

**Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand-, und Wiederherstellungschirurgie  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Michael J. Raschke**

**Hat die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie  
Einfluss auf die Knorpelmorphologie bei der  
posttraumatischen Gonarthrose im  
Kaninchenmodell?  
- der 12-Wochen-Trial -**

- eine tierexperimentelle Studie -

**Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung des doctor medicinae**

der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Vorgelegt von Nils Ole Alt  
aus Bonn  
Münster 2010

Dekan : Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Schmitz

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Viola Bullmann

2. Berichterstatter : Univ.-Prof. Dr. med. Rainer H. Meffert

Tag der mündlichen Prüfung: 20.09.2010

**Aus dem Universitätsklinikum Münster**  
**Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand-, und Wiederherstellungschirurgie**  
**Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Michael J. Raschke**  
**1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Viola Bullmann**  
**2. Berichterstatter : Univ.-Prof. Dr. med. Rainer H. Meffert**

## **Zusammenfassung**

### **Hat die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie Einfluss auf die Knorpelmorphologie bei der posttraumatischen Gonarthrose im Kaninchenmodell? -der 12 Wochen-Trial-**

Nils Ole Alt

**Einleitung:** Die therapeutische Applikation von Magnetfeldern und die Erforschung ihrer Wirkmechanismen ist seit Jahrzehnten ein Thema, mit dem sich die Forschung intensiv beschäftigt.

Im Rahmen von In-vitro-Versuchen konnten die Effekte unterschiedlicher Magnetfelder auf z.B. die chondrozytäre Syntheseleistung nachgewiesen werden.

Auch in einer Vielzahl von klinischen Studien hat die therapeutische Anwendung von Magnetfeldern zur Behandlung der Arthrose positive Effekte gezeigt.

Es liegen bisher aber kaum In-vivo-Untersuchungen zur Wirkung der Kernspin-Resonanz auf den arthrotischen Knorpel vor.

Ziel dieser Studie war es, den Effekt der Magnet-Resonanz auf die Knorpelmorphologie des späarthrotischen Knies in einem standardisierten In-vivo-Kaninchenmodell anhand histologischer und makroskopischer Kriterien zu untersuchen.

**Methoden:** In diesem Versuch wurden zwölf ausgewachsene, skelettreife, männliche Kaninchen der Rasse „Neuseeland-weiß“ verwendet.

Den Tieren wurde operativ das vordere Kreuzband beider Hinterläufe reseziert, um eine posttraumatische Arthrose zu induzieren.

Nach zwölf Wochen wurden die Tiere in zwei Gruppen randomisiert.

An sieben aufeinanderfolgenden Tagen erhielt nun die Experimentalgruppe eine jeweils einstündige Therapie mit dem MBST™-Gerät der Firma MedTec, die Kontrollgruppe wurde scheintherapiert. Die Kaninchen wurden anschließend getötet und die Kniegelenke anhand makroskopischer und histologischer Kriterien untersucht.

**Ergebnis:** Keines der von uns untersuchten Kriterien zeigte statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Therapie- und der Kontrollgruppe. Dieses trifft auch auf den makroskopischen und den histologischen Gesamtscore zu.

**Schlussfolgerung:** Eine Veränderung der Knorpelmorphologie des späarthrotischen Knies unter Magnet-Resonanz-Therapie konnte in diesem Modell nicht nachgewiesen werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 20.09.2010

Aktenzeichen tierexperimentelle Genehmigung: 50.0835.1.0(G17/2004)

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>7</b>
1.1 Definition Arthrose.....	7
1.2 Ätiologie und Einteilung der Osteoarthrose .....	8
1.3 Epidemiologie der Osteoarthrose .....	8
1.4 Pathogenese der Osteoarthrose.....	10
1.5 Therapie der Osteoarthrose.....	11
1.6 Magnetfeldtherapie.....	13
1.6.1 Geschichte der Magnetfeldtherapie .....	13
1.6.2 Molekulare Wirkmechanismen der Magnetfeldtherapie .....	16
1.6.3 Humorale Wirkmechanismen der Magnetfeldtherapie.....	17
1.6.4 Larmorpräzession und Kernspin-Resonanz.....	21
1.6.5 Was ist MBST™? .....	24
<b>2 MATERIAL UND METHODE .....</b>	<b>26</b>
2.1 Tiere .....	26
2.2 Operationsmethode.....	26
2.3 Therapie.....	28
2.4 Tötung und Probenentnahme.....	30
2.5 Aufarbeitung der Proben .....	31
2.5.1 Gewinnung der histologischen Schnitte .....	31
2.5.2 Färbeverfahren .....	31
Hämatoxilin-Eosin-Färbung (HE).....	31
Safranin-O-Färbung .....	32
Masson-Goldner .....	33
2.5.3 Mikroskopische Auswertung.....	34
2.5.4 Makroskopische Auswertung .....	35
2.5.5 Statistische Methodik .....	36

<b>3 ERGEBNISSE .....</b>	<b>37</b>
3.1 Makroskopische Ergebnisse .....	37
A Fibrillationen .....	38
B Osteophyten .....	39
C Ulzerationen.....	40
D Erguss .....	41
3.2 Makroskopischer Gesamtscore.....	42
3.3 Histologische Ergebnisse.....	43
A Struktur .....	43
B Zellen .....	44
C Anfärbarkeit mit Safranin-O.....	45
D Auftreten von Gefäßen .....	45
3.4 Histologischer Gesamtscore .....	47
<b>4 DISKUSSION .....</b>	<b>48</b>
4.1 Diskussion des Modells .....	48
4.2 Diskussion der Probenaufarbeitung „Zone of interest“ .....	50
4.3 Diskussion des makroskopischen Scores .....	51
4.4 Diskussion des histologischen Scores .....	52
4.5 Diskussion der Therapie .....	53
4.6 Diskussion der Ergebnisse.....	54
4.7 Schlussfolgerung .....	57
<b>5 AUSBLICK UND MÖGLICHE FOLGEUNTERSUCHUNGEN .....</b>	<b>58</b>
<b>6 LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>60</b>
<b>7 ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>68</b>
7.1 Tabellen.....	70

<b>8 ANHANG .....</b>	<b>I</b>
8.1 Makroskopische Befunde .....	I
8.2 Mikroskopische Befunde.....	II
8.3 Randomisierungsschlüssel.....	IV
8.4 Lebenslauf .....	V
8.5 Danksagungen .....	VII
8.6 Versuchsgenehmigung .....	VIII

# 1 Einleitung

## 1.1 Definition Arthrose

Bei der Osteoarthrose (syn. Arthrosis deformans, Arthrose) handelt es sich um eine Degeneration des Knorpelgewebes mit sekundärer Knochenläsion, entzündlich bedingter Schrumpfung der Gelenkkapsel und pathologischen Veränderungen des Bandapparates sowie der periartikulären Muskulatur (25).

Die Osteoarthrose entwickelt sich stets aus dem Missverhältnis von Belastung und Belastungsfähigkeit des Gelenkes bzw. des Gelenkknorpels. Ursache kann sowohl der primäre Verschleiß als auch die Knorpelzerstörung als Folge von Traumata, Einblutung oder Entzündung sein.

Klinisch kommt es zunächst zu schmerzhaften Beschwerden vom morgendlichen „Anlaufschmerz“ über den Belastungsschmerz bis hin zum Ruheschmerz, zum Teil verbunden mit Schwellung, Übererwärmung und Muskelhartspann im betroffenen Gelenk sowie der umgebenden Muskulatur.

Aus der fortschreitenden Destruktion und den Kontrakturen der beteiligten Weichteile resultiert eine zunehmende Bewegungseinschränkung im betroffenen Gelenk.

Röntgenologisch zeigt sich die Arthrose durch:

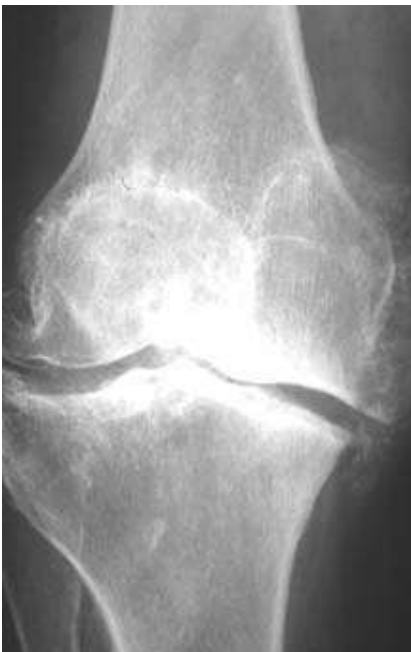


Abb.1: Gonarthrose im Endstadium (a.p.)

- Gelenkspaltverschmälerung
- subchondrale Sklerosierung
- osteophytäre Anbauten
- und periartikuläre Verkalkungen (53).

## 1.2 Ätiologie und Einteilung der Osteoarthrose

Schon vor über 220 Jahren wurden morphologische Veränderungen des Knorpels von den Gebrüdern Hunter beschrieben (83). Die Erforschung wurde in den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts deutlich intensiviert. Zwischen 1935 und 1970 gelang es, folgende wesentliche Informationen für weitere Forschungsschwerpunkte im Bereich der Osteoarthrose zu gewinnen: die Entdeckung der Proteoglykane und der verschiedenen Formen von kollagenem Gewebe bildeten eine wesentliche Basis für weitergehende Forschung. Außerdem erkannte man die Eigenschaft des Gelenkknorpels, sich unter gewissen Voraussetzungen selbst zu regenerieren und man zog Rückschlüsse auf die physiologischen Eigenschaften des Knorpels (84). 1957 wurde die erste Klassifikation der verschiedenen Schweregrade durch Kellgren und Lawrence vorgenommen (48).

Das Krankheitsbild der Arthrose lässt sich pathogenetisch in zwei Formen unterteilen. Das Krankheitsgeschehen bei der *Primären Arthrose* ist entweder auf chronische Überbelastung wie Schwerarbeit, Sport oder Übergewicht zurückzuführen (direkte Form) oder aber es steht die Minderwertigkeit des Knorpelgewebes im Vordergrund (indirekte Form). Die Ursachen hierfür sind im Detail noch nicht geklärt (25), es kommt aber zu einer Verminderung der Leistungsfähigkeit des bradytrophen Knorpelgewebes durch endogene Veränderungen wie Alterung, Stoffwechselstörungen oder genetische Aberationen (83). Der Übergang zwischen beiden Formen ist fließend und heute geht man davon aus, dass keine der Formen völlig isoliert vorkommt.

Die *Sekundäre Arthrose* entsteht auf dem Boden einer Grunderkrankung, wobei die kongenitale Form meist durch Wachstumsstörungen oder Fehlanlagen der Gelenke bedingt ist (3).

Bei der erworbenen Form sind entzündliche oder traumatische Geschehen ursächlich. Man muss aber hinzufügen, dass nach heutiger Meinung gilt: *Jeder Mensch entwickelt Arthrosen, sofern er sie erlebt (73)*.

## 1.3 Epidemiologie der Osteoarthrose

Die degenerativen Gelenkkrankheiten sind die weitaus wichtigste und größte Gruppe aller Gelenkkrankheiten und können durchaus als „Volkskrankheit“ bezeichnet werden.



Vornehmlich führen sie zu Veränderungen im Bewegungsapparat, wobei überwiegend die großen Gelenke – Wirbel-, Hüft-, Knie- und Sprunggelenke – betroffen sind.

Die Arthrose ist eine Entität mit mehr als 165 Millionen Erkrankten weltweit und nach Angaben der NFO World Group die häufigste Ursache für Schmerzen.

Krankheiten des Muskel-Skelett-Systems kosten die Deutschen jährlich mehr als 25 Milliarden Euro (direkte Kosten), das sind über 300 Euro pro Einwohner. Allein für die Behandlung von Arthrose werden in Deutschland jährlich über sieben Milliarden Euro ausgegeben (2). Einer der Faktoren, der diese hohen Kosten bedingt, ist die Verschreibung von analgetisch wirksamen Medikamenten (siehe Abb.2).

Maetzel et al bezifferten die direkten Kosten, die ein Arthrose-Patient pro Jahr erzeugt, mit durchschnittlich 5700 \$. Leidet der Patient an Komorbiditäten wie z.B. Bluthochdruck, so erhöhen sich die Kosten auf durchschnittlich 9300 \$ (57). Mehr als ein Viertel aller Fehltage am Arbeitsplatz wird durch Muskel- und Skeletterkrankungen verursacht. 2003 entfielen 33 % aller durch Krankheit verlorenen Arbeitstage in den USA auf Erkrankungen des muskulo-skelettalen Systems, in Deutschland waren es immerhin noch 29 % (1). Im Jahr 2000 wurden in deutschen Krankenhäusern über 1,2 Millionen Mal Krankheiten des Muskel-Skelett-Systems diagnostiziert. Aufgrund der steigenden Lebenserwartung der Gesellschaft ist damit zu rechnen, dass diese Zahl weiter steigt. Schon jetzt sind 80 % der Betroffenen 40 Jahre und älter (4).

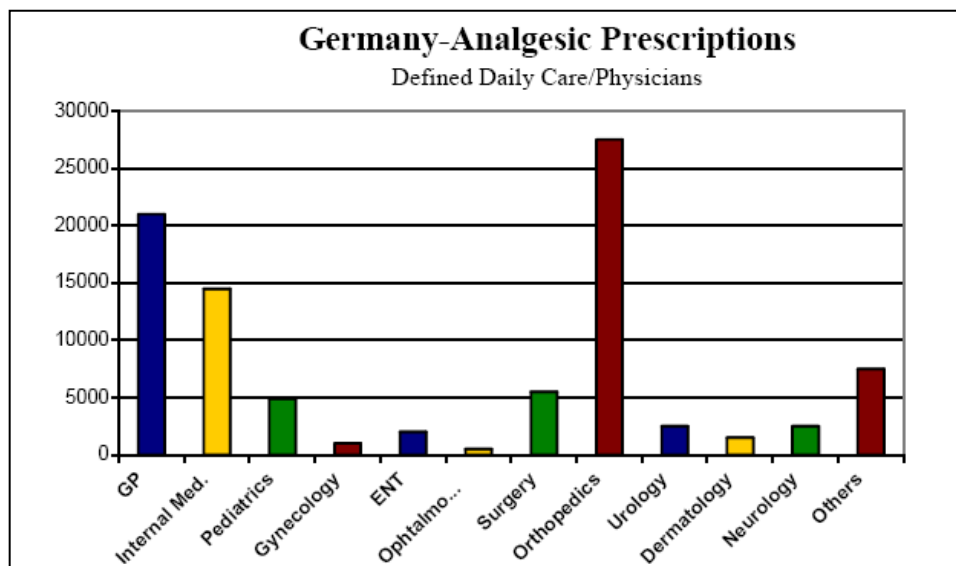


Abb.2: Verschreibungen von analgetisch wirksamen Medikamenten in Deutschland.

## 1.4 Pathogenese der Osteoarthrose

Der Verlauf von degenerativen Gelenkerkrankungen ist langsam progredient. Zu Anfang steht der Elastizitätsverlust des Knorpels mit Veränderung der Knorpelgrundsubstanz und Demaskierung kollagener Fasern.

Hierbei ist die Reduktion des Proteoglykangehalts im Knorpel, die primäre Erweichung und nachfolgende Verschmälerung des Gelenkknorpels kennzeichnend.

Es entstehen Areale zerstörten Knorpels, in denen eine gesteigerte Aktivität der Chondrozyten als Ausdruck intensiver Reparaturvorgänge nachzuweisen ist (Entwicklung von sogenannten Brutinseln) (89).

Die Chondrozyten bilden eine Reihe kataboler Enzyme, von denen Kollagenasen, Saure Phosphatase und Lysozym nur einige Beispiele sind (47).

Des Weiteren konnten Fuchs et al (29) zeigen, dass die Expression sowohl des oberflächlich gebundenen als auch des in der Gelenkflüssigkeit vorkommenden CD44v5-Rezeptors positiv mit dem Destruktionsgrad des Knorpels korreliert ist. Dieses zeigt, dass das arthrotische Geschehen auch mit einer Konformationsänderung auf zellulärer Ebene einhergeht, die über die einfache Destruktion hinausgeht.

In dieser frühen Phase kommt es zu gravierenden Änderungen der Kollagenzusammensetzung der extrazellulären Matrix und zur Bildung von „minderwertigem“ Faserknorpel (24).

Im Laufe dieser Prozesse werden die Druck aufnehmenden Areale des Knorpels immer kleiner und es kommt an diesen Stellen zu pathologischen Druckspitzen, was wiederum zu einer Schädigung des hier noch intakten Knorpels führt. Dies ist der Beginn eines Teufelskreislaufs (73).

Unterhalb der Knorpelzonen maximaler Beanspruchung kommt es zur Ausbildung von kleinsten Frakturen mit Bereichen außerordentlich starker Reparatur (subchondrale Sklerosierung). Durch die immer größer werdenden Schub- und Scherkräfte wird die Knochenneubildung im Randbereich des Gelenkes induziert und es entstehen Osteophyten. In diesem Stadium (Spätstadium) beginnt die eigentliche Arthrosis deformans.

Ist das Reparationsvermögen des subchondralen Knochens erschöpft, führt dies auch hier zu einem verstärkten Gewebsuntergang mit Bildung sowohl multipler kleiner als auch solitärer, großer Zysten. Kommt es im Rahmen dieser Prozesse zu einem starken Überwiegen der regressiven Veränderungen mit reaktiver Entzündung des Gelenkes, spricht man von *aktivierter* Arthrose.

Endstrecke all dieser Veränderungen ist die Zerstörung des Gelenks mit völligem Form- und Funktionsverlust (56).

<b>Histologische Veränderungen des Knorpels bei Arthrose</b>	
<b>Initiales Stadium</b>	Fokale kleine Brutinseln aus Chondrozyten Schwellung
<b>Frühes Stadium</b>	Fokale kleine Brutinseln aus Chondrozyten Umschriebene Chondrozytennekrosen Aufrauung der Knorpeloberfläche Histochemischer Proteoglykanverlust
<b>Intermediäres Stadium</b>	Tangentiale und vertikale Risse Brutinseln aus Chondrozyten Chondrozytennekrosen Zunehmender Proteoglykanverlust Duplikatur der Tidemark mit Einsproßen von Gefäßen Verbreiterung der kortikalen Deckplatte
<b>Spätes Stadium</b>	Verlust des Knorpels Osteophytenbildung Deckplatteneinbrüche Pseudozystenbildung Markfibrose Sekundär ischämische Knochennekrose

Tab. 1 Histologie der Arthrose

## 1.5 Therapie der Osteoarthrose

Es gibt heute eine Reihe von Verfahren zur Behandlung der Arthrose. Diese lassen sich grob in ein konservatives und ein chirurgisch-orthopädisches Vorgehen unterteilen.

Zu Anfang steht meist die konservative Therapie, die durch Bewegungsschulung und Muskelaufbau die Progredienz stoppen bzw. verlangsamen soll (67).

Auch die medikamentös-symptomatische Behandlung der Beschwerden hat, gerade zu Anfang der Behandlung, einen großen Stellenwert. Zur Verfügung stehen hier die nichtsteroidalen Antiphlogistika wie Diclofenac, Ibuprofen oder Indometacin, die sowohl analgetisch als auch antiinflammatorisch wirken. Dieses ist gerade in der Therapie der aktivierten Arthrose von großer Bedeutung (88).

Ein neuerer Ansatz ist die Schmerzbehandlung mit Opioidanalgetika (35).

Einen weiteren Therapieansatz stellt die intraartikuläre Injektion von Lokalanästhetika und Kortikosteroiden oder beidem zur Entzündungsreduktion dar. Allerdings muss hier die Indikationsstellung sehr viel enger erfolgen, da die bakterielle Gelenkentzündung als eine schwere Komplikation auftreten kann.

Auch eine mechanische Therapie ist durch die Verwendung von Einlagen, Gehhilfen und Orthesen möglich (17, 53).

Da der Beweis, dass diese Maßnahmen auch kausal therapiewirksam sind noch aussteht, sind sie als eher symptomatisch einzustufen.

Eine Form der Gelenk erhaltenden operativen Therapie ist die arthroskopische Lavage oder „Gelenktoilette“, bei der Zelldetritus, Pannus und osteophytäre Anbauten entfernt werden können. Diese Form der Therapie kommt aber nur bei einer begrenzten Anzahl der Patienten in Frage (7).

Eine relativ neue Therapie, die gerade in der Behandlung postraumatischer, arthrotischer Defekte geringen Ausmaßes eingesetzt wird, ist die Chondrozytentransplantation (78).

Eine große Bedeutung bei der operativen Therapie der Osteoarthrose haben auch die unterschiedlichen Formen der Umstellungsosteotomien. Hierbei geht es einerseits darum bereits, arthrotische Kompartimente durch eine Achsenveränderung zu entlasten (16), noch größer ist aber der Nutzen bei der Behandlung von präarthrotischen Deformitäten, da hier die Entwicklung einer Arthrose u. U. abgewendet werden kann.

Die ultima ratio der operativen Arthrosetherapie stellt die endoprothetische Versorgung dar. Hierbei werden entweder Gelenkflächen durch Oberflächenersatz oder das ganze Gelenk durch eine Prothese ersetzt. Durch die fehlende biomechanische Anpassung haben diese Prothesen aber nur eine begrenzte Lebensdauer, sodass die Indikation gerade bei jüngeren Patienten sehr streng gestellt werden muss. Die Ergebnisse solcher Operationen sind sehr unterschiedlich zu bewerten. Beim endoprothetischen Ersatz des Hüftgelenkes lassen sich sehr gute Ergebnisse erzielen. (58).

Auch der künstliche Kniegelenkersatz mittels TEP ist als gut zu bewerten (30, 62). Bei den Schultergelenksprothesen lassen sich heutzutage mittelmäßige bis gute Ergebnisse erzielen (61, 74). Der Gelenkersatz durch Sprunggelenkendoprothesen war gerade in den 70er und 80er Jahren aufgrund der Vielzahl der Komplikationen abzulehnen (38). Neuere Studien und Methoden zeigen aber bessere Resultate (87). Aufgrund der kontrovers diskutierten Methoden und dem Fehlen von

Langzeitergebnissen sind die Resultate bei Verwendung von Sprunggelenksprothesen als mäßig bis schlecht einzuschätzen. Trotz dieser Bandbreite therapeutischer Möglichkeiten und aufgrund ihrer Beschränkungen besteht ein starkes Interesse an minimal- oder nichtinvasiven Therapieformen, die die Arthrose im besten Fall sogar kausal therapieren können. Einer der Hoffnungsträger ist die Magnetfeldtherapie in ihren unterschiedlichen Formen.

## 1.6 Magnetfeldtherapie

### 1.6.1 Geschichte der Magnetfeldtherapie

Die medizinische Applikation von Magnetfeldern zur Behandlung von Krankheiten hat eine lange und faszinierende Geschichte. Schon 100 nach Christus verschrieb der Arzt Scribonius Largus seinen Patienten das Stehen im Wasser neben elektrischen Fischen als Kur gegen Kopfschmerz und Gicht. Auch der Schweizer Universalgelehrte Paracelsus (1491-1541) untersuchte die Wirkung von Magneten auf Krankheiten wie Epilepsie, Diarrhöen und Blutungen und empfahl eine Kur mit Magneteisenstäben u. a. bei Fisteln, Krebs und Knochenbrüchen (79).

Die Entdeckung der piezoelektrischen Eigenschaften des Knochens durch Fukada und Yasuda 1956 (32) lässt zum ersten Mal ein Erklärungsmodell der Magnetfeldtherapie zu.

Bei der Piezoelektrizität (auch *piezoelektrischer Effekt*, oder kurz: *Piezoeffekt*) handelt es sich um das Zusammenspiel von mechanischer Verformung und elektrischer Ladung in bestimmten kristallinen Materialien. Der *direkte Piezoeffekt* beschreibt das Erzeugen von Ladungsverschiebungen auf der Oberfläche des Materials bei Krafteinwirkung auf der gegenüberliegenden Seite.

Beim *indirekten Piezoeffekt* ist die elektrische Spannungsänderung ursächlich und es resultiert eine Verformung des Materials.

Direkte therapeutische Anwendung fand dieses Erkenntnis z. B. bei dem von Kraus und Lechner in Deutschland entwickelten System aus zwei Spulen, in dem mit einer Solenoidspule ein elektrisches Potential in einer im Gewebe implantierten Sekundärspule erzeugt werden sollte (64).

Ziel der induzierten elektrischen Potentialschwingungen zwischen den implantierten Gewebeelektroden war die Erregung konformer elastischer Schwingungen des Bindegewebes und des Knochens aufgrund ihrer piezoelektrischen Eigenschaften.

Konform zum Wolffschen (41) bzw. Rouxschen (52) Gesetz sollten so elastische Schwingungen im Knochen erzeugt werden, um eine verstärkte Knochenbildung in den z.B. frakturierten Bereichen zu induzieren.

Diese ersten, auf Tierversuchen basierenden Geräte wurden später von nichtinvasiven Therapiespulen, die das Magnetfeld von außen applizierten, ersetzt.

Die Entdeckung der Piezoelektrik beschränkte sich nicht nur auf den Knochen. In den 70er Jahren des Zwanzigsten Jahrhunderts entdeckten Forschungsgruppen ähnliche Phänomene des Knorpels und des kollagenen Bindegewebes (31).

Die oben genannten Erkenntnisse und die im klinischen Alltag auftretenden Probleme von verzögerter Frakturheilung und Bildung von Pseudarthrosen führten zur Entwicklung und Konstruktion der modernen Geräte zur therapeutischen Applikation von elektrischen und elektromagnetischen Feldern und der intensiven Erforschung der Effekte dieser Geräte.

Die grundlegende Theorie postulierte ein Modell von elektrisch getriggerten Signalkaskaden zur Signaltransduktion vom mechanischen Reiz zur zellulären Aktivierung, die über die Anlage eines äußeren Magnetfeldes positiv beeinflusst werden kann.

Die ersten durchgeführten Tierversuche mit direkt applizierten elektrischen Feldern – über implantierte Elektroden – hatten zum Ziel, genau dies zu beweisen und zeigten ein induziertes Knochenwachstum (85). Diese zuerst viel versprechenden Ergebnisse stellten sich später aber als Bias heraus. Trotzdem wurde eine Reihe von weiteren Tierexperimenten durchgeführt, um Effekte der Magnetfeldtherapie zu beweisen.

Basset et al (9) konnten als eine der ersten Gruppen eine beschleunigte Knochenheilung durch Magnetfeldtherapie im Tiermodell zeigen.

Inoue et al (43) untersuchten den Effekt von gepulsten elektromagnetischen Feldern auf die Kallusbildung und Knochenheilung in einem Hundemodell. Sie konnten zeigen, dass die Behandlung mit gepulsten magnetischen Feldern die Bildung und Reifung sowohl von Kallusgewebe als auch von Knochengewebe bei der sekundären Knochenheilung fördert.

Die untersuchten Frequenzen, Feldstärken und Applikationsformen wurden mit der Zeit immer unterschiedlicher, dennoch konnten in vielen Studien Effekte beobachtet

werden. So konnten Brighton et al zeigen, dass gekoppelte Felder die mechanische Belastbarkeit von knöchernen Fusionsstellen erhöhen (14).

Aaron et al (6) bewiesen einige Zeit später, dass es eine lineare Abhängigkeit von Behandlungszeit und Effektivität gibt.

Auch die Wahl der Tiermodelle, an denen Versuche durchgeführt wurden, variierte im Laufe der Zeit immer stärker.

So gab es unterschiedliche Modelle mit Hunden (63), Ratten (86) und Pferden (18).

Schließlich wurden immer neue Therapiefelder der Magnetfeldtherapie erschlossen und immer weitere Entitäten versucht zu behandeln. Unter anderem gab es eine Reihe von Studien, die den Effekt der elektromagnetischen bzw. elektrischen Therapie auf die Heilung von Wunden der Weichteile untersuchten.

Im Rahmen dieser Studien fanden z.B. Carley et al (19) heraus, dass die Applikation von LIDC (low intensity direct current) in einer randomisierten, kontrollierten Studie an 30 Patienten zu signifikant schnellerer und besserer Wundheilung in der Gruppe der LIDC therapierten Patienten führte.

Zu dementsprechenden Ergebnissen kam auch Grentzkow (33) in seiner Metaanalyse. Insgesamt sieht er einen „zwingenden, wissenschaftlichen Beweis“ für die Sicherheit und Effektivität von elektrischer Stimulation bei der Behandlung von dermalen Wunden.

Ein weiterer Anwendungsbereich, der gerade in den letzten Jahren Schwerpunkt intensiver Forschung geworden ist, ist der Einsatz von direkter Elektrostimulation und Magnetfeldern zur Behandlung von degenerativen Gelenkerkrankungen, vornehmlich der Arthrose.

1995 konnten Zizic et al (102) in einer doppelblind, randomisierten, plazebokontrollierten, klinischen Studie zeigen, dass die nächtliche Applikation von elektrischen Feldern über vier Wochen eine signifikante Reduktion von Schmerz und Morgensteifigkeit und eine bessere Beweglichkeit in der Therapiegruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zur Folge hat.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Jacobson et al (45), die in einer klinischen, ebenfalls doppelblind, randomisierten, plazebokontrollierten Studie an 176 Patienten mit Gonarthrose einen positiven Effekt der Magnetfeldtherapie auf das Schmerzempfinden und die Steifigkeit im Gelenk der Probanden feststellen konnten.

Weitere Untersuchungen sowohl am Tiermodell als auch in klinischen Studien kommen zu vergleichbaren Resultaten.

In diesem Rahmen untersuchten Fini et al eine Versuchsgruppe von zehn Dunkin-Hartley-Guinea-Schweinen, von denen fünf mit gepulsten Magnetfeldern (PEMF) behandelt wurden. Sie fanden heraus, dass das Voranschreiten der Arthrose in der Behandlungsgruppe signifikant langsamer war als das in der Kontrollgruppe. Des Weiteren war der Knorpel in der Behandlungsgruppe signifikant dicker (26). Diese und einige weitere Studien konnten deutliche Effekte zeigen, die höchstwahrscheinlich auf die jeweils angewendete Therapie zurückzuführen waren, aber es konnten bislang keine definitiven Aussagen zu dem Wirkmechanismus bzw. den Wirkmechanismen gemacht werden.

### **1.6.2 Molekulare Wirkmechanismen der Magnetfeldtherapie**

Während die ersten Erklärungsmodelle noch von der Annahme ausgingen, dass die biologische Wirksamkeit der Magnetfeldtherapie das Magnetfeld an sich sei, geht man heute davon aus, dass die induzierten elektrischen Ladungen und Ladungsverschiebungen ursächlich für die beobachteten Effekte sind.

Der genaue Mechanismus, über den die Magnetfeldtherapie in den Geweben wirkt, ist nicht bekannt. Es gibt aber drei prinzipielle physikalische Erklärungsmodelle, die die Wirkung von Magnetfeldern und elektromagnetischen Feldern vermitteln könnten:

1. das Vorhandensein magnetisierbaren Materials
2. Veränderung von Ionen- und Ligandenbewegung aufgrund verschiedener elektrischer Energieniveaus (Singlet-Triplet-Mischzustände)
3. die Larmor-Präzession geladener Teilchen.

Die Existenz magnetisierbaren Materials in Form kleinster Magnetminerale innerhalb der Zellen als eine Art Magnetrezeptor, der z.B. die Orientierung im Erdmagnetfeld bei Vögeln ermöglicht, gilt heute als erwiesen (49, 97). Darüber hinaus sind diese auch bei einer Reihe von Mikroorganismen gefunden worden. Zellulärer Ferromagnetismus ist aber bei der Mehrzahl aller Lebewesen nicht nachgewiesen. Zudem übersteigt die Komplexität und Sensitivität der gefundenen Effekte diesen Ansatz um ein Vielfaches.

Man vermutet, dass bestimmte Singlet-Triplet-Zustände von Molekülen Redox-Reaktionen beeinflussen können. Hier geht es darum, dass bei der Wechselwirkung eines Moleküls mit elektromagnetischer Strahlung das Molekül kurzzeitig Energie



aufnehmen und vom Grundzustand (Singlet) in einen angeregten Zustand (Triplet) überführt werden kann. Durch diese Energieaufnahme, die sich als Beschleunigung darstellt, soll die Passage der Ionen durch die Kanäle in der Zellmembran erleichtert werden. Während die Berechnung und Vorhersage der Grundzustände heutzutage mit Hilfe spezieller Programme auch dem Nicht-Experten möglich ist, verhält es sich grundlegend anders mit elektrisch angeregten Zuständen: ihre quantenchemische Beschreibung ist ungleich schwieriger und erfordert eine fundierte Kenntnis der zu Grunde liegenden Theorie sowie der Möglichkeiten und Grenzen verschiedener Näherungen, was die Erforschung besonders diffizil macht. Des Weiteren gibt es Kritiker dieser Theorie, die diesen Effekt als nur im Vakuum existent beschreiben (101). Folglich sind diese Mechanismen nach wie vor Gegenstand intensivster Forschung. Zwei Theorien, die hier nur namentlich erwähnt werden sollen, sind der Radikalpaar Effekt und die sog. Ion-Zyklotron-Resonanz (IZR) bzw. Ion-Parametrie-Resonanz (IPR).

Die Larmor-Präzession geladener Teilchen wird unter dem Abschnitt 1.6.4 Larmorpräzession und Kernspin-Resonanz näher erklärt.

Wie die oben genannten molekularen Phänomene die Wirkung der Magnetfeldtherapie im Einzelnen vermitteln ist auch heute noch Gegenstand der Forschung.

### **1.6.3 Humorale Wirkmechanismen der Magnetfeldtherapie**

Das Modell, das heutzutage breiteste Akzeptanz genießt, ist die biophysikalische Transduktion über veränderte Liganden-Rezeptor-Bindung an der Zelloberfläche, die ihrerseits verschiedenste Signalkaskaden in Gang setzt oder hemmt (15).

Eine Entdeckung, die diese Hypothese stark unterstützt, ist die Beobachtung, dass eine Vielzahl in Frequenz, Feldstärke und Applikationsform, unterschiedlichster Felder ähnliche oder gleiche klinische Effekte hervorrufen. Dieses gilt auch für ein physikalisch andersartiges Verfahren, wie die Ultraschalltherapie (44).

Die zwei Wege, über die eine solche Aktivierung vermutlich vermittelt wird, sind einerseits eine Signaltransduktion, die z.B. in vermehrter Synthese von extrazellulärer Matrix resultiert, auf der anderen Seite eine Induktion von Wachstumsfaktorproduktion und -sekretion.

Studien, die sich mit dem Thema Signaltransduktion beschäftigen, untersuchen zwei generelle Ansätze: zum einen die Aktivierung von transmembranen Kanälen, zum anderen die künstliche Aktivierung oder Blockade von transmembranen Rezeptoren.

Es konnte gezeigt werden, dass die Therapie mit einem kapazitiv gekoppelten elektrischen Feld die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöht, aber nur wenn keine Inhibitoren des Kalziumtransportes wie Verapamil, einem Kalziumkanalblocker; W-7 einem Calmodulin-Antagonist; Indocin, einem Hemmer der Prostaglandinsynthese oder Bromphenacyl-Bromid, einem Phospholipase A2-Inhibitor zugegen waren.

Im Gegensatz dazu hatte die Zugabe von Neomycin, einem Inhibitor der Inositolphosphat-Kaskade keine hemmende Auswirkung (54).

Brighton et al (15) kommen zu ähnlichen Ergebnissen. Darüber hinaus erkannten sie aber, dass auch die Hemmung der Kalziumfreisetzung aus intrazellulären Kalziumspeichern keinen Einfluss auf die Wirkung der angelegten Felder hat.

Dieses legt die Vermutung nahe, dass die Antwort der Knochenzellen auf die Therapie mit einem kapazitiv gekoppelten Feld durch den Kalziumeinstrom über membranständige, spannungsabhängige Kalziumkanäle vermittelt wird (54).

Luben et al untersuchten die Auswirkung von pulsierenden elektromagnetischen Feldern auf die Wirkung von Parathormon an Osteoblasten. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Exposition zu einer deutlich verringerten c-AMP-Aktivierung führte.

Sie kamen zu dem Schluss, dass die Felder die hemmende Wirkung des Hormones auf die Kollagensynthese blockierten (55).

Ein weiterer Erklärungsansatz ist die Auswirkung elektrischer und elektromagnetischer Felder auf die Produktion und Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren.

Heute ist eine große Anzahl von Zytokinen, Enzymen und Faktoren bekannt, die in einem engen Zusammenhang mit Veränderungen von Wachstum und Abbau von Knorpel und Knochen im Speziellen und extrazellulärer Matrix im Allgemeinen stehen (Enzyme wie z.B. Metalloproteinasen, Kollagenasen, Stromelysine, Aggrecanasen und Gelatinasen; Zytokine wie z. B. IL-1, TNF- $\alpha$ , Onkostatine M, IL-17, IL-18 und Wachstumsfaktoren wie z. B. IGF-1, TGF- $\beta$ , BMP).

Der Entzündungsmediator Interleukin-1 (IL-1) hat einen großen Anteil an der Entstehung der Arthrose (12). Er unterdrückt die Synthese des im hyalinen Knorpel vorkommenden Kollagens Typ II. Darüber hinaus verstärkt er die Synthese von Kollagen Typ I, einem in Faserknorpel stark vertretenen Kollagen.

IL-1 induziert wiederum die Produktion von Metalloproteinasen, die – je nach Subtyp – entweder anabol oder katabol wirken können und unterdrückt die Neusynthese von Proteoglykanen in den Chondrozyten. Diese sind ein bedeutender Anteil der extrazellulären Knorpelmatrix.

Außerdem hemmt IL-1 die Proliferation von Chondrozyten, induziert die Produktion von Stickoxid (NO) in den Knorpelzellen und bewirkt hier eine vermehrte Apoptose. Hauptbildungsort sind die Knorpelzellen und aktivierte Makrophagen (94).

Auf der anderen Seite stehen Wachstumsfaktoren wie der insulin-like growth factor-1 (IGF-1) oder der transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ). Diese Wachstumsfaktoren wirken zwar nicht direkt auf Entzündungsmediatoren wie IL-1, sie wirken aber antagonistisch über ihren anabolen Effekt (96). Im physiologischen, nicht destruierten Knorpel ist IGF-1 der wichtigste anabole Wachstumsfaktor des Erwachsenen.

Darüber hinaus konnten Eckenstedt et al (23) im Tiermodell nachweisen, dass bei IGF-1 defizienten Ratten der Schweregrad arthrotischer Knorpelveränderungen zunimmt.

TGF- $\beta$  stimuliert Chondrozyten normalerweise nur sehr schwach. Es kommt jedoch bei längerer Exposition der Chondrozyten mit diesem Wachstumsfaktor zu einer Veränderung des Phänotyps und damit zu einer Sensibilisierung gegenüber TGF- $\beta$ . Stimulation mit TGF- $\beta$  führt dann zu einer deutlichen Steigerung der Synthese von Proteoglykanen und zu einer Entkopplung von Entzündungsprozessen und Knorpelzerstörung (94).

Die durch diese Stoffe vermittelten Prozesse und ihre Interaktionen sind aber erst in Ansätzen bekannt und deshalb nicht ausreichend verstanden, um hier gezielt heilend eingreifen zu können. Das Verhältnis und Zusammenspiel der einzelnen Komponenten ist so komplex, dass eine therapeutische Intervention mit Blockade oder Stimulation eines einzelnen Metaboliten oft nicht die gewünschte Wirkung zeigt.

Ungeachtet dessen ist eine Vielzahl an Untersuchungen durchgeführt worden, die zum Ziel hatten, die Wirkung von Magnetfeldtherapie auf einen oder mehrere dieser Faktoren zu untersuchen. Dies ist einerseits natürlich interessant, um die grundlegenden Mechanismen der beobachteten Effekte zu identifizieren, andererseits kann dieser Erkenntnisgewinn helfen, das physiologische Zusammenspiel der einzelnen Faktoren besser zu begreifen.

Demgemäß konnten Fitzsimmons et al (28) zeigen, dass eine humane Zelllinie von

TE-85 Osteosarkom Zellen nach einer relativ kurzen „Therapiezeit“ von zehn Minuten mit einem kombinierten Magnetfeld (CMF) fünfmal mehr Insulin-like-growth-factor-II (IGF-II) produzierten bzw. sezernierten als die ohne Magnetfeld gehaltenen Zellen.

Die gleiche Arbeitsgruppe machte daran anschließend die Entdeckung, dass die Exposition dieser Zellen im Magnetfeld auch die Anzahl an exprimierten IGF-II-Rezeptoren erhöhte (27).

Die Konzentration sowohl der m-RNA für TGF- $\beta$  als auch des Proteins an sich kann durch Magnetfeldexposition gesteigert werden (8).

Des Weiteren weiß man, dass die Therapie mit gepulsten elektromagnetischen Feldern die Knorpelmasse erhöhen kann, die dann als Gerüst für Knochenwachstum fungiert (5).

Dies macht man sich in der Magnetfeldtherapie der behandlungsrefraktären Pseudarthrose zu Nutze (82).

Als möglichen Mechanismus dieser Effekte untersuchten Guerkov et al (36) die Zellen von humanem, sowohl hypertrophem als auch atrophem Pseudarthrosengewebe auf die Expression von TGF- $\beta$ . Die Hälfte dieser Zellen wurde mit einem gepulsten elektromagnetischen Feld behandelt. Das Resultat war eine, von der Behandlungszeit abhängige, Erhöhung des TGF- $\beta$ -Spiegels in der Kultur der exponierten Zellen, während sich die Konzentration in den Kontrollkulturen nicht änderte.

Andere wichtige Faktoren der Osteoblastenfunktion wie Proliferation, alkalische Phosphatase-Aktivität und Produktion von Prostaglandin E<sub>2</sub> werden durch die Magnetfeldtherapie vermutlich aber nicht verändert (8, 36).

Deshalb ist es wahrscheinlich, dass die klinischen Erfolge der Magnetfeldtherapie nicht ausschließlich auf Effekte an den Osteoblasten zurückzuführen sind.

Diese Schlussfolgerung führte zur Untersuchung von PEMF auf die Angiogenese.

Tepper et al (92) untersuchten humane Endothelzellen, Fibroblasten und Osteoblasten auf ihre Reaktion bei Behandlung mit PEMF im Vergleich zu einer jeweils nicht exponierten Kontrollgruppe. Während keine Änderung in der Konzentration von VEGF (vascular endothelial growth factor) zu beobachten war, konnte ein fünffacher Anstieg des FGF-II (fibroblast growth factor) sowie seiner m-RNA gezeigt werden.

Auch die Migration von sowohl Fibroblasten als auch Endothelzellen wurde durch die Therapie positiv beeinflusst.

Zusätzlich zu den In-vitro-Ergebnissen konnte gezeigt werden, dass auch die In-vivo-Angiogenese im Matrigel-Assay an transgenen Mäusen signifikant erhöht war.

Die Autoren folgern aus diesen Ergebnissen, dass die Fähigkeit der PEMF-Behandlung Frakturheilung zu unterstützen hauptsächlich auf die durch die Therapie gesteigerte Vaskularisation zurückzuführen ist.

Auch Yen-Patton et al (99) kamen zu dem Ergebnis, dass PEMF-Behandlung Angiogenese bei Endothelzellen in-vitro um den Faktor drei steigern kann.

Die oben genannten Studien zeigen zum Teil unterschiedliche, zum Teil gleiche und teilweise synergetische Effekte der Applikation von elektrischen und elektromagnetischen Feldern.

Zusammenfassend legt dieses die Annahme nah, dass die Wirkung der Magnetfeldtherapie höchstwahrscheinlich multifaktoriell vermittelt wird.

#### **1.6.4 Larmorpräzession und Kernspin-Resonanz**

Um zu verstehen, wie die Applikation elektrischer und elektromagnetischer Felder ihre Effekte vermittelt, muss man die molekularen Auswirkungen der Felder betrachten.

Die Grundlage für das Verständnis der von uns in therapeutischer Absicht benutzten Kernspin-Resonanz ist die Larmorpräzession.

Die Protonen und Neutronen der Atome und Moleküle besitzen einen Eigendrehimpuls den so genannten Kernspin. Vereinfacht kann man sich einen bewegten Kreisel vorstellen. Durch diesen Spin erhalten die Kerne ein magnetