

1 Einleitung

Die Therapie chondraler und osteochondraler Gelenkflächendefekte stellt bis heute ein ungelöstes Problem aufgrund der begrenzten Regenerationsfähigkeit des Knorpelgewebes dar. Die Ergebnisse der bisherigen Verfahren zur biologischen Defektdeckung zeigen, dass sich ein Ersatzgewebe bildet, welches sich deutlich vom originären Gelenkknorpel hinsichtlich seiner biochemischen Zusammensetzung und der mechanischen Eigenschaften unterscheidet. Die Langzeitergebnisse sind häufig unbefriedigend. Die alternative Versorgung traumatischer und degenerativer Gelenkschäden durch Endoprothesen ist gerade bei jungen Patienten nicht Mittel der Wahl, da über den langen Tragezeitraum eine mögliche Toxizität durch das implantierte Material genauso befürchtet werden muß wie eine Prothesenlockerung.

Ein klinisch anerkanntes Verfahren, welches zur biologischen Rekonstruktion von Gelenkoberflächendefekten und zur Bildung von originärem Gelenkknorpel führt, existiert nicht [Mow et al., 1991; Curtin et al., 1992; Hsu et al., 1992; Moran et al., 1992; Messner und Gillquist, 1993; Hartig et al., 1994; Kreder et al., 1994; Noguchi et al., 1994; Ritsilä et al., 1994]. Diese Gründe sind der Ausgangspunkt für das ständige Bemühen neue biologische Behandlungskonzepte für die Therapie degenerativer und traumatischer Gelenkflächendefekte zu finden.

1.1 Hyalines Knorpelgewebe

Hyaliner Knorpel hat im frischen, unfixierten Zustand eine weiß-bläuliche Farbe und erscheint auf der Schnittfläche glasartig opak. Im gefäß- und nervenfreien ausdifferenzierten Gewebe treten die Zellen gegenüber der Extrazellulärmatrix massenmäßig zurück; ihr Volumenanteil liegt zwischen ein und zehn Prozent. Beim Menschen besteht wie bei anderen Vertebraten in der frühen Embryonalperiode der größte Teil des Skeletts aus hyalinem Knorpel (Primordialskelett). Nach Abschluss des Wachstums kommt Hyalinknorpel nur noch an den Gelenkflächen, im sternalen Anteil der Rippen, im Skelett der Nase

sowie in den mittleren und tiefen Luftwegen vor. Bei einigen rezenten Wirbeltieren (Knorpelfische) ist das Skelett zeitlebens aus hyalinem Knorpel aufgebaut.

Hyalinknorpel entwickelt sich aus dem Mesenchym. Im Bereich der Skelettanlage schließen sich die Mesenchymzellen bei gleichzeitiger Abnahme der Extrazellulärmatrix dichter zusammen und bilden ein Blastem. Nach der fünften Embryonalwoche setzt innerhalb des Blastems die erste Knorpelbildung in Form von "Vorknorpel" ein. Voraussetzung für die Entwicklung von Knorpelgewebe aus dem undifferenzierten Mesenchym ist die Ausbildung von Zellkontakten (Desmosomen). Die Zellen des Blastems bilden Extrazellulärmatrix mit dünnen Fibrillen, deren Durchmesser etwa zehn Nanometer beträgt. Die Vorknorpelzellen differenzieren sich zu Chondroblasten und diese zu Chondrozyten.

Knorpel zeigt in der pränatalen Entwicklung morphologische Unterschiede zum ausdifferenzierten Gewebe. Im embryonalen Knorpel liegen die Zellen dicht gepackt, ihr Volumenanteil ist höher als im ausgereiften Knorpel. Ein weiteres Charakteristikum ist die Vaskularisation des Gewebes, die im ausdifferenzierten Gewebe nicht vorkommt. An den Enden einiger Skelettanlagen mit desmaler Osteogenese entwickelt sich aus Mesenchym sogenannter Sekundärknorpel. Der Sekundärknorpel ist Wachstumszone für die Gelenkkörper, zum Beispiel am Kiefergelenk oder am Sternoklavikulargelenk. Die knorpelig präformierten Skelettanlagen werden von einem Perichondrium umhüllt.

