wert von $2,08 \pm 3,15$ SD ($n=963$).

Gesamtgelenk

DP Werte wurden auch außerhalb der Defektzonen bestimmt, um therapieabhängige Veränderungen im gesamten Gelenk zu detektieren (Tab. 2). Der DP Wert der gesamten linksseitigen medialen Femurkondyle inklusive Defektzone L-MFC betrug $2,7 \pm 2,3$ SD (n=2407) und unterschied sich signifikant von den übrigen untersuchten Gebieten ($p < 0,001$). Der DP Wert der ipsilateralen lateralen Femurkondyle (L-LFC) betrug $1,9 \pm 2,1$ SD (n=1063). Betrachtete man Schaf 6 als *Outlier*, ergab sich ein DP Wert von $1,3 \pm 1,0$ SD (n=847). Dies entsprach einem marginal schlechteren Ergebnis im Vergleich zur kontralateralen lateralen Femurkondyle (R-LFC) mit einem DP Wert von $1,1 \pm 0,9$ SD (n=184; $p > 0,1$). Die medialen Femurkondylen der unbehandelten Kniegelenke (R-MFC) hatten einen signifikant höheren DP Wert mit $1,6 \pm 1,3$ SD (n=345) als die lateralen Femurkondylen derselben Seite (R-LFC) mit einem DP Wert von $1,1 \pm 0,9$ SD (n=184; $p < 0,01$).

5.4 Histologie

5.4.1 Deskriptive Histologie

Die Präparate der Toluidin-Blaufärbung zeigten ein heterogenes Bild. Das jeweils beste und schlechteste Ergebnis/Präparat der beiden Behandlungsgruppen ist in Abb. 11 dargestellt: In fast allen Präparaten fand sich eine nahezu vollständige Defektfüllung. Das Ersatzgewebe schien morphologisch aus einem Mischbild aus fibrösem Gewebe (F ▲*, H ▲***) und hyalinartigem Knorpelgewebe (D) zu bestehen. Die Zellen im Reparaturgewebe waren teilweise in Kolonnen angeordnet (B und D ▲***). Durchgehend hyalines Ersatzgewebe fand sich in keinem der Präparate. Die Oberflächenstruktur war sehr mannigfaltig und bot irreguläre (G) bis glatte Anteile (A). Die basale und laterale Integration zeigte sich insgesamt gut (B ▲). Dehiszenzen konnten jedoch ebenfalls dokumentiert werden (D ▲). In allen Präparaten konnte eine Tidemark identifiziert werden (B D H ▲**). In einigen Präparaten konnte regeneriertes subchondrales Knochengewebe mit typischer Trabekelstruktur detektiert werden (A und C). Weiterhin konnten in einigen Präparaten beginnende Degenerationsprozesse identifiziert werden: Zellcluster an den Grenzen zum normalen gesunden Knorpel (B, D, H ▲*), kalzifizierte Schichten, Duplikationen der Tidemark und auch in wenigen Fällen Vaskularisation (F ▲***).

Graffhypertrophie oder intraläsionale Osteophyten fanden sich jedoch nicht. Die Beobachtungen wurden unabhängig von der Behandlungsgruppe erhoben. In den Biopsien der Synovia, welche aus den behandelten Gelenken entnommen wurden, konnten keine inflammatorischen Infiltrate und somit auch keine Entzündungsreaktionen nachgewiesen werden.

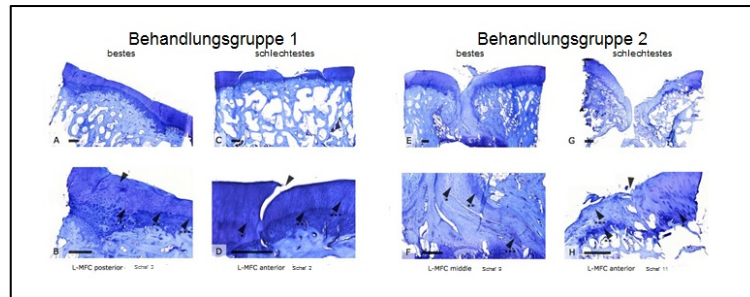


Abbildung 11 Toluidin-Blau-gefärbte Präparate der Defektregion (L-MFC) nach Behandlung mit entweder einem biologischen (Behandlungsgruppe 1) oder einem synthetischen Implantat (Behandlungsgruppe 2) 19,5 Monate nach operativer Versorgung. Die obere Reihe zeigt die Aufnahmen in der Gesamtansicht, die untere Reihe jeweils die detaillierte Aufnahme. Dargestellt sind jeweils die Präparate mit der besten und schlechtesten Performance. Messskala 500 µm.

5.4.2 Histologisches Scoring

Gesamtscore

Der Mittelwert aller L-MFC Scores betrug $9,21 \pm 0,31$ SE (Reichweite: 3,26 [L-MFC posterior Schaf 12] – 13,37 [L-MFC medial Schaf 6]; n=102; Tab. 3, Tab. 4, Tab. 5 im Anhang). Die L-MFC Regionenanalyse ergab einen Mittelwert von $10,15 \pm 0,37$ SE für anterior (n=30), von $9,1 \pm 0,4$ SE für medial (n= 36), und von $8,31 \pm 0,44$ SE für posterior (n=36), wobei sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen anteriorem und posteriorem L-MFC Bereich ($p < 0,001$), anteriorem und medialen L-MFC Bereich ($p < 0,01$) und zwischen L-MFC gesamt und anteriorem L-MFC Bereich ($p < 0,001$) zeigte. Für L-MTP fand sich ein Mittelwert von $12,55 \pm 0,35$ SE (n=36), für R-MTP von $13,26 \pm 0,10$ SE (n=30), und für R-MFC von $13,48 \pm 0,11$ SE (n=36). Zwischen L-MFC und den eben genannten Regionen fand sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($p < 0,001$; Abb. 12)*

* Die zur Publikation Schagemann et al. (131) abweichenden Ergebnisse kommen dadurch zustande, dass in dieser Arbeit alle erhobenen Werte (inklusive *Outlier*) mit in die Statistik aufgenommen und gewertet wurden. Die statistische Auswertung für das Paper erfolgte gemäß ANOVA unter Herausnahme der *Outlier*.

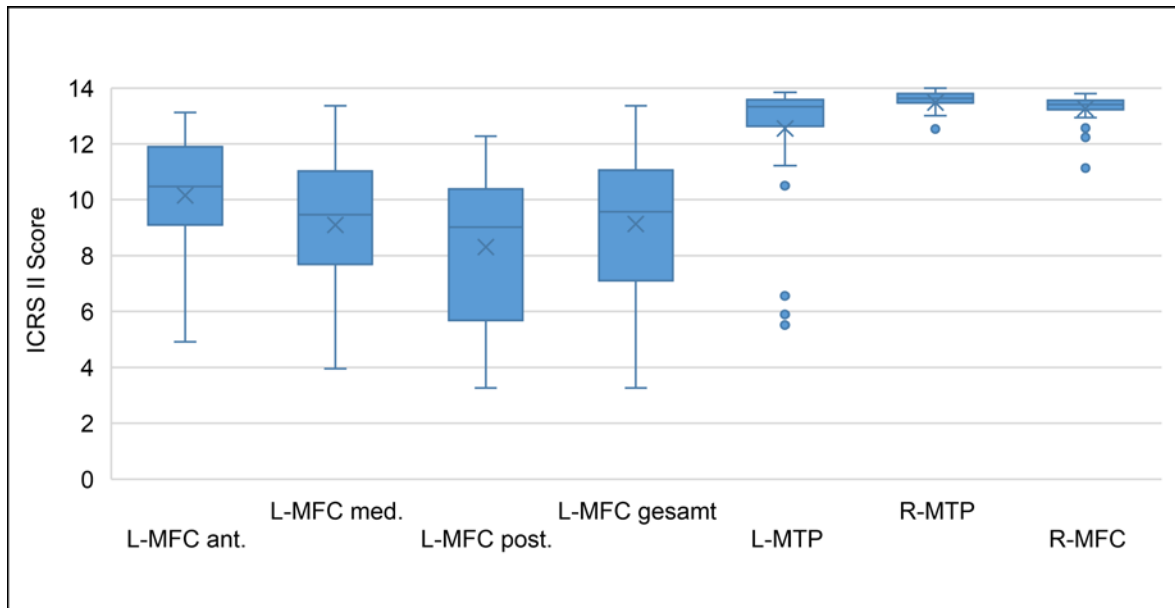


Abbildung 12 Box plot des ICRS II Ergebnisses der untersuchten Regionen: L-MFC (linke mediale Femurkondyle); L-MTP (linkes mediales Tibiaplateau); R-MTP (rechtes kontralaterales mediales Tibiaplateau); R-MFC (rechte kontralaterale mediale Femurkondyle). Der ICRS II Score erreicht Werte zwischen 0 und maximal 14 Punkten. Die Graphik zeigt Mittelwert, Median, Range, *Outlier* und Quartilen der Ergebnisse an.

Kategorisierung

Betrachtet man für die ehemalige Defektregion (L-MFC) die Kategorien des ICRS II einzeln, konnten die besten Ergebnisse ($n=34$) für die Parameter Entzündungsreaktion (Mittelwert: $0,91 \pm 0,12$ SD), Vaskularisation (Mittelwert: $0,77 \pm 0,07$ SD) und Zellmorphologie (Mittelwert: $0,73 \pm 0,22$ SD) berechnet werden. Die schlechtesten Ergebnisse fanden sich für die Parameter Bildung der Tidemark (Mittelwert: $0,47 \pm 0,28$ SD) und basale Integration (Mittelwert: $0,58 \pm 0,22$ SD) (Tab. 6 im Anhang).

5.5 Korrelation: Histologie und Arthro-BST™

5.5.1 Defektareal

Da die DP Werte der Defektareale ausnahmslos negativ waren, wurde für die Korrelationsanalyse der absolute Zahlenwert ohne SD als Grundlage genommen. Unterschieden wurde zwischen Zentrum der Defektzone (Zentrum) und Defektzone Gesamt (Gesamt). Korreliert wurde mit dem jeweiligen histologischen Mittelwert des ICRS II Scores (Tab. 7 im Anhang).

Die Pearson-Korrelation belegte einen signifikanten negativen Zusammenhang zwischen ICRS II Score und DP Wert im Zentrum der Defektregion ($r = -0,63, p < 0,05$; Abb. 13). Legte man, wie auch in der elektromechanischen Auswertung, Schaf 10 als *Outlier* fest, konnte die Pearson-Korrelation den e.g. signifikanten Zusammenhang zwischen ICRS II Score und DP Wert Zentrum des Defektes nicht erneut belegen ($r = -0,66, p > 0,05$; Abb. 14).

Die Pearson-Korrelation belegte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen ICRS II Score und DP Wert für den Gesamtbereich der Defektregion ($r = -0,59, p > 0,05$; Abb. 15). Legte man Schaf 10 auch hier als *Outlier* fest, zeigte die Pearson-Korrelation einen signifikanten negativen Zusammenhang zwischen ICRS II Score und DP Wert für den Gesamtbereich der Defektregion ($r = -0,73, p < 0,05$; Abb. 16).

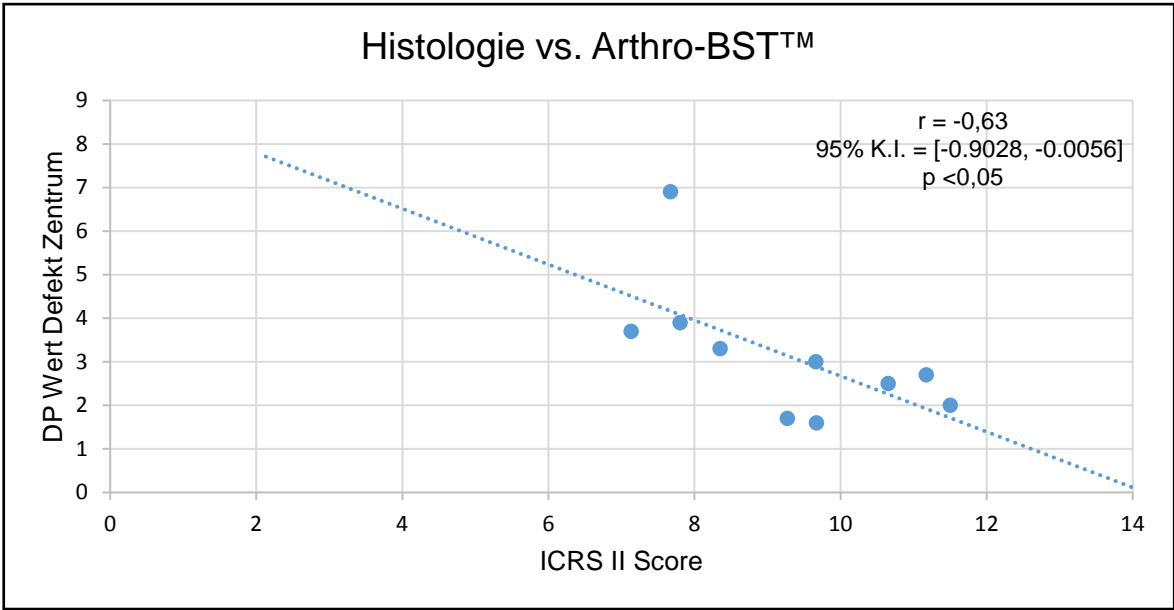


Abbildung 13 Streudiagramm inkl. Regressionsgerade: Korrelation von histologischem Mittelwert (ICRS II Score) und elektromechanischem DP Mittelwert (Arthro-BST™) bezogen auf die Defektregion L-MFC Zentrum.

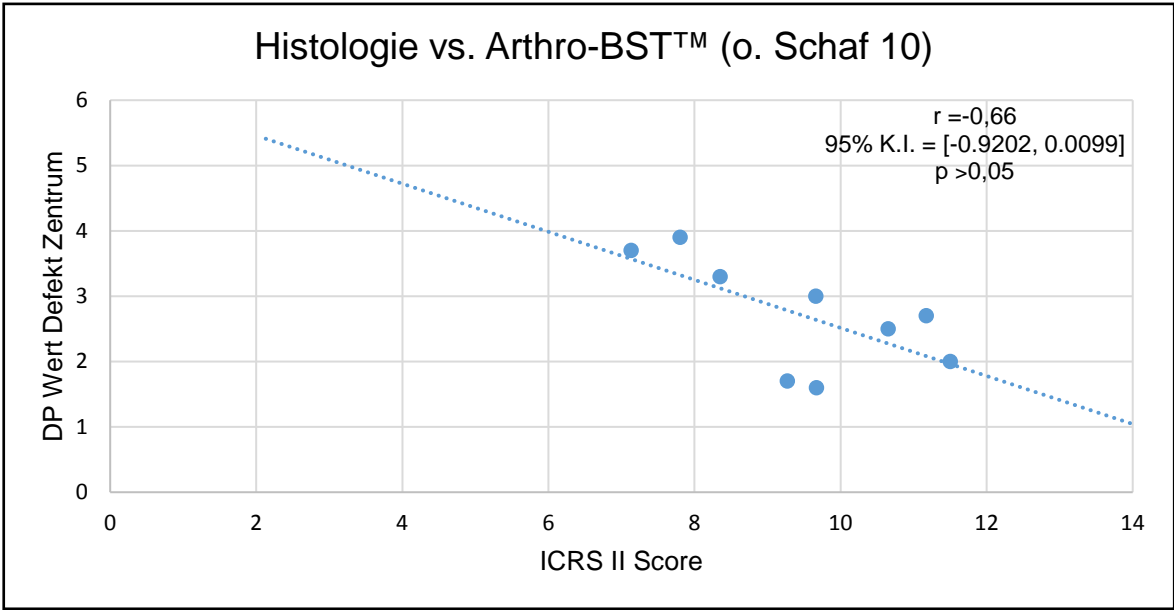


Abbildung 14 Streudiagramm inkl. Regressionsgerade: Korrelation von histologischem Mittelwert (ICRS II Score) und elektromechanischem DP Mittelwert (Arthro-BST™) bezogen auf die Defektregion L-MFC Zentrum ohne Schaf 10.

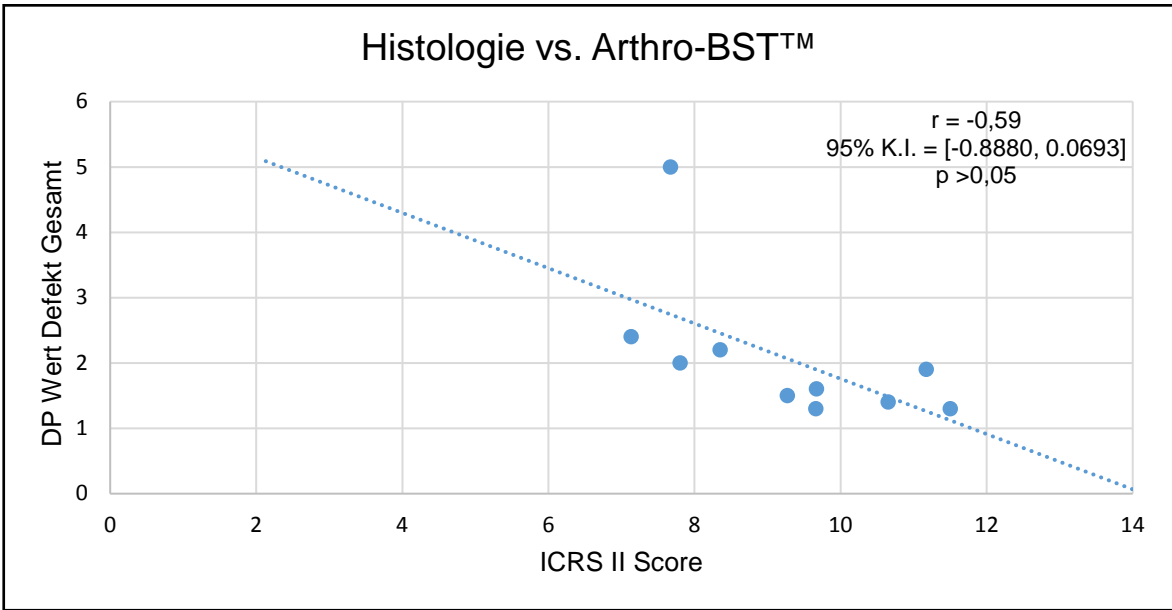


Abbildung 15 Streudiagramm inkl. Regressionsgerade: Korrelation von histologischem Mittelwert (ICRS II Score) und elektromechanischem DP Mittelwert (Arthro-BST™) bezogen auf die Defektregion L-MFC Gesamt.

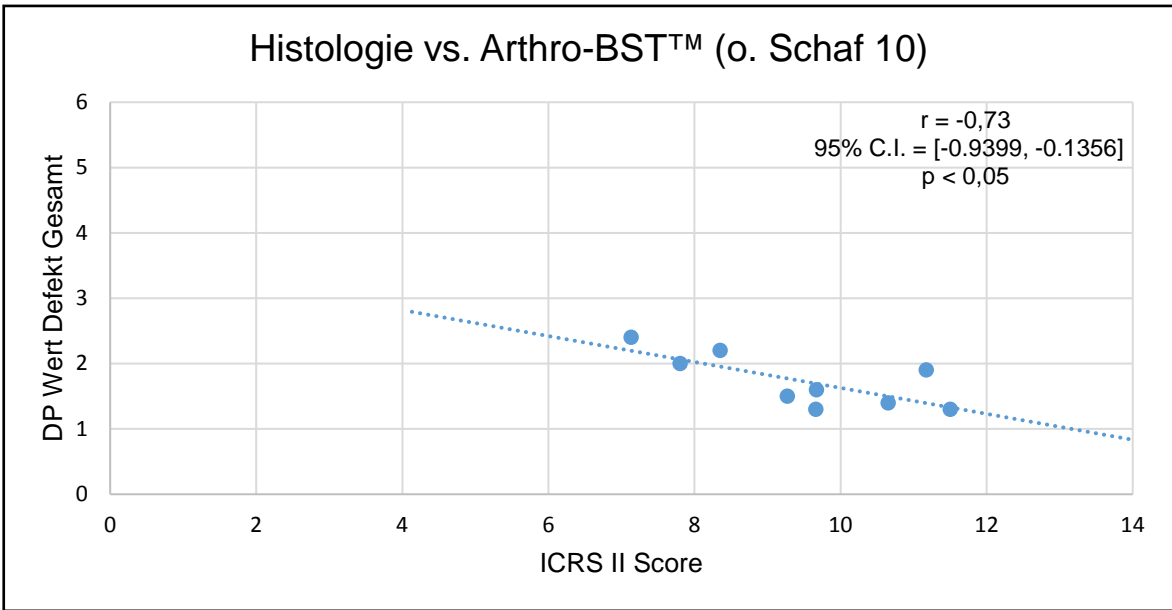


Abbildung 16 Streudiagramm inkl. Regressionsgerade: Korrelation von histologischem Mittelwert (ICRS II Score) und elektromechanischem DP Mittelwert (Arthro-BST™) bezogen auf die Defektregion L-MFC Gesamt ohne Schaf 10.

5.5.2 Unbehandelte Areale

Auch hier wurde für die Korrelationsanalyse der absolute Zahlenwert des DP ohne SD als Grundlage genommen. Korreliert wurde der jeweilige histologische Mittelwert des ICRS II Scores und der DP Wert der R-MFC (Tab. 8 im Anhang). Die Ergebnisse der Pearson-Korrelation zeigten, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen ICRS II Score und DP Wert in den unbehandelten Arealen gab ($r = 0,13$, $p > 0,05$; Abb. 17).

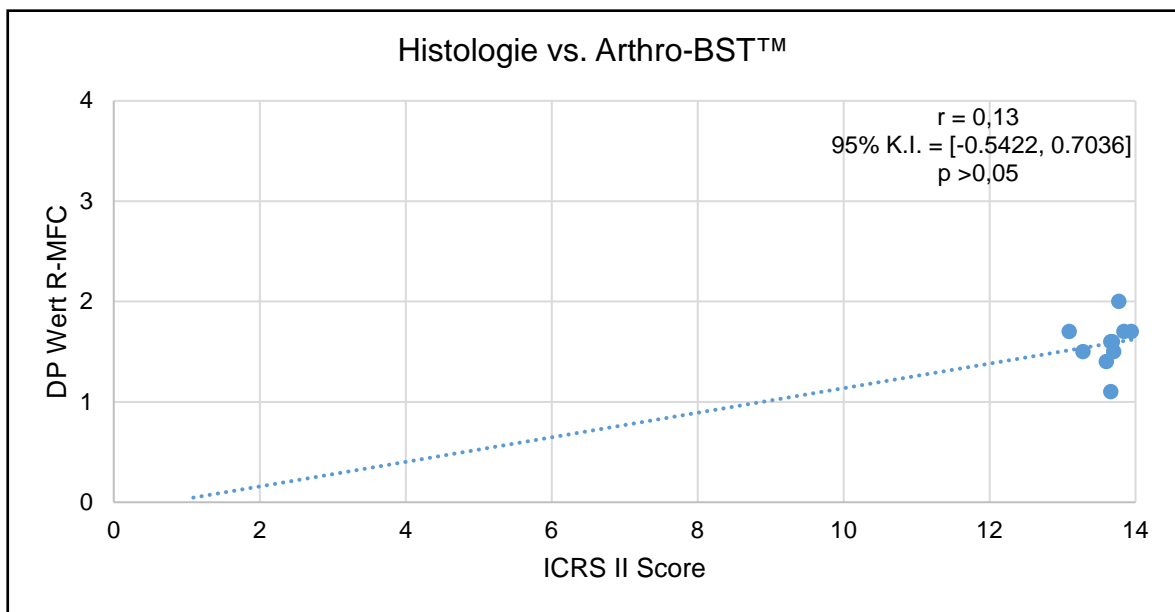


Abbildung 17 Streudiagramm inkl. Regressionsgerade: Korrelation von histologischem Mittelwert (ICRS II Score) und elektromechanischem DP Mittelwert (Arthro-BST™) bezogen auf die unbehandelten Areale R-MFC.

6 Diskussion

Galt zu Beginn der 1990er Jahre als oberstes Ziel knorpelregenerativer Techniken die Genese genuinen hyalinen Knorpels, steht heutzutage die Funktionalität des Regeneratknorpels zunehmend im Fokus der Forschung.(55) Dabei gilt es ein nichtinvasives oder zumindest nichtdestruktives Mittel zur Verfügung zu haben, um die spezifische Zusammensetzung und Gewebemorphologie zu analysieren, anhand derer wiederum Rückschlüsse auf die Funktionalität des Ersatzgewebes gezogen werden könnten. Anders als die Histologie, die sowohl invasiv als auch destruktiv ist, ist das Arthro-BST™ geeignet, kompressionsinduzierte Strömungspotentiale im Gelenkknorpel nichtdestruktiv zu messen. Studien der Arbeitsgruppe um M. Buschmann und M. Garon konnten zeigen, dass das Arthro-BST™ auf verletzten oder degenerierten Knorpel anwendbar ist und mit histologischen Scores und biomechanischen Eigenschaften des untersuchten Gewebes korreliert.(137–139) Dabei zeigte das Verfahren eine hohe Reliabilität und eine niedrige *intra- und interrater* Variabilität.(20) Ein Nachweis für Regeneratknorpel oder osteochondrales Gewebe steht aus. Die vorliegende Arbeit war somit die erste, die o.g. Messmethode auf deren Eignung zur Analyse von gealtertem osteochondralen Regeneratgewebe im Großtiermodell testete. Die Ergebnisse sollten mit dem aktuellen Goldstandard Histologie entsprechend der Empfehlungen der ICRS korreliert werden.(55) Im Falle einer positiven Korrelation wäre die invasive und destruktive Histologie ggf. perspektivisch als obsolet zu bezeichnen.

Wesentliche Teilaspekte der vorliegenden Arbeit sollen im Folgenden separat diskutiert werden:

Tiermodell

Wie von Reinholz et al. zusammengefasst, ist die korrekte Wahl des Tiermodells entscheidend für die Aussagekraft der Ergebnisse.(119) Während kein Tiermodell eine direkte Vergleichbarkeit zum Menschen erlaubt, ist das Großtiermodell und somit das Schaf – zumindest in der knorpelregenerativen Wissenschaft – akzeptiert.(2, 93) Der generelle Vorteil der Untersuchungen am Tiermodell liegt darin, dass es einen studententechnischen Endpunkt gibt und, dass die zu untersuchenden Defekte u.U. auch dynamisch über einen Zeitraum evaluiert werden können.(55) Invasive Studien am Menschen sind – zumindest im Bereich

der knorpelregenerativen Medizin – ethisch kaum vertretbar. So liegen im Gegensatz zum Tiermodell oftmals auch keine Kontrollgruppen vor.(11, 42, 65, 127) In der vorliegenden Studie fungierte die unbehandelte kontralaterale mediale Femurkondyle als Kontrolle.(102) Ein gewichtiger Unterschied zum humanen Knorpel besteht jedoch in der sehr harten subchondralen Knochenlamelle sowie der sehr variablen Knorpeldicke im Schafmodell.(37, 62) Die durchschnittliche Knorpeldicke an der medialen Femurkondyle beträgt 0,4-1,0 mm; beim Menschen 2,2-2,5 mm. Die Übertragbarkeit unserer Ergebnisse war somit zumindest eingeschränkt, da o.g. Faktoren einen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit haben könnten.

Wichtig ist zudem eine kritische Defektgröße zu kreieren, welche nicht spontan heilen kann.(100, 135, 136) Die Literatur diesbezüglich liefert jedoch teilweise inkonstante Daten: Schagemann et al. fanden keine adäquate Spontanheilung in zylindrischen osteochondralen Defekten von 8 mm Durchmesser und 12 mm Tiefe, wohingegen Mrosek et al. selbst in größeren Defekten mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Tiefe von 13 mm zumindest eine gewisse Spontanheilung nachweisen konnten (beide Studien: ausgewachsene Schafe).(100, 130) Der durchschnittliche Defektdurchmesser lag in ausgewählten Studien bei 7,4 mm (Reichweite: 2-15 mm).(2, 97) Zur Defekttiefe wurden widersprüchliche Aussagen gemacht. Um den Faktor Defektgröße bestmöglich zu egalisieren, wurde eine *kritische* Defektgröße von 6 mm (Breite) x 20 mm (Länge) x max. 5 mm (Tiefe) definiert. Eine intrinsische Heilung des Knorpeldefektes war somit nicht zu erwarten.(16, 60, 132) Die sagittale Ausrichtung ermöglichte zudem histologische Querschnittsanalysen aus allen Bereichen des Defektes mit unterschiedlichen physiologischen Belastungen von anterior, über Mitte zu posterior – wie von der ICRS empfohlen.(55) Vergleichsstudien analysierten oft nur einen (teils willkürlich) ausgewählten Bereich des Defektareals.(55, 65)

Die durchschnittliche Anzahl an eingeschlossenen Versuchstieren lag in vergleichbaren Studien bei n=18 (Reichweite: 4-40).(97, 100, 133, 156) Vor dem Hintergrund der drei R`s (Replacement, Reduction, Refinement) im Rahmen von Tierversuchen wurde das n in unserer Studie (n=12) so gering wie möglich gehalten.(126) Der prolongierte Beobachtungszeitraum von 19,5 Monaten wurde bewusst gewählt, um gemäß der oben genannten Fragestellung reifes und unter

Umständen gealtertes Regenerat zu analysieren.(4, 9) Der Beobachtungszeitraum vergleichbarer Studien liegt zwischen 2 Wochen und 24 Monaten. Zur Analyse von ausgereiftem, aber nicht degeneriertem Regenerat wird oftmals ein Beobachtungszeitraum von 6-12 Monaten gewählt. (2, 55, 62, 108)

Arthro-BST™

Anders als bei dem Indentationstest, welcher auf Flüssigkeitsverschiebung und damit einhergehender Deformierung beruht, stützt sich das Prinzip des Arthro-BST™ auf die Bestimmung von kompressionsinduzierten Strömungspotentialen innerhalb des Knorpels.(76, 99) Diverse Studien konnten zeigen, dass diese Strömungspotentiale Struktur und Funktionalität von Knorpel reflektieren können.(40, 74, 76, 138) Strömungspotentiale sind unabhängig von der Kraft des Aufsetzens, der Aufsetzgeschwindigkeit oder dem Aufsetzwinkel; das Messverfahren ist somit reproduzierbar, nichtinvasiv bzw. nichtdestruktiv und potentiell interessant für die innerklinische Anwendung.(138) In Ruhe sind im gesunden Gelenkknorpel negativ geladene Proteoglykane von frei beweglichen Kationen der interstitiellen Flüssigkeit umgeben.(79, 125) Im Falle einer Kompression kommt es zu Ladungsverschiebungen, welche vom Gerät als Spannung wahrgenommen werden. Der QP wird aus der Anzahl an Mikroelektroden errechnet, die benötigt werden, um ein Strömungspotential von 100 mV zu erreichen. Je höher der QP, desto verminderter sind die elektromechanischen Eigenschaften des Gewebes.(137, 138) Da der QP jedoch von verschiedensten Eigenschaften des Gewebes abhängig ist, unter anderem der Dicke des Knorpels, sollte er insbesondere bei sehr dünnem Gewebe nicht direkt zur Beurteilung der Qualität herangezogen werden.(138) Es wurden somit Referenzwerte QP_R benötigt, die gesundem hyalinen Knorpelgewebe eines vergleichbaren Kollektivs und einer vergleichbaren Lokalisation entsprechen. Für den vorliegenden Versuch lagen in der Datenbank des Arthro-BST™ keine Referenzwerte vor, sodass die kontralateralen Kniegelenke der Versuchstiere als Referenz fungierten. Dieses Vorgehen wurde in Voruntersuchungen als adäquate Methode verifiziert.(102) Um sowohl QP als auch QP_R an möglichst gleicher Position bestimmen zu können, wurde mithilfe der Arthro-BST™ Software ein Positionnetz über die Präparate gelegt. Bedingt durch die manuelle Führung waren dennoch kleinere, aber nicht signifikante Abweichungen möglich.(40, 137) Im Bereich der Defektareale wurde ein kleinerer Punktabstand gewählt, um eine höhere Anzahl an

Messungen zu gewinnen, wohingegen der Punktabstand auf der Referenzseite gleichmäßig verteilt war. Um dennoch einen exakten Abgleich der Positionen zu ermöglichen, wurden für die fehlenden Positionen in der Referenzkarte QP_R Mittelwerte aus dem umliegenden Areal berechnet. Dies geschah unter der Annahme, dass sich in gesundem Knorpelgewebe direkt beieinander liegende Bereiche nicht massiv voneinander unterscheiden.

Mithilfe der Referenzwerte QP_R konnte anschließend der DP bestimmt werden, welcher sich aus der Differenz aus gemessenem QP und dem Referenzwert ergab. Postuliert wurde, dass Ersatzknorpel, der genuinem Knorpel ähnelte, einen DP Wert von 0 einnimmt. Da in der vorliegenden Studie die Referenzwerte lediglich von $n=10$ unbehandelten kontralateralen Gelenken erhoben wurden, war es notwendig, die natürliche Variabilität des Normwertes ($DP=0$) zu berechnen. Hierfür wurde der SE an jeder übereinstimmenden Messposition bestimmt. Unter Berücksichtigung eines 95% K.I. ($1,96 \times SE$) resultierte hieraus ein DP zwischen $-1,37$ und $1,37$.(149) Hypothetisch sollte für Ersatzknorpel somit ein DP innerhalb dieser Spannweite als normal gelten. DP Werte $<-1,37$ sollten sehr dünnem und DP Werte $>1,37$ degeneriertem Knorpelgewebe entsprechen.

Im Falle sehr dünnen Knorpels ($<1,5$ mm) kommt nur ein Teil des Arthro-BST™-Indentorkopfes – und somit eine geringere Anzahl an Mikroelektroden – in Kontakt mit der Knorpeloberfläche, wohingegen das gemessene Strömungspotential aufgrund des höheren Anpressdruckes, relativ zu dem dünnen Knorpelbelag, steigt. Das Resultat ist ein niedriger QP *ergo* negativer DP; das bedeutet, dass niedrigere QP und negative DP vor allem dort gemessen werden können, wo die Dicke des Knorpelbelages geringer ist als die Norm, z.B. in Randbereichen von gesundem Gelenkknorpel oder eben auch in Knorpelreparationsarealen.

Die DP Werte des Ersatzknorpels in der vorliegenden Studie – ungeachtet der Behandlungsgruppe – deuteten auf eine unvollständige Defektregeneration hin. Interessanterweise fanden sich bessere DP Werte im Defektrandbereich als im Defektzentrum, was theoretisch bedeuten könnte, dass regenerative Prozesse (auch) vom umgebenden Gewebe und nicht nur vom Zentrum ausgehen könnten, wie bereits durch Moreica et. al beschrieben.(113) Die das ehemalige Defektareal direkt umgebenden Bereiche zeigten erhöhte DP Werte und somit Hinweise auf

degenerative Veränderungen. Da sich aber auch erhöhte DP Werte – und somit ebenfalls Hinweise auf degenerative Veränderungen – in den kontralateralen Kontrollen zeigten, konnte nicht differenziert werden, ob eine mangelhafte Regeneration vorlag, welche zur Degeneration führte, oder ob das Ersatzgewebe degenerativen Prozessen unterlag, welche bereits abliefen. Interessant war zudem, dass sich in den Regionen mit erhöhtem DP außerhalb der Defektareale makroskopisch noch keine Degenerationszeichen fanden. Dies könnte die bereits von Sim et. al. beschriebene Anwendbarkeit in der frühen Detektion von degeneriertem Knorpel bestärken.(137) Hinweise für eine messbedingte Schädigung des Gewebes – wie Druckartefakte oder Kompressionsschäden – durch das Aufsetzen des Arthro-BST™ fanden sich in dieser Studie nicht. Gezielte Untersuchungen diesbezüglich sind bisher jedoch noch nicht durchgeführt worden.

In Zusammenschau unserer Ergebnisse und der verfügbaren Literatur scheint eine elektromechanische Analyse von gesundem, verletztem und auch regeneriertem Knorpel, sowie die Detektion von Frühzeichen degenerativer Veränderungen per Arthro-BST™ möglich.(6, 51, 137)

Histologie

Die histologische Beurteilung bildet weiterhin den Goldstandard in der Bewertung von Knorpelregeneratgewebe. Die Aufarbeitung, Färbung und Auswertung anhand des validierten ICRS II Scores durch mindestens drei geübte Beobachter erfolgte nach den Empfehlungen der ICRS.(55) Zur Beurteilung von Knorpelregenerat wird zum aktuellen Zeitpunkt am häufigsten der ICRS II Score oder der modifizierte O`Driscoll Score (MODS) gewählt. Die Evaluation der Prototypen beider Scores zeigte, dass die Implementierung einer Ordinalskala in einer hohen *intra- und interrater* Variabilität resultiert.(83, 105, 127) Die Modifikationen unter Verwendung einer 100 mm langen visuellen Analogskala führten zu einer verbesserten *intra- und interrater* Korrelation ($r > 0,8$). (83, 127) Unsere Ergebnisse gingen mit ähnlichen Daten einher (Daten nicht gezeigt). Im Gegensatz zum MODS beachtet der ICRS II Score auch die wichtigen Faktoren Zellmorphologie, Gewebestruktur, Vaskularisation und Mineralisation; defizitär ist der ICRS II Score aber in Hinblick auf die laterale Integration des Regenerats und die Defektfüllung, da für den Score lediglich 2 mm kleine Stanzbiopsien aus der Mitte des Defektes vorgesehen sind. Die Überlegung, verschiedene Scores miteinander zu kombinieren, um so eine

größere Auswahl an Kategorien zu erhalten, wurde jedoch aufgrund der Möglichkeit einer Überbetonung einzelner Unterkategorien und fehlender Validierung negativ beschieden.(83, 127)

Makroskopisch waren die ehemaligen Defektregionen vollständig rekonstruiert, jedoch von teils irregulärer und inhomogener Struktur. Diese Beobachtung wurde histologisch bestätigt. Das Ersatzgewebe erzielte – unabhängig von der Behandlungsgruppe – einen signifikant niedrigeren Score als die unbehandelten Gelenkpartner. Der posteriore Defektbereich – mutmaßlich aufgrund postoperativer kompensatorischer Mehrbelastung – zeigte einen signifikant niedrigeren Score als der anteriore. Weiterführende Analysen des Ersatzgewebes demonstrierten entsprechend einen signifikant geringeren dsDNA- und Proteoglykangehalt.(131) Ob es sich dabei um degenerative Veränderungen oder aber eine noch nicht abgeschlossene Gewebereifung handelte, konnte histologisch zwar nicht abschließend geklärt werden; wie von Schagemann et al. jedoch zusammengefasst, scheint ein erhöhter dsDNA Gehalt Zeichen regenerativer Prozesse zu sein und *vice versa*.(130) So war anzunehmen, dass nach mehr als 12 Monaten die induzierten regenerativen Prozesse abgeschlossen gewesen sein sollten und ein entweder reifes oder bereits degeneriertes Regenerat vorlag.(4, 9, 108) Die histologisch gesicherten Veränderungen im Defektbereich *und* im korrespondierenden ipsilateralen medialen Tibiaplateau ließen somit in erster Linie an frühe Knorpeldegeneration denken.(133) Die avisierte Gewebemorphologie konnte somit in Hinblick auf die Fragestellung, die zu diskutierende Technik Arthro-BST™ auf reifen bzw. gealterten Ersatzknorpel anzuwenden, entsprechend histologisch klassifiziert werden.

Dennoch fand sich in den ehemaligen Defektarealen Ersatzgewebe faserknorpeliger oder hyalinartiger – wenn auch degenerierter – Morphologie, was sich aus der Aufsummierung der einzelnen Parameter des ICRS II Scores sowie aus deren Einzelbeurteilung ergab.(83) Anders als im Rahmen intrinsischer Reparatursprozesse fanden sich jedoch durch die Implantate induziert gute Ergebnisse für Zellmorphologie und Matrixfärbung; Hinweise auf entzündliche Prozesse oder heterotope Ossifikationen fanden sich kaum.(22, 84, 96) Die mangelhafte Ausbildung einer Tidemark und die ungenügende basale Integration gaben hingegen

Hinweise auf ein Defizit im Bereich des Knorpel-Knochen-Interface im Defektbereich.(56, 108, 131) Trotz der guten lateralen Integration deuteten diese Ergebnisse abschließend eher auf die Ausbildung von Faserknorpel hin.(56)

Korrelation von Histologie und Arthro-BST™

Sowohl die histologische Begutachtung, das histologische Scoring als auch die elektromechanischen Untersuchungen korrelierten insofern, als dass der Befund einer unvollständigen Regeneration der ehemaligen Defektareale mit einem dünnen, beginnend degenerierten Knorpelbelag erhoben wurde. Beide Modalitäten zeigten in den Subgruppenanalysen signifikant bessere Ergebnisse für Behandlungsgruppe 1 (Daten nicht dargestellt). Eine lineare, statistische Korrelation zwischen den histologischen und elektromechanischen Ergebnissen konnte teilweise nachgewiesen werden. Dabei korrelierte das Ergebnis des ICRS II Scores mit dem DP Wert Defekt Gesamt nach Herausnahme des *Outliers*. Diese Beobachtung korreliert mit den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um M. Buschmann und M. Garon, die eine signifikante Korrelation von QP und Mankin Score bzw. ICRS II Score nachweisen konnten.(137–139) M. Buschmann und M.Garon stellten zusätzlich eine Korrelation mit anderen biomechanischen Untersuchungen aus dem Bereich der „*unconfined compression*“ fest.(1, 137, 138) Die Ergebnisse wurden bisher jedoch nur an gesundem oder degeneriertem Knorpel erhoben, und nicht an Regeneratknorpel, sodass wir mit diesem Ergebnis die Anwendbarkeit von Arthro-BST™ zur Beurteilung von (gealtertem) Regeneratknorpel postulierten. Eine Korrelation zwischen ICRS II Score und DP Wert Defekt Zentrum konnte lediglich unter Beibehalten des *Outliers* gezeigt werden. Ein Grund für das abweichende Ergebnis könnte der Parameter *laterale Integration* gewesen sein, welcher per Arthro-BST™ gut beurteilt werden kann, der allerdings im ICRS II Score keine Berücksichtigung findet. So fanden sich im Vergleich bessere DP Werte in der Peripherie als im Zentrum, was eine relativ gute Integration andeutete.

Ein weiterer Grund könnte die variable und/oder extrem dünne Knorpeldicke, welche durch negative DP Werte dargestellt wurde, gewesen sein. Um diesen Faktor in Relation zu setzen, hätte als Lösungsansatz eine spezifische Dickenmessung in Anlehnung an die *Needle* Technik von Jurvelin et. al. durchgeführt werden können.(51, 70, 137) Die Knorpeldicke ist sicherlich ein wichtiger Faktor für die Auswertung des Regeneratgewebes. Diese hätte

mechanisch oder histologisch bestimmt werden können, wobei eine mechanische Bestimmung meist ein genaueres Ergebnis erzielt, da die Position der elektromechanischen Messung mit der Position der Dickenmessung exakter korreliert werden kann.(70, 137) Eine mechanische Möglichkeit in direktem Anschluss an die elektromechanische Messung war uns mit dem zur Verfügung stehenden Arthro-BST™ System zum damaligen Zeitpunkt jedoch noch nicht möglich. Die an den histologischen Präparaten durchgeführten Dickenmessungen wurden aufgrund der fehlenden Korrelation mit den exakten Messpositionen des Arthro-BST™ verworfen. Interessanterweise fand sich keine Korrelation zwischen ICRS II Score und Arthro-BST™ an den nicht behandelten Arealen der kontralateralen Gelenke. Dies steht ebenfalls im Widerspruch zu den oben erwähnten Ergebnissen von M. Buschmann und M. Garon.(137–139) Ursächlich könnte hier der Unterschied in Lokalisation und die Anzahl der fehlenden Messungen gewesen sein.

Schlussfolgerungen

Eine implantatinduzierte Regeneration artifizierender osteochondraler Defekte mit fibrösem bis hyalinartigem Ersatzknorpel konnte nachgewiesen werden. Histologie und Arthro-BST™ deuten auf eine inkomplette Regeneration bzw. einen dünnen Knorpelbelag hin, sowie auf Frühzeichen degenerativer Veränderungen. Eine statistische Korrelation beider Modalitäten konnte jedoch nur teilweise belegt werden. Als limitierende Faktoren konnten zum einen die geringe Anzahl an Versuchstieren, der prolongierte Beobachtungszeitraum sowie die Auswahl der Kontrollgruppe identifiziert werden. Bezüglich der histologischen Auswertung hatten vor allem die fehlenden Präparate und die *Outlier* Einfluss auf das Gesamtergebnis. In Bezug auf das Arthro-BST™ könnte die fehlende Korrelation mit der Knorpeldicke in das Ergebnis einspielen. Dennoch sind u.E. sowohl der ICRS II Score als auch das Arthro-BST™ auf (gealtertes) Regeneratgewebe im Großtiermodell anwendbar und liefern vergleichbare Ergebnisse. Die elektromechanische Analyse ist im Gegensatz zur Histologie aber nichtdestruktiv. Bei noch ungenügender Korrelation sind die beiden Modalitäten allerdings weiterhin als komplementär anzusehen.

7 Zusammenfassung

Die Messung von Strömungspotentialen ist ein innovativer Ansatz, um die strukturelle und funktionelle Integrität von Regeneratknorpel zu evaluieren. Das Arthro-BST™ ist ein manuell geführtes Instrument, welches kompressionsinduzierten Strömungspotentiale im Gelenkknorpel nichtdestruktiv messen kann. Studien belegen, dass das Arthro-BST™ auf verletzten oder degenerierten Knorpel anwendbar ist und mit histologischen Scores und biomechanischen Eigenschaften des untersuchten Gewebes korreliert. Ein Nachweis für Regeneratknorpel und/oder osteochondrales Gewebe steht aktuell aber noch aus.

Ziel der vorliegenden Studie war daher, die elektromechanische Messmethode Arthro-BST™ auf Ihre Eignung zur Analyse von gealtertem osteochondralen Regeneratknorpel im Großtiermodell zu prüfen. Übergeordnetes Ziel war, diese innovative und noch nicht etablierte Modalität mit dem aktuellen Goldstandard Histologie zu korrelieren. Im Falle einer positiven Korrelation wäre die invasive und destruktive Histologie gegebenenfalls perspektivisch als obsolet zu bezeichnen.

12 adulte Schafe wurden knorpelregenerativen Maßnahme zur Wiederherstellung artifiziell gesetzter osteochondraler Defekte im Kniegelenk unterzogen. Nach 19,5 Monaten wurden die Versuchstiere euthanisiert und histologischen und elektromechanischen Analysen zugeführt. Die Histologie wurde anhand des ICRS II Scores bewertet, die elektromechanischen Eigenschaften per Arthro-BST™ analysiert. Die Daten wurden statistisch ausgewertet, Korrelationsanalysen wurden durchgeführt.

In den ehemaligen Defekten konnte Ersatzgewebe hyalinartiger bis fibröser Morphologie nachgewiesen werden. Histologie und Arthro-BST™ deuten auf eine inkomplette Regeneration beziehungsweise einen dünnen Knorpelbelag hin, sowie auf Frühzeichen degenerativer Veränderungen. Eine statistische Korrelation beider Modalitäten konnte jedoch nur teilweise belegt werden.

Sowohl der ICRS II Score als auch das Arthro-BST™ sind auf Regeneratgewebe im Großtiermodell anwendbar und liefern vergleichbare Ergebnisse. Die elektromechanische Analyse ist im Gegensatz zur Histologie aber nichtdestruktiv. Bei noch ungenügender Korrelation sind die beiden Modalitäten allerdings weiterhin als komplementär anzusehen.

8 Literaturverzeichnis

1. Abedian R, Willbold E, Becher C, Hurschler C. 2013. In vitro electro-mechanical characterization of human knee articular cartilage of different degeneration levels: A comparison with ICRS and Mankin scores. *J. Biomech.* 46(7):1328–34
2. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. 2009. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage.* 17(6):705–13
3. Ahsan T, Sah RL. 1999. Biomechanics of integrative cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 7(1):29–40
4. Aubin PP, Cheah HK, Davis AM, Gross AE. 2001. Long-term followup of fresh femoral osteochondral allografts for posttraumatic knee defects. *Clin. Orthop.*, pp. S318-327
5. Aumüller G, Aust G, Conrad A, Engele J, Kirsch J. 2014. *Duale Reihe Anatomie.* Thieme. 72–76 pp.
6. Becher C, Ricklefs M, Willbold E, Hurschler C, Abedian R. 2016. Electromechanical Assessment of Human Knee Articular Cartilage with Compression-Induced Streaming Potentials. *Cartilage.* 7(1):62–69
7. Behrens P. 2005. Matrixgekoppelte Mikrofrakturierung. *Arthroskopie.* 18(3):193–97
8. Behrens P, Bitter T, Kurz B, Russlies M. 2006. Matrix-associated autologous chondrocyte transplantation/implantation (MACT/MACI)--5-year follow-up. *The Knee.* 13(3):194–202
9. Biant LC, Bentley G, Vijayan S, Skinner JA, Carrington RWJ. 2014. Long-term results of autologous chondrocyte implantation in the knee for chronic chondral and osteochondral defects. *Am. J. Sports Med.* 42(9):2178–83

10. Bittersohl B, Mamisch TC, Welsch GH, Stratmann J, Forst R, et al. 2009. Experimental model to evaluate in vivo and in vitro cartilage MR imaging by means of histological analyses. *Eur. J. Radiol.* 70(3):561–69
11. Bock GR, Goode JA. 2003. *Tissue Engineering of Cartilage and Bone*. John Wiley & Sons. 264 pp.
12. Brama P a. J, Barneveld A, Karssenberg D, Kampen GPJV, Weeren PRV. 2001. The Application of an Indenter System to Measure Structural Properties of Articular Cartilage in the Horse. Suitability of the Instrument and Correlation with Biochemical Data. *J. Vet. Med. Ser. A.* 48(4):213–21
13. Breuseghem IV. 2004. Ultrastructural MR imaging techniques of the knee articular cartilage: problems for routine clinical application. *Eur. Radiol.* 14(2):184–92
14. Brittberg M. 2009. Cell Carriers as the Next Generation of Cell Therapy for Cartilage Repair: A Review of the Matrix-Induced Autologous Chondrocyte Implantation Procedure. *Am. J. Sports Med.*
15. 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(14):889–95
16. Bruns J. 2011. *Tissue Engineering: Neues zum Gewebeersatz im Muskel-Skelett-System*. Springer-Verlag. 260 pp.
17. Bursać PM, Obitz TW, Eisenberg SR, Stamenović D. 1999. Confined and unconfined stress relaxation of cartilage: appropriateness of a transversely isotropic analysis. *J. Biomech.* 32(10):1125–30
18. Buschmann MD, Grodzinsky AJ. 1995. A molecular model of proteoglycan-associated electrostatic forces in cartilage mechanics. *J. Biomech. Eng.* 117(2):179–92

19. Changoor A, Quenneville E, Garon M, Cloutier L, Hurtig M, Buschmann, MD. (2007). Streaming potential-based arthroscopic device discerns topographical differences in cartilage covered and uncovered by meniscus in ovine stifle joints. *Trans Orthop Res Soc.* 32.
20. Changoor A, Couton A, Garon M, Quenneville E, Hurtig MB, Buschmann MD. 2011. Streaming potential-based arthroscopic device is sensitive to cartilage changes immediately post-impact in an equine cartilage injury model. *J. Biomech. Eng.* 133(6):
21. Changoor A, Fereydoonzad L, Yaroshinsky A, Buschmann MD. 2010. Effects of refrigeration and freezing on the electromechanical and biomechanical properties of articular cartilage. *J. Biomech. Eng.* 132(6):064502
22. Chen FS, Frenkel SR, Di Cesare PE. 1999. Repair of articular cartilage defects: part I. Basic Science of cartilage healing. *Am. J. Orthop. Belle Mead NJ.* 28(1):31–33
23. Chu CR, Szczodry M, Bruno S. 2010. Animal Models for Cartilage Regeneration and Repair. *Tissue Eng. Part B Rev.* 16(1):105–15
24. Collins NJ, Misra D, Felson DT, Crossley KM, ROOS EM. 2011. Measures of Knee Function. *Arthritis Care Res.* 63(0 11):S208–28
25. Cook JL, Hung CT, Kuroki K, Stoker AM, Cook CR, et al. 2014. Animal models of cartilage repair. *Bone Jt. Res.* 3(4):89–94
26. Cucchiari M, Henrionnet C, Mainard D, Pinzano A, Madry H. 2015. New trends in articular cartilage repair. *J. Exp. Orthop.* 2:
27. Cucchiari M, Madry H, Guilak F, Saris DB, Stoddart MJ, et al. 2014. A vision on the future of articular cartilage repair. *Eur. Cell. Mater.* 27:12–16
28. Custers RJH, Creemers LB, Verbout AJ, Rijen MHP van, Dhert WJA, Saris DBF. 2007. Reliability, reproducibility and variability of the traditional Histologic/Histochemical Grading System vs the new OARSI Osteoarthritis Cartilage Histopathology Assessment System. *Osteoarthritis Cartilage.* 15(11):1241–48

29. Cutolo M, Berenbaum F, Hochberg M, Punzi L, Reginster J-Y. 2015. Commentary on recent therapeutic guidelines for osteoarthritis. *Semin. Arthritis Rheum.* 44(6):611–17
30. DiBartola AC, Everhart JS, Magnussen RA, Carey JL, Brophy RH, et al. 2016. Correlation between histological outcome and surgical cartilage repair technique in the knee: A meta-analysis. *The Knee.* 23(3):344–49
31. DiSilvestro MR, Zhu Q, Wong M, Jurvelin JS, Suh J-KF. 2001. Biphasic Poroviscoelastic Simulation of the Unconfined Compression of Articular Cartilage: I—Simultaneous Prediction of Reaction Force and Lateral Displacement. *J. Biomech. Eng.* 123(2):191–97
32. El-Amin SF, Attawia M, Lu HH, Shah AK, Chang R, et al. 2002. Integrin expression by human osteoblasts cultured on degradable polymeric materials applicable for tissue engineered bone. *J. Orthop. Res. Off. Publ. Orthop. Res. Soc.* 20(1):20–28
33. Erggelet C, Steinwachs M. 2013. *Gelenkknorpeldefekte*. Springer-Verlag. 231 pp.
34. Fisher AGT. 1939. Synovial Membrane and Articular Cartilage. *Br. Med. J.* 2(4102):390–93
35. Föhr P, Hautmann V, Prodingen P, Pohlig F, Kaddick C, Burgkart R. 2012. Hochdynamisches Prüfsystem zur biomechanischen Charakterisierung von Knorpel und seinen Regeneraten. *Orthop.* 41(10):820–26
36. Frank EH, Grodzinsky AJ. 1987. Cartilage electromechanics--I. Electrokinetic transduction and the effects of electrolyte pH and ionic strength. *J. Biomech.* 20(6):615–27
37. Frisbie DD, Cross MW, McIlwraith CW. 2006. A comparative study of articular cartilage thickness in the stifle of animal species used in human pre-clinical studies compared to articular cartilage thickness in the human knee. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol. VCOT.* 19(3):142–46

38. Ganten D, Ruckpaul K. 2013. *Molekularmedizinische Grundlagen von rheumatischen Erkrankungen*. Springer-Verlag. 406 S.32 p.
39. Garon M. 2007. Conception et Validation d'une Sonde Arthroscopique pour l'Évaluation des Propriétés Électromécanique Fonctionnelles du Cartilage Articulaire. , p. 243
40. Garon M, Légaré A, Guardo R, Savard P, Buschmann MD. 2002. Streaming potentials maps are spatially resolved indicators of amplitude, frequency and ionic strength dependant responses of articular cartilage to load. *J. Biomech.* 35(2):207–16
41. Giannoni P, Cancedda R. 2006. Articular Chondrocyte Culturing for Cell-Based Cartilage Repair: Needs and Perspectives. *Cells Tissues Organs.* 184(1):1–15
42. Gill TJ, Mcculloch PC, Glasson SS, Blanchet T, Morris EA. 2005. Chondral Defect Repair after the Microfracture Procedure: A Nonhuman Primate Model. *Am. J. Sports Med.* 33(5):680–85
43. Gille J, Möckel G, Bark S, Behrens P. 2012. Novel cartilage repair strategies- The AMIC technique. *J Orthop.* 4:99–104
44. Gille J, Schuseil E, Wimmer J, Gellissen J, Schulz AP, Behrens P. 2010. Mid-term results of Autologous Matrix-Induced Chondrogenesis for treatment of focal cartilage defects in the knee. *Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc.* 18(11):1456–64
45. Goebel L, Orth P, Cucchiari M, Pape D, Madry H. 2017. Macroscopic cartilage repair scoring of defect fill, integration and total points correlate with corresponding items in histological scoring systems – a study in adult sheep. *Osteoarthritis Cartilage.* 25(4):581–88
46. Goebel L, Orth P, Müller A, Zurakowski D, Bücken A, et al. 2012. Experimental scoring systems for macroscopic articular cartilage repair correlate with the MOCART score assessed by a high-field MRI at 9.4 T – comparative evaluation of five macroscopic scoring systems in a large animal cartilage defect model. *Osteoarthritis Cartilage.* 20(9):1046–55

47. Goebel L, Zurakowski D, Müller A, Pape D, Cucchiarini M, Madry H. 2014. 2D and 3D MOCART scoring systems assessed by 9.4 T high-field MRI correlate with elementary and complex histological scoring systems in a translational model of osteochondral repair. *Osteoarthritis Cartilage*. 22(10):1386–95
48. Gomoll AH, Probst C, Farr J, Cole BJ, Minas T. 2009. Use of a Type I/III Bilayer Collagen Membrane Decreases Reoperation Rates for Symptomatic Hypertrophy after Autologous Chondrocyte Implantation: *Am. J. Sports Med*.
49. Greco NJ, Anderson AF, Mann BJ, Cole BJ, Farr J, et al. 2010. Responsiveness of the International Knee Documentation Committee Subjective Knee Form in comparison to the Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, modified Cincinnati Knee Rating System, and Short Form 36 in patients with focal articular cartilage defects. *Am. J. Sports Med*. 38(5):891–902
50. Guilak F, Fermor B, Keefe FJ, Kraus VB, Olson SA, et al. 2004. The role of biomechanics and inflammation in cartilage injury and repair. *Clin. Orthop.*, pp. 17–26
51. Hadjab I, Sim S, Karhula SS, Kauppinen S, Garon M, et al. 2018. Electromechanical properties of human osteoarthritic and asymptomatic articular cartilage are sensitive and early detectors of degeneration. *Osteoarthritis Cartilage*. 26(3):405–13
52. Harris JD, Frank RM, McCormick FM, Cole BJ. 2014. Minced Cartilage Techniques. *Oper. Tech. Orthop*. 24(1):27–34
53. Hepp P, Bader A, Josten C, Rose T, Schulz R. 2005. Tissue engineering von Knorpelzellen. *Arthroskopie*. 18(3):233–38
54. Hiligsmann M, Cooper C, Guillemin F, Hochberg MC, Tugwell P, et al. 2014. A reference case for economic evaluations in osteoarthritis: An expert consensus article from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Semin. Arthritis Rheum*. 44(3):271–82

55. Hoemann C, Kandel R, Roberts S, Saris DBF, Creemers L, et al. 2011. International Cartilage Repair Society (ICRS) Recommended Guidelines for Histological Endpoints for Cartilage Repair Studies in Animal Models and Clinical Trials. *CARTILAGE*. 2(2):153–72
56. Hoemann CD, Lafantaisie-Favreau C-H, Lascau-Coman V, Chen G, Guzmán-Morales J. 2012. The cartilage-bone interface. *J. Knee Surg.* 25(2):85–97
57. Hoemann CD, Sun J, Chrzanowski V, Buschmann MD. 2002. A Multivalent Assay to Detect Glycosaminoglycan, Protein, Collagen, RNA, and DNA Content in Milligram Samples of Cartilage or Hydrogel-Based Repair Cartilage. *Anal. Biochem.* 300(1):1–10
58. https://www.tf.uni-kiel.de/matwis/amat/mw1_ge/kap_7/illustr/t7_1_2.html
Elastizitätsmodul in Zahlen. www.tf.uni-kiel.de (letzter Zugriff 7.6.2021 20:00 Uhr)
59. Hunter W. 1742. *Of the Structure and Diseases of Articulating Cartilages, by William Hunter, Surgeon.* Philosophical Transactions (1683-1775). 9 pp.
60. Hunziker EB. 2002. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. A review of the current status and prospects. *Osteoarthritis Cartilage*. 10(6):432–63
61. Hurschler C, Abedian R. 2013. Möglichkeiten der biomechanischen Charakterisierung von Knorpelgewebe. *Orthop.* 42(4):232–41
62. Hurtig MB, Buschmann MD, Fortier LA, Hoemann CD, Hunziker EB, et al. 2011. Preclinical Studies for Cartilage Repair. *Cartilage*. 2(2):137–52
63. Hüter-Becker A. 2005. *Biomechanik, Bewegungslehre, Leistungsphysiologie, Trainingslehre.* Georg Thieme Verlag. 342 pp.
64. Imhof H, Nöbauer-Huhmann I-M, Krestan C, Gahleitner A, Sulzbacher I, et al. 2002. MRI of the cartilage. *Eur. Radiol.* 12(11):2781–93
65. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. 2001. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study. *J. Bone Joint Surg. Am.* 83-A(1):53–64

66. Johnstone B, Alini M, Cucchiarini M, Dodge GR, Eglin D, et al. 2013. Tissue engineering for articular cartilage repair--the state of the art. *Eur. Cell. Mater.* 25:248–67
67. Jungmann PM, Baum T, Bauer JS, Karampinos DC, Erdle B, et al. 2014. Cartilage Repair Surgery: Outcome Evaluation by Using Noninvasive Cartilage Biomarkers Based on Quantitative MRI Techniques? *BioMed Res. Int.* 2014:
68. Junqueira LC, Carneiro J. 2013. *Histologie: Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Unter Berücksichtigung der Histophysiologie.* Springer-Verlag. 769 pp.
69. Jurvelin JS, Buschmann MD, Hunziker EB. 2003. Mechanical anisotropy of the human knee articular cartilage in compression. *Proc. Inst. Mech. Eng. [H].* 217(3):215–19
70. Jurvelin JS, Räsänen T, Kolmonens P, Lyyra T. 1995. Comparison of optical, needle probe and ultrasonic techniques for the measurement of articular cartilage thickness. *J. Biomech.* 28(2):231–35
71. Kessler MW, Grande DA. 2008. Tissue engineering and cartilage. *Organogenesis.* 4(1):28–32
72. Koeller W, Kunow J, Ostermeyer O, Stomberg P, Boos C, Russlies M. 2008. A simple measuring device for laboratory indentation tests on cartilage / Eine einfache Prüfvorrichtung für Indentationsversuche am Knorpel. *Biomed. Tech. Eng.* 53(2):59–64
73. Krase A, Steck E, Roth W, Richter W. 2013. Biomechanik von Knorpel-Tissue-Engineering-Konstrukten. *Orthop.* 42(4):262–70
74. Légaré A, Garon M, Guardo R, Savard P, Poole AR, Buschmann MD. 2002. Detection and analysis of cartilage degeneration by spatially resolved streaming potentials. *J. Orthop. Res.* 20(4):819–26

75. L'Hermette MF, Tourny-Chollet C, Polle G, Dujardin FH. 2006. Articular Cartilage, Degenerative Process, and Repair: Current Progress. *Int. J. Sports Med.* 27(9):738–44
76. Linn FC, Sokoloff L. 1965. Movement and composition of interstitial fluid of cartilage. *Arthritis Rheum.* 8(4):481–94
77. Little CB, Smith MM, Cake MA, Read RA, Murphy MJ, Barry FP. 2010. The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in sheep and goats. *Osteoarthritis Cartilage.* 18:S80–92
78. Loeser RF. 2013. Osteoarthritis Year in Review 2013: Biology. *Osteoarthr. Cartil. OARS Osteoarthr. Res. Soc.* 21(10):1436–42
79. Lüllmann-Rauch R. 2009. *Histologie.* Georg Thieme Verlag. 668;138 p.
80. Lysholm J, Gillquist J. 1982. Evaluation of knee ligament surgery results with special emphasis on use of a scoring scale. *Am. J. Sports Med.* 10(3):150–54
81. Lyyra-Laitinen T, Niinimäki M, Töyräs J, Lindgren R, Kiviranta I, Jurvelin JS. 1999. Optimization of the arthroscopic indentation instrument for the measurement of thin cartilage stiffness. *Phys. Med. Biol.* 44(10):2511–24
82. Magnussen RA, Dunn WR, Carey JL, Spindler KP. 2008. Treatment of Focal Articular Cartilage Defects in the Knee. *Clin. Orthop.* 466(4):952–62
83. Mainil-Varlet P, Van Damme B, Nestic D, Knutsen G, Kandel R, Roberts S. 2010. A New Histology Scoring System for the Assessment of the Quality of Human Cartilage Repair: ICRS II. *Am. J. Sports Med.* 38(5):880–90
84. Mankin HJ. 1982. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J. Bone Joint Surg. Am.* 64(3):460–66
85. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. 1971. Biochemical and Metabolic Abnormalities in Articular Cartilage from Osteo-Arthritic Human Hips: II. CORRELATION OF MORPHOLOGY WITH BIOCHEMICAL AND METABOLIC DATA. *JBJS.* 53(3):523–37

86. Mansour JM, Welter JF. 2013. Multimodal evaluation of tissue-engineered cartilage. *J. Med. Biol. Eng.* 33(1):1–16
87. Mardones R, Jofré CM, Minguell JJ. 2015. Cell Therapy and Tissue Engineering Approaches for Cartilage Repair and/or Regeneration. *Int. J. Stem Cells.* 8(1):48–53
88. Marlovits S, Striessnig G, Resinger CT, Aldrian SM, Vecsei V, et al. 2004. Definition of pertinent parameters for the evaluation of articular cartilage repair tissue with high-resolution magnetic resonance imaging. *Eur. J. Radiol.* 52(3):310–19
89. Marlovits S, Vécsei V. 2000. Möglichkeiten zur chirurgischen Therapie von Knorpeldefekten — Teil 2: Chirurgische Behandlungsoptionen zur biologischen Knorpelreparatur. *Acta Chir. Austriaca.* 32(4):185–94
90. Maroudas A. 1968. Physicochemical Properties of Cartilage in the Light of Ion Exchange Theory. *Biophys. J.* 8(5):575–95
91. Maroudas A, Muir H, Wingham J. 1969. The correlation of fixed negative charge with glycosaminoglycan content of human articular cartilage. *Biochim. Biophys. Acta.* 177(3):
92. Martel-Pelletier J, Boileau C, Pelletier J-P, Roughley PJ. 2008. Cartilage in normal and osteoarthritis conditions. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 22(2):351–84
93. Martini L, Fini M, Giavaresi G, Giardino R. 2001. Sheep Model in Orthopedic Research: A Literature Review. *Comp. Med.* 51(4):8
94. McCarthy HS, McCall IW, Williams JM, Mennan C, Dugard MN, et al. 2018. Magnetic Resonance Imaging Parameters at 1 Year Correlate With Clinical Outcomes Up to 17 Years After Autologous Chondrocyte Implantation. *Orthop. J. Sports Med.* 6(8):
95. McMahon LA, O'Brien FJ, Prendergast PJ. 2008. Biomechanics and mechanobiology in osteochondral tissues. *Regen. Med.* 3(5):743–59

96. Meachim G, Roberts C. 1971. Repair of the joint surface from subarticular tissue in the rabbit knee. *J. Anat.* 109(Pt 2):317–27
97. Meng X, Ziadlou R, Grad S, Alini M, Wen C, et al. 2020. Animal Models of Osteochondral Defect for Testing Biomaterials. *Biochem. Res. Int.* 2020:
98. Mithoefer K, Saris DBF, Farr J, Kon E, Zaslav K, et al. 2011. Guidelines for the Design and Conduct of Clinical Studies in Knee Articular Cartilage Repair. *Cartilage.* 2(2):100–121
99. Mow VC, Kuei SC, Lai WM, Armstrong CG. 1980. Biphasic Creep and Stress Relaxation of Articular Cartilage in Compression: Theory and Experiments. *J. Biomech. Eng.* 102(1):73–84
100. Mrosek EH, Chung H-W, Fitzsimmons JS, O'Driscoll SW, Reinholz GG, Schagemann JC. 2016. Porous tantalum biocomposites for osteochondral defect repair. *Bone Jt. Res.* 5(9):403–11
101. Müller-Hilke PDr rer. nat. B. 2007 *Zur Pathogenese der Arthrose – eine Momentaufnahme*. Zeitschrift für Rheumatologie Ausg.8/2007, <https://www.springermedizin.de> (letzter Zugriff 20.10.2020)
102. Mustafy T, Londono I, Villemure I. 2018. Can the contralateral limb be used as a control during the growing period in a rodent model? *Med. Eng. Phys.* 58:31–40
103. Nehrer S, Vavken P, Dorotka R, Kotz R. 2005. Matrixassoziierte Chondrozytentransplantation — Biomaterialien in der Knorpelzelltransplantation. *Arthroskopie.* 18(3):203–8
104. Niemeyer P, Fritz J, Albrecht D. 2016. *Knorpeltherapie: Praxisleitfaden der AG Klinische Geweberegeneration der DGOU*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG. 380 pp.

105. O'Driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. 1986. The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *J. Bone Joint Surg. Am.* 68(7):1017–35
106. O'Driscoll SW, Marx RG, Beaton DE, Miura Y, Gallay SH, Fitzsimmons JS. 2001. Validation of a Simple Histological-Histochemical Cartilage Scoring System. *Tissue Eng.* 7(3):313–20
107. Ogston Alex. 1875. On Articular Cartilage. *J. Anat. Physiol.* 10(Pt 1):48.1-74
108. Oliveira JM, Pina S, Reis RL, Roman JS. 2018. *Osteochondral Tissue Engineering: Challenges, Current Strategies, and Technological Advances.* Springer. 503 pp.
109. Orth P, Zurakowski D, Wincheringer D, Madry H. 2011. Reliability, Reproducibility, and Validation of Five Major Histological Scoring Systems for Experimental Articular Cartilage Repair in the Rabbit Model. *Tissue Eng. Part C Methods.* 18:329–39
110. Ostergaard K, Andersen C, Petersen J, Bendtzen K, Salter D. 1999. Validity of histopathological grading of articular cartilage from osteoarthritic knee joints. *Ann. Rheum. Dis.* 58(4):208–13
111. Ostergaard K, Petersen J, Andersen CB, Bendtzen K, Salter DM. 1997. Histologic/histochemical grading system for osteoarthritic articular cartilage. Reproducibility and validity. *Arthritis Rheum.* 40(10):1766–71
112. Özmeriç A, Alemdaroğlu KB, Aydoğan NH. 2014. Treatment for cartilage injuries of the knee with a new treatment algorithm. *World J. Orthop.* 5(5):677–84
113. Pabbruwe MB, Esfandiari E, Kafienah W, Tarlton JF, Hollander AP. 2009. Induction of cartilage integration by a chondrocyte/collagen-scaffold implant. *Biomaterials.* 30(26):4277–86

114. Park S, Hung CT, Ateshian GA. 2004. Mechanical response of bovine articular cartilage under dynamic unconfined compression loading at physiological stress levels. *Osteoarthritis Cartilage*. 12(1):65–73
115. Pässler HH. 2000. [Microfracture for treatment of cartilage defects]. *Zentralbl. Chir.* 125(6):500–504
116. Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Lavery S. 2001. Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clin. Orthop.*, pp. S26-33
117. Pritzker KPH, Gay S, Jimenez SA, Ostergaard K, Pelletier J-P, et al. 2006. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*. 14(1):13–29
118. Recht M, Bobic V, Burstein D, Disler D, Gold G, et al. 2001. Magnetic Resonance Imaging of Articular Cartilage. *Clin. Orthop.* 391:
119. Reinholz GG, Lu L, Saris DBF, Yaszemski MJ, O'Driscoll SW. 2004. Animal models for cartilage reconstruction. *Biomaterials*. 25(9):1511–21
120. Roberts S, McCall IW, Darby AJ, Menage J, Evans H, et al. 2003. Autologous chondrocyte implantation for cartilage repair: monitoring its success by magnetic resonance imaging and histology. *Arthritis Res. Ther.* 5(1):R60–73
121. Rohen JW, Lütjen-Drecoll E. 2006. *Funktionelle Anatomie des Menschen: Lehrbuch der makroskopischen Anatomie nach funktionellen Gesichtspunkten*. Schattauer Verlag. 420 pp.
122. Roos EM. *Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score, Ewa Roos*. <https://www.koos.nu> (letzter Zugriff 20.10.2020)
123. Roos EM, Engelhart L, Ranstam J, Anderson AF, Irrgang JJ, et al. 2011. ICRS Recommendation Document. *Cartilage*. 2(2):122–36
124. Roos EM, Toksvig-Larsen S. 2003. Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) – validation and comparison to the WOMAC in total knee replacement. *Health Qual. Life Outcomes*. 1:17

125. Ross MH, Pawlina W. 2006. *Histology : a text and atlas*. Lippincott Williams & Wilkins. Fifth Edition ed.
126. Russell W, Burch R. 1959. *The Principles of Humane Experimental Technique* 1pp.
127. Rutgers M, van Pelt MJP, Dhert WJA, Creemers LB, Saris DBF. 2010. Evaluation of histological scoring systems for tissue-engineered, repaired and osteoarthritic cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 18(1):12–23
128. Salzmann G, Ossendorff R, Gilat R, Cole B. 2020. Autologous Minced Cartilage Implantation for Treatment of Chondral and Osteochondral Lesions in the Knee Joint: An Overview. *CARTILAGE*
129. Saxena A. 2005. Tissue engineering: Present concepts and strategies. *J. Indian Assoc. Pediatr. Surg.* 10(1):14
130. Schagemann JC, Erggelet C, Chung H-W, Lahm A, Kurz H, Mrosek EH. 2008. Cell-Laden and Cell-Free Biopolymer Hydrogel for the Treatment of Osteochondral Defects in a Sheep Model. *Tissue Eng. Part A*. 15(1):75–82
131. Schagemann JC, Rudert N-P, Taylor ME, Sim S, Quenneville E, et al. 2016. Bilayer Implants: Electromechanical Assessment of Regenerated Articular Cartilage in a Sheep Model. *Cartilage*. 7(4):346–60
132. Schinhan M, Gruber M, Vavken P, Dorotka R, Samouh L, et al. 2012. Critical-size defect induces unicompartamental osteoarthritis in a stable ovine knee. *J. Orthop. Res.* 30(2):214–20
133. Schlichting K, Schell H, Kleemann RU, Schill A, Weiler A, et al. 2008. Influence of scaffold stiffness on subchondral bone and subsequent cartilage regeneration in an ovine model of osteochondral defect healing. *Am. J. Sports Med.* 36(12):2379–91
134. Schreiner MM, Raudner M, Marlovits S, Bohndorf K, Weber M, et al. 2019. The MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue) 2.0 Knee Score and Atlas. *CARTILAGE*, 2019 Aug 17: 1947603519865308

135. Shao XX, Goh JCH, Hutmacher DW, Lee EH, Zigang G. 2006. Repair of large articular osteochondral defects using hybrid scaffolds and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model. *Tissue Eng.* 12(6):
136. Shao XX, Hutmacher DW, Ho ST, Goh JCH, Lee EH. 2006. Evaluation of a hybrid scaffold/cell construct in repair of high-load-bearing osteochondral defects in rabbits. *Biomaterials.* 27(7):1071–80
137. Sim S, Chevrier A, Garon M, Quenneville E, Lavigne P, et al. 2017. Electromechanical probe and automated indentation maps are sensitive techniques in assessing early degenerated human articular cartilage. *J. Orthop. Res.* 35(4):858–67
138. Sim S, Chevrier A, Garon M, Quenneville E, Yaroshinsky A, et al. 2014. Non-destructive electromechanical assessment (Arthro-BST) of human articular cartilage correlates with histological scores and biomechanical properties. *Osteoarthritis Cartilage.* 22(11):1926–35
139. Sim S, Hadjab I, Garon M, Quenneville E, Lavigne P, Buschmann MD. 2017. Development of an Electromechanical Grade to Assess Human Knee Articular Cartilage Quality. *Ann. Biomed. Eng.* 45(10):2410–21
140. Strangeways TSP. 1920. Observations On The Nutrition Of Articular Cartilage. *Br. Med. J.* 1(3098):661–63
141. Sun MM-G, Beier F, Pest MA. 2017. Recent developments in emerging therapeutic targets of osteoarthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 29(1):96–102
142. Svensson L, Oldberg Å, Heinegård D. 2001. Collagen binding proteins. *Osteoarthritis Cartilage.* 9:23–28
143. Tegner Y, Lysholm J. 1985. Rating systems in the evaluation of knee ligament injuries. *Clin. Orthop.*, pp. 43–49
144. Trattinig S, Millington SA, Szomolanyi P, Marlovits S. 2007. MR imaging of osteochondral grafts and autologous chondrocyte implantation. *Eur. Radiol.* 17(1):103–18

145. Trattnig S, Winalski CS, Marlovits S, Jurvelin JS, Welsch GH, Potter HG. 2011. Magnetic Resonance Imaging of Cartilage Repair. *Cartilage*. 2(1):5–26
146. van den Borne MPJ, Raijmakers NJH, Vanlauwe J, Victor J, de Jong SN, et al. 2007. International Cartilage Repair Society (ICRS) and Oswestry macroscopic cartilage evaluation scores validated for use in Autologous Chondrocyte Implantation (ACI) and microfracture. *Osteoarthritis Cartilage*. 15(12):1397–1402
147. van der Meijden OA., Gaskill, TR., Millett, PJ (2012). Glenohumeral joint preservation: a review of management options for young, active patients with osteoarthritis. *Advances in orthopedics*, 2012, 160923. <https://doi.org/10.1155/2012/160923>
148. Vasiliadis HS, Wasiak J. 2010. Autologous chondrocyte implantation for full thickness articular cartilage defects of the knee. *Cochrane Database Syst. Rev.* 1pp
149. Vavken P, Heinrich K, Koppelhuber C, Rois S, Dorotka R. 2009. The use of confidence intervals in reporting orthopaedic research findings. *Clin. Orthop.* 467(12):3334–39
150. Verstraete KL, Almqvist F, Verdonk P, Vanderschueren G, Huysse W, et al. 2004. Magnetic resonance imaging of cartilage and cartilage repair. *Clin. Radiol.* 59(8):674–89
151. Wang X, Grogan SP, Rieser F, Winkelmann V, Maquet V, et al. 2004. Tissue engineering of biphasic cartilage constructs using various biodegradable scaffolds: an in vitro study. *Biomaterials*. 25(17):3681–88
152. Welsch GH, Zak L, Mamisch TC, Paul D, Lauer L, et al. 2011. Advanced morphological 3D magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (MOCART) scoring using a new isotropic 3D proton-density, turbo spin echo sequence with variable flip angle distribution (PD-SPACE) compared to an isotropic 3D steady-stat. *J. Magn. Reson. Imaging*. 33(1):180–88

153. Welsch GH, Zak L, Mamisch TC, Resinger C, Marlovits S, Trattnig S. 2009. Three-Dimensional Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue (MOCART) Score Assessed With an Isotropic Three-Dimensional True Fast Imaging With Steady-State Precession Sequence at 3.0 Tesla: *Invest. Radiol.* 44(9):603–12
154. Welsch GH, Zak L, Mamisch TC, Resinger C, Marlovits S, Trattnig S. Three-dimensional magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (3D MOCART) score assessed with an isotropic 3D-True-FISP sequence at 3.0 Tesla., p. 1
155. Williams RJ, Harnly HW. 2007. Microfracture: indications, technique, and results. *Instr. Course Lect.* 56:419–28
156. Xing D, Chen J, Yang J, Heng BC, Ge Z, Lin J. 2016. Perspectives on Animal Models Utilized for the Research and Development of Regenerative Therapies for Articular Cartilage. *Curr. Mol. Biol. Rep.* 2(2):90–100
157. Zilles K, Tillmann BN. 2011. *Anatomie*. Springer-Verlag. 1025 pp.

9 Anhang

9.1 Tabellen

Schaf	DP Behandlungsgruppe 1			Schaf	DP Behandlungsgruppe 2		
	Gesamt	Zentrum	Peripherie		Gesamt	Zentrum	Peripherie
2	-1,3 ± 4,0 n=55	-3,0 ± 3,7 n=20	-0,4 ± 3,9 n=35	7	-2,2 ± 2,2 n=62	-3,3 ± 2,0 n=26	-1,4 ± 2,0 n=36
3	-1,3 ± 2,7 n=46	-2,0 ± 2,3 n=20	-0,8 ± 2,8 n=26	8	-1,5 ± 1,7 n=42	-1,7 ± 2,0 n=20	-1,3 ± 1,4 n=22
4	-1,6 ± 1,8 n=72	-1,6 ± 1,8 n=34	-1,5 ± 1,9 n=38	9	-2,0 ± 2,7 n=59	-3,9 ± 2,5 n=23	-0,8 ± 2,2 n=36
5	-1,9 ± 1,9 n=42	-2,7 ± 1,8 n=19	-1,2 ± 1,8 n=23	10	-5,0 ± 2,9 n=47	-6,9 ± 1,5 n=21	-3,5 ± 2,9 n=26
6	-1,4 ± 3,5 n=51	-2,5 ± 4,1 n=21	-0,6 ± 2,8 n=30	12	-2,4 ± 2,3 n=45	-3,7 ± 2,1 n=21	-1,2 ± 1,8 n=24
Gesamt	-1,5 ± 2,9 n=266	-2,3 ± 2,7 n=114	-0,9 ± 2,8 n=152	Gesamt	-2,6 ± 2,7 n=255	-3,9 ± 2,6 n=111	-1,6 ± 2,3 n=144

Tabelle 1 Ergebnis der elektromechanischen Messung Arthro-BST™ im Defektareal. Angegeben sind DP Werte ± SD mit Unterteilung in gesamter Defekt (Gesamt), Defektzentrum (Zentrum) und Peripherie des Defektes (Peripherie).

Schaf	DP Wert Arthro-BST™			
	L-LFC	L-MFC	R-LFC	R-MFC
2	1,4 ± 1,0, n=210	2,5 ± 2,2, n=237	1,3 ± 1,1, n=27	2,0 ± 1,3, n=34
3	1,4 ± 1,1, n=215	2,5 ± 2,1, n=240	0,8 ± 0,6, n=32	1,7 ± 1,4, n=31
4	N/A	1,9 ± 1,4, n=212	1,8 ± 1,2, n=30	1,6 ± 1,2, n=34
5	1,4 ± 1,0, n=226	2,7 ± 2,1, n=246	0,8 ± 0,6, n=30	1,7 ± 1,5, n=35
6	4,3 ± 3,1, n=216	3,1 ± 2,2, n=253	0,9 ± 0,7, n=34	1,6 ± 1,5, n=39
Behandlungsgruppe 1	2,1 ± 2,2, n=867	2,5 ± 2,1, n=1188	1,1 ± 0,9, n=153	1,7 ± 1,4, n=173
7	N/A	2,0 ± 1,5, n=244	N/A	1,4 ± 1,3, n=31
8	1,1 ± 1,0, n=196	3,4 ± 3,0, n=255	1,0 ± 0,7, n=31	1,1 ± 0,8, n=32
9	N/A	3,8 ± 2,6, n=252	N/A	1,7 ± 1,3, n=30
10	N/A	2,3 ± 2,2, n=239	N/A	1,5 ± 1,1, n=49
12	N/A	2,8 ± 1,9, n=229	N/A	1,7 ± 1,2, n=30
Behandlungsgruppe 2	1,1 ± 1,0, n=196	2,9 ± 2,4, n=1215	1,0 ± 0,7, n=31	1,5 ± 1,2, n=172
Gesamt	1,9 ± 2,1, n=1063	2,7 ± 2,3, n=2407	1,1 ± 0,9, n=184	1,6 ± 1,3, n=345

Tabelle 2 Tabellarische Darstellung der DP Werte (Arthro-BST™) über die gesamte Gelenkfläche (Mittelwert ± SD; L-LFC: linke laterale Femurkondyle, L-MFC: linke mediale Femurkondyle (inklusive Defektzone), R-LFC: rechte laterale Femurkondyle, R-MFC: rechte mediale Femurkondyle).

Gruppe	Schaf	Scorer	L-MFC ant.	L-MFC med.	L-MFC post.	L-MTP	R-MTP	R-MFC
1	1	1	9,29	9,53	9,48	13,06	N/A	13,51
1	1	2	9,72	10,00	8,18	12,61	N/A	13,6
1	1	3	8,88	8,79	8,85	12,91	N/A	13,57
1	2	1	10,42	11,15	10,16	13,10	13,50	13,91
1	2	2	9,00	8,82	11,09	13,57	13,31	13,41
1	2	3	9,50	8,13	8,67	12,66	13,75	14,00
1	3	1	N/A	12,40	11,71	12,63	13,34	13,16
1	3	2	N/A	12,13	10,33	11,22	13,24	13,49
1	3	3	N/A	11,26	11,16	12,54	13,23	12,61
1	4	1	N/A	10,99	9,18	5,90	13,56	13,79
1	4	2	N/A	10,29	9,99	6,56	13,62	13,62
1	4	3	N/A	8,18	9,37	5,51	13,28	13,63
1	5	1	12,16	11,91	12,07	13,42	13,42	13,96
1	5	2	10,84	11,27	12,18	13,58	13,36	13,85
1	5	3	10,86	9,68	9,60	12,62	12,57	14,00
1	6	1	13,12	13,37	12,28	13,53	13,80	13,76
1	6	2	12,03	12,07	10,91	13,54	13,80	13,40
1	6	3	9,03	7,32	5,71	13,61	13,59	13,81

Tabelle 3 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse des ICRS II Scorings. Dargestellt sind die Mittelwerte der jeweiligen Scorer je Präparat der Behandlungsgruppe 1. L-MFC anterior von Schaf 3 und 4 sowie R-MTP von Schaf 1 standen nicht zum Scoring zur Verfügung (N/A).

Gruppe	Schaf	Scorer	L-MFC ant.	L-MFC med.	L-MFC post.	L-MTP	R-MTP	R-MFC
2	7	1	12,30	10,39	4,65	13,79	13,49	13,68
2	7	2	12,28	7,81	6,00	13,85	13,57	13,53
2	7	3	7,92	8,30	5,48	13,69	12,97	13,58
2	8	1	11,49	10,36	7,03	13,63	12,94	13,62
2	8	2	12,85	9,24	9,73	13,84	13,17	14,00
2	8	3	10,55	6,63	5,51	13,63	11,13	13,35
2	9	1	10,40	9,41	10,55	13,16	13,55	13,75
2	9	2	6,74	9,69	6,42	13,38	13,41	13,55
2	9	3	4,91	6,39	5,70	12,98	12,23	12,53
2	10	1	11,84	11,72	4,93	13,56	13,32	13,97
2	10	2	10,55	3,95	4,12	13,71	13,59	13,70
2	10	3	10,51	6,30	5,10	13,65	13,51	13,85
2	11	1	6,65	5,30	8,10	12,35	N/A	12,71
2	11	2	9,45	10,65	11,29	13,29	N/A	13,01
2	11	3	6,68	8,53	9,69	10,50	N/A	10,37
2	12	1	12,31	5,59	3,26	13,42	13,55	13,69
2	12	2	11,92	5,15	5,64	13,56	13,49	13,74
2	12	3	10,44	4,95	4,93	13,21	12,58	13,66

Tabelle 4 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse des ICRS II Scorings. Dargestellt sind die Mittelwerte der jeweiligen Scorer je Präparat der Behandlungsgruppe 2. R-MTP von Schaf 11 stand nicht zum Scoring zur Verfügung (N/A).

Schaf	L-MFC ant.	L-MFC med.	L-MFC post.	L-MFC ges.	L-MTP	R-MTP	R-MFC
1	9,3	9,44	8,84	9,19	12,86	N/A	13,56
2	9,64	9,37	9,97	9,66	13,11	13,52	13,77
3	N/A	11,93	11,07	11,5	12,13	13,27	13,09
4	N/A	9,82	9,51	9,67	5,99	13,49	13,68
5	11,29	10,95	11,28	11,17	13,21	13,12	13,94
6	11,39	10,92	9,63	10,65	13,56	13,73	13,66
7	10,83	8,83	5,38	8,35	13,78	13,34	13,6
8	11,63	8,74	7,42	9,26	13,7	12,41	13,66
9	7,35	8,5	7,56	7,8	13,17	13,06	13,28
10	10,97	7,32	4,72	7,67	13,64	13,47	13,84
11	7,59	8,16	9,69	8,48	12,05	N/A	12,03
12	11,56	5,23	4,61	7,13	13,4	13,21	13,7

Tabelle 5 Tabellarische Darstellung des histologischen ICRS II Scorings ohne Subgruppenunterteilung nach Mittelung der Untersuchungsergebnisse in den einzelnen Regionen. L-MFC anterior von Schaf 3 und 4 sowie R-MTP von Schaf 1 und 11 standen nicht zum Scoring zur Verfügung (N/A).

Kategorie ICRS II	ICRS II Score L-MFC		
	Gesamt	Behandlungsgruppe 1	Behandlungsgruppe 2
1	0,65	0,73	0,58
2	0,68	0,71	0,66
3	0,73	0,85	0,62
4	0,59	0,60	0,58
5	0,61	0,63	0,59
6	0,58	0,71	0,47
7	0,47	0,62	0,34
8	0,64	0,69	0,60
9	0,91	0,98	0,85
10	0,68	0,79	0,57
11	0,77	0,91	0,65
12	0,63	0,69	0,59
13	0,58	0,68	0,49
14	0,60	0,68	0,53

Tabelle 6 Tabellarische Darstellung des gemittelten und nach Behandlungsgruppe unterschiedenen ICRS II Score für L-MFC je nach Kategorie mit einem maximalen Score von 1 in jeder Kategorie.

Schaf	ICRS II Mittelwert L-MFC	DP Defekt Zentrum	DP Defekt Gesamt
1	9,19	N/A	N/A
2	9,66	3	1,3
3	11,5	2	1,3
4	9,67	1,6	1,6
5	11,17	2,7	1,9
6	10,65	2,5	1,4
7	8,35	3,3	2,2
8	9,27	1,7	1,5
9	7,8	3,9	2
10	7,67	6,9	5
11	8,48	N/A	N/A
12	7,13	3,7	2,4

Tabelle 7 Gegenüberstellung der Mittelwerte der histologischen Ergebnisse des ICRS II Scorings und der elektromechanischen Ergebnisse Arthro-BST™ als Gesamtergebnis der Defektregion je Schaf. DP Wert wird nach Region Defekt Zentrum und Defekt Gesamt unterschieden.

Schaf	ICRS II- Mittelwert R-MFC	DP Wert R-MFC
1	13,56	N/A
2	13,77	2,00
3	13,09	1,70
4	13,68	1,60
5	13,94	1,70
6	13,66	1,60
7	13,60	1,40
8	13,66	1,10
9	13,28	1,50
10	13,84	1,70
11	12,03	N/A
12	13,70	1,50

Tabelle 8 Gegenüberstellung der Mittelwerte der histologischen Ergebnisse des ICRS II Scorings und der elektromechanischen Ergebnisse Arthro-BST™ als Gesamtergebnis für die unbehandelten rechten medialen Femurkondylen (R-MFC) je Schaf.

9.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, ohne deren Hilfe die Anfertigung dieser Doktorarbeit niemals zustande gekommen wäre. Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. Andreas Paech bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit in der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie des Universitätsklinikum UKSH Campus Lübeck durchzuführen. Ein großer Dank geht an meinen Betreuer PD Dr. med. habil. Jan C. Schagemann für die Überlassung des Themas, die hervorragende Betreuung und die sehr gute Zusammenarbeit. Ein besonders großes Dankeschön möchte ich für das anhaltende Vertrauen und das wiederkehrende Mutmachen aussprechen. Ein Dankeschön geht auch an die Kollegen von Biomomentum Inc. (Canada) für die kollegiale Zusammenarbeit, besonders während der praktischen Versuchsdurchführung. Mein weiterer Dank geht an die Mitarbeiter des anatomischen Instituts der Universität zu Lübeck, insbesondere Frau Asmus, die mich in der Erstellung der histologischen Präparate unterstützt und die Räumlichkeiten für die Auswertung zur Verfügung gestellt hat. Ich danke Linda P., Sabrina v. B. und Verena R. für die tatkräftige Unterstützung in der Erhebung der histologischen Ergebnisse. Ich danke Susu S. für die mentale und technische Unterstützung. Mein Dank geht auch an das Institut für Medizinische Biometrie und Statistik für die biometrische Beratung und an Ass. Prof. James Fitzsimmons (Mayo Clinic, Rochester, MN, USA) für die Unterstützung in der statistischen Auswertung. Ich danke Daniel S. für die liebenswerte mentale als auch technische Unterstützung. Mein größter Dank geht an meine Eltern, Hans und Marion Rudert, und meine Schwester Carolin für die liebevolle und vielseitige Unterstützung und den familiären Rückhalt während des Verfassens dieser Arbeit, während meines gesamten Studiums und Arbeitsalltages mit allen Höhen und Tiefen.