Die Entwicklung reifer Knorpelzellen ist zunächst auf den zentralen Anteil der Skelettanlagen beschränkt. Innerhalb dieser "Knorpelbildungszentren" teilen sich die Zellen, und es entstehen isogene Knorpelzellgruppen. Die Knorpelzellen produzieren reichlich Extrazellulärmatrix, so dass die einzelnen isogenen Gruppen auseinanderrücken. Diese Art des Knorpelwachstums wird als interstitielles oder intussusceptionelles Wachstum bezeichnet. Es ist hauptsächlich für das Längenwachstum verantwortlich. Durch Einbeziehung weiterer Mesenchymzellen aus der Umgebung der Skelettanlage wächst diese durch Apposition in die Breite. Nach Ausdifferenzierung des Mesenchyms erfolgt appositionelles Wachstum von seiten undifferenzierter Zellen in der sogenannten chondrogenen Schicht des Perichondriums, aus denen sich Chondroblasten und Chondrozyten entwickeln können. Die

durch Apposition entstandenen Chondrozyten nehmen ihrerseits wieder am interstitiellen Wachstum teil, indem sie sich mitotisch teilen und isogene Gruppen bilden.

Auch nach Abschluss des Wachstums behalten die Zellen der chondrogenen Schicht im Perichondrium die Potenz, Knorpelzellen zu bilden. Chondrozyten liegen im hyalinen Knorpel meist in isogenen Gruppen. Diese ordnen sich in der Tiefe des Gewebes in Reihen, die senkrecht zum Perichondrium oder zur Oberfläche (Gelenkknorpel) ausgerichtet sind. In der Peripherie liegen die Zellen einzeln, sie sind relativ klein und spindelförmig. In der Tiefe haben Chondrozyten ovoide oder kugelige Form. Dort, wo sich zwei Zellen in einer isogenen Gruppe gegenüberliegen, sind sie abgeflacht und bilden Kugelsegmente.

Lichtmikroskopisch erscheint die Zelloberfläche glatt, elektronenmikroskopisch kann man kurze Zytoplasmafortsätze erkennen. Die Zellen haben untereinander keinen Kontakt. Der ovale Zellkern besitzt einen oder mehrere Nukleoli. Das Zytoplasma enthält lange, schmale Mitochondrien und wenige Filamente. An paraplastischen Einschlüssen kommen Lipidtropfen, Pigmentkörnchen sowie reichlich Glykogengranula vor. Golgi-Apparat und rauhes endoplasmatisches Retikulum sind in Zellen, die Extrazellulärmatrix produzieren, stark entwickelt. Daneben kann man Vakuolen, Sekretgranula und Lysosomen beobachten. Die Extrazellulärmatrix des hyalinen Knorpels wird von Chondroblasten und Chondrozyten produziert. Sie besteht aus Wasser, Proteoglykanen, Kollagenfibrillen, Glykoproteinen, Lipiden und Elektrolyten.

Der Wasseranteil kann 70 bis 75% des Gesamtvolumens betragen. Wasser wird von den Makromolekülen - vor allem von den Proteoglykanen - gebunden ("strukturiertes Wasser"). Kollagen macht etwa die Hälfte des Trockengewichtes der Extrazellulärmatrix aus und besteht zu 90 bis 95% aus Typ-II-Kollagen. Der Fibrillendurchmesser variiert stark. Im Gelenkknorpel liegt er zwischen vier und 200 Nanometer. In den tiefen Schichten des Gelenkknorpels ordnen sich dünnere Fibrillen mit einem Durchmesser zwischen vier bis zehn Nanometer konzentrisch in der Umgebung der Zellen um die proteoglykanreiche perizelluläre Matrix. Da Kollagen den gleichen Brechungsindex besitzt wie die übrigen Bestandteile der umgebenden Matrix, sind die Fibrillen bei üblicher lichtmikroskopischer

Untersuchung nicht sichtbar. Wie diese "Maskierung" der Fibrillen zustandekommt, ist nicht vollständig geklärt; möglicherweise spielen der Gehalt an Chondroitinsulfaten und das daran gebundene Wasser eine Rolle. Die Fibrillen zeigen im Polarisationsmikroskop positive Doppelbrechung. Kollagenfibrillen des Knorpels haben eine typische Ausrichtung. Im Gelenkknorpel sind sie arkadenförmig angeordnet.

Die einzelnen Proteoglykanmonomere sind im Hyalinknorpel an Hyaluronsäuremoleküle gebunden und bilden auf diese Weise Proteoglykanpolymere. Ihre Glykosaminoglykane bestehen größtenteils aus Chondroitin-4-Sulfat (Typ A) und Chondroitin-6-Sulfat (Typ C) sowie aus Keratansulfat. Sie sind verantwortlich für die starke Basophilie der Extrazellulärmatrix. Der Proteoglykangehalt ist in der unmittelbaren Umgebung von Chondrozyten höher als zwischen den einzelnen Zellen und Zellgruppen. Entsprechend färbt sich die Extrazellulärmatrix peripher kräftig mit basischen Farbstoffen an. So entstehen dunkle "Höfe" um die Zellgruppen. Die Extrazellulärmatrix dieser Zone wird auch als "territoriale" Matrix bezeichnet.

Eine Gruppe von Knorpelzellen und die sie umgebende stark basophile territoriale Extrazellulärmatrix fasst man als Chondron zusammen. Die Extrazellulärmatrix zwischen den Territorien ist die "interterritoriale" Matrix. Sie ist weniger reich an Proteoglykanen und färbt sich entsprechend schwächer mit basophilen Farbstoffen an. Angaben über die Verteilung der Glykosaminoglykane, vor allem von Chondroitinsulfat und Keratansulfat, in der territorialen und interterritorialen Matrix sind im Schrifttum uneinheitlich und widersprüchlich. Einige Befunde sprechen dafür, dass Keratansulfat vorzugsweise in den Territorien, Chondroitinsulfat vermehrt in der interterritorialen Matrix vorkommt.

Hyaliner Knorpel wird - außer an den Gelenkflächen - vom Perichondrium umgeben. Es besteht aus straffem, geflechtartigem Bindegewebe, in das die Kollagenfibrillen des Knorpels einstrahlen. Den Übergang zum Knorpelgewebe bildet die sogenannte chondrogene Schicht. Ihre Zellen tragen zum appositionellen Wachstum des Knorpels bei. Von den Zellen der chondrogenen Schicht kann die Wiederherstellung von Knorpelgewebe nach Verletzungen ausgehen. Bei Transplantationen sind die Zellen dieser Zone für die Neubildung von Knorpelgewebe

verantwortlich. Im Gegensatz zum Periost bildet das Perichondrium keine abgrenzbare Schicht, sondern geht kontinuierlich in das Knorpelgewebe über.

Ausdifferenzierter hyaliner Knorpel ist gefäßlos. Dort, wo Knorpelgewebe ein Perichondrium hat, wird es aus dessen Gefäßnetz durch Diffusion versorgt. Gelenkknorpel wird über die Synovia und aus den Gefäßen des subchondralen Knochengewebes ernährt. Die straffe perichondrale Bindegewebshülle verleiht den aus hyalinem Knorpel aufgebauten Skelettelementen große Elastizität. Fehlt das Perichondrium, bricht der Knorpel bei hoher Biegebeanspruchung.

Hyaliner Knorpel zeigt mehrere organspezifische regressive Veränderungen. Der Gehalt an Chondroitinsulfaten und Wasser nimmt bereits im mittleren Lebensalter ab. Im Rahmen dieser Veränderungen kommt es zur "Asbestfaserung" der Kollagenfibrillen. Diese sind dann lichtmikroskopisch "demaskiert" und werden als grobe Faserbündel sichtbar. Dort, wo die Fasern "körnig" zerfallen, kann es zu Gefäßeinsprossungen von seiten des Perichondriums kommen. Eine altersbedingte Veränderung der Extrazellulärmatrix ist auch die sogenannte albuminoide Entartung, bei der kleine doppelbrechende Eiweißkörper auftreten. Mit zunehmendem Lebensalter sterben vermehrt Knorpelzellen ab. Auch solche Anteile des Knorpelskeletts, die nicht an einer physiologisch ablaufenden endochondralen Osteogenese teilnehmen, können im Laufe des Lebens Mineralisation und Knochenbildung zeigen. Mineralisation der Extrazellulärmatrix tritt auch unabhängig von endochondraler Osteogenese auf. So kann man zum Beispiel im Knorpelskelett der Atemwege Ablagerung von Mineralien und Knochenbildung nebeneinander beobachten. Beginn und Art der Knochenbildung zeigen individuelle, geschlechts- und rassenspezifische Unterschiede.

Die Materialeigenschaften des Hyalinknorpels sind gemeinsame Funktion aller Bestandteile der Extrazellulärmatrix und in geringerem Ausmaß auch der Zellen. Hyaliner Knorpel leistet einer Kompression (zum Beispiel Gelenkdruck) Widerstand. Es treten dabei im Gewebe Druck- und Zugspannungen auf. Die Druckfestigkeit des Knorpelgewebes ist wesentlich höher als die Zugfestigkeit. Die allseitige Umwicklung der Knorpelzellen und Zellgruppen durch Kollagenfibrillen bestimmt die mechanischen Eigenschaften des Knorpels entscheidend mit. Unter Druckbelastung verhalten sich die Baueinheiten wie "Wasserkissen" oder

“Sprungfedern”. Die Fibrillen wirken der durch die Deformation herbeigeführten Zugbeanspruchung entgegen. Die Zellen selbst nehmen einen Teil der Druckspannungen auf. Den Hauptanteil an der Druckfestigkeit liefern die Proteoglykane und das an sie gebundene Wasser. Der Hyalinknorpel zeigt rheologisch ein viskoelastisches Verhalten. Veränderungen der Zusammensetzung und Verlust an Extrazellulärmatrix gehen mit einer Minderung der mechanischen Eigenschaften einher. Am Gelenknorpel zum Beispiel kommt es zu degenerativen Zerstörungen (Arthrose), wenn seine Widerstandsfähigkeit dem Gelenkdruck nicht mehr standhalten kann [Tillmann (a), 1987; Mow et al., 1991; O’Driscoll et al., 1997].

1.2 Anatomie des Periosts

Knochen werden außer an ihren gelenkbildenden Flächen und im Bereich chondral-apophysärer Sehnenansätze von Knochenhaut, dem Periost, bedeckt. Am Periost werden beim wachsenden Knochen drei Schichten unterschieden. Außen liegt lockeres Bindegewebe, das die Verbindung zwischen Knochen und angrenzenden Geweben herstellt (Adventitia). Die darauf folgende Schicht wird als Fibroelastika bezeichnet. Sie enthält geflechtartiges straffes Bindegewebe, dessen Kollagenfasern vorzugsweise in Längsachse der Skelettelemente verlaufen. Ein Teil der Faserbündel strahlt in die Kompakta ein (Sharpeysche Fasern). Dieser schafft eine feste Verbindung zwischen Periost und Knochen. Außer Kollagenfasern enthält die mittlere Schicht auch elastische Fasern, die an Flächen in Längsrichtung des Knochens, an Kanten und Vorsprüngen jedoch gitterförmig angeordnet sind. Die Zellen der Fibroelastika mit ihren “flügel förmigen” Fortsätzen gleichen Sehnenzellen. Die unmittelbar dem Knochen anliegende Schicht wird - in Analogie zur Wachstumszone in Pflanzenstengeln - als Kambiumschicht (Osteoblastenschicht) bezeichnet. Sie hebt sich beim wachsenden Knochen aufgrund ihres Zellreichtums deutlich von der Fibroelastika ab. In der Kambiumschicht lassen sich drei Zelltypen unterscheiden. Am Übergang zur Fibroelastika kommen spindelförmige “mesenchymale” Stammzellen vor, aus denen sich rundliche Kambiumzellen, Osteoprogenitorzellen, differenzieren. Aus Kambiumzellen entstehen spindelförmige Präoste-

blasten, die meistens einen Zellverband bilden. Osteoprogenitorzellen teilen sich mitotisch; sie gelten als Mutterzellen reifer Osteoblasten. Die Zellen der Kambiumschicht sezernieren Glykoproteine und Proteoglykane. Von den Osteoblasten dieser Zone geht das appositionelle Dickenwachstum des Knochens aus.

Beim ausdifferenzierten Knochengewebe geht die Dreischichtigkeit des Periosts verloren. Die Kambiumschicht ist aufgrund ihrer Zellarmut nicht mehr deutlich abzugrenzen. Die dem Knochen anliegende Zone des Periosts enthält beim Erwachsenen nur noch wenige Zellen, die in ihrer Struktur Präosteoblasten gleichen. Diese "ruhenden" oder "inaktiven" Präosteoblasten haben die Potenz sich zu teilen, zu Osteoblasten zu differenzieren und Knochengewebe zu bilden. Die Knochenbruchheilung geht teilweise von den Zellen des Periosts aus.

Die Dicke des Periostschlauches ist unterschiedlich. Sie hängt unter anderem von der Wachstumsintensität des Knochens, vom Alter und von der Lokalisation ab. Die Fibroelastika des Periosts verbindet sich an der Knorpel-Knochen-Grenze der Gelenkflächen mit dem Knorpel und mit der Gelenkkapsel. Am Übergang von knorpeligen und knöchernen Skelettelementen (zum Beispiel an den Rippen) verschmelzen Periost und Perichondrium miteinander. An periostal-diaphysären Sehnenansätzen der Skelettmuskulatur dringen die Kollagenfasern der Sehnen über das Periost in den Knochen ein.

Im Periost liegen die den Knochen ernährenden Gefäße (*vasa nutritia*). An einigen Stellen (zum Beispiel am Femurhals) verlaufen die Gefäße über eine größere Strecke im Periost, bevor sie in die Kortikalis eindringen und das Knochengewebe versorgen. Knochengefäße und Periostgefäße tragen mit ihrem begleitenden Bindegewebe neben den Sharpeyschen Fasern zur Verankerung des Periosts am Knochen bei.

Das Periost zählt wie der Knochen zu den gut vaskularisierten Geweben. Seine Gefäße bilden entsprechend der Schichtung der Knochenhaut drei Lagen. In der oberflächlichen Adventitia verlaufen größere, meistens von zwei Venen begleitete Arterien, die aus Gefäßen angrenzender Muskeln, Faszien und Sehnen stammen. Die Gefäße bilden kurze Queranastomosen, so dass ein polygonales Maschenwerk wie an anderen Bindegewebsblättern entsteht. Die Aufteilung der terminalen

Strombahn ist örtlich unterschiedlich. Die Kapillaren können netzförmig oder unverzweigt angeordnet sein. Die Kapillaren der mittleren Schicht bilden lang ausgezogene Maschen. Sie erhalten Ihre Blutzufuhr aus der oberflächlichen Zone. Die Gefäße der dritten Schicht liegen unmittelbar an der Grenze zum Knochengewebe. Die Kapillaren bilden Netze, die aus Arterien der Kortikalis gespeist werden. Das Venenblut wird ebenfalls in den Knochen drainiert. Die Knochenhaut enthält außerdem ein dichtes Lymphgefäßnetz [Tillmann (b), 1987; von der Mark und Glückert, 1990; Mow et al., 1991; O'Driscoll et al., 1997].

1.3 Wissenschaftliche Erkenntnisse zum Versuchsvorhaben

Die kausale Behandlung traumatischer und degenerativer Gelenkknorpeldefekte ist aufgrund der geringen Regenerationsfähigkeit des hyalinen Knorpelgewebes bisher nicht möglich. Insbesondere bei jüngeren Patienten ist eine Alternative zur endoprothetischen Versorgung gefragt. In der Vergangenheit sind deshalb umfangreiche Studien zum biologischen Gelenkflächenersatz durchgeführt worden. Ein allgemein anerkanntes Verfahren zum biologischen Verschluß von Gelenkflächendefekten gibt es derzeit noch nicht [Mow et al., 1991; Curtin et al., 1992; Hsu et al., 1992; Moran et al., 1992; Messner und Gillquist, 1993; Hartig et al., 1994; Kreder et al., 1994; Noguchi et al., 1994; Ritsilä et al., 1994].

Eine Möglichkeit, Gelenkflächen biologisch zu decken, ist die Verwendung von Periost. Periost besitzt, wenn es vom Knochen gelöst wird, ausgehend von der Kambiumschicht die Potenz, sich zu Knorpel- beziehungsweise Knochengewebe zu differenzieren. Der Prozess der Differenzierung unterliegt molekularen Regulationsmechanismen, die in Ihrer Komplexität noch nicht vollständig bekannt sind [Liu et al., 1994; Wirth et al., 1994]. Es konnte in diesem Zusammenhang experimentell nachgewiesen werden, dass freies, auf osteochondrale Gelenkdefekte transplantiertes Periost hyalinen Knorpel bilden kann [Mow et al., 1991; Curtin et al., 1992; Moran et al., 1992; Hartig et al., 1994; Kreder et al., 1994; Ritsilä et al., 1994; Carranza-Bencano et al., 1999; Orr et al., 1999]. Ob und in welchem Umfang sich Knorpel- oder Knochengewebe bildet, hängt von mehreren Faktoren ab: Zum Beispiel Umgebung und Lagebeziehung des Periosts, Alter des Trans-

plantat spenders beziehungsweise -empfängers oder Lokalisation der Periosttransplantation. Dies war Gegenstand verschiedener Untersuchungen [Takato et al., 1986; Mow et al., 1991; Curtin et al., 1992; Menck et al., 1992; Nagamoto et al., 1993; Kreder et al., 1994; Liu et al., 1994; Wirth et al., 1994].

Die Eigenschaften des neu gebildeten Knorpels unterscheiden sich jedoch qualitativ und quantitativ vom normalen Gelenkknorpel, so dass dieser zwar als möglicher aber wahrscheinlich nicht als vollwertiger Ersatz gelten kann [Mow et al., 1991; Moran et al., 1992; Hartig et al., 1994; Kreder et al., 1994]. Über die Ursache ist gegenwärtig noch wenig bekannt.

Freie Periostlappen wurden bereits erfolgreich klinisch als Ersatz zerstörter Gelenkflächen der Patella [Hoikka et al., 1990], zur Behandlung akuter traumatischer Knorpeldefekte [Korkala und Hukkanen, 1991] und zur Spondylodese bei idiopathischer Skoliose [Snellman et al., 1977] eingesetzt.

Gefäßgestielte Periostlappen wurden sowohl experimentell als auch klinisch zur Überbrückung knöcherner Defekte beziehungsweise zur Behandlung von Pseudarthrosen nach Frakturen erfolgreich eingesetzt [Takato et al., 1986; Crock und Morrison, 1992].

Aus der Literatur sind vergleichende Untersuchungen zur chondrogenetischen Potenz vaskularisierten und freien Periosts bekannt, jedoch nach dem Kenntnisstand des Autors nicht als vergleichende Studie von freien und gefäßgestielten Periostlappen als Gelenkoberflächenersatz. Folgende in tierexperimentellen Studien gewonnene Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass auf osteochondrale Gelenkflächendefekte transplantierte, gefäßgestielte Periostlappen eine höhere chondrogenetische Potenz als freie (nicht gefäßgestielte) Periostlappen haben, oder sich zumindest die Qualität des gebildeten Knorpelgewebes unterscheidet:

1. Neovaskularisierte und anschließend frei transplantierte Kaninchenohr-Knorpellappen zeigen Areale aktiver Chondrogenese am Ort der Transplantation [Harase et al., 1988].
2. Vaskularisiertes Perichondrium zeigt im Vergleich zu frei transplantiertem Perichondrium an der Luftröhre (Trachea) eine deutlich umfangreichere Knorpelbildung [Hartig et al., 1994; Naficy und Esclamado, 1997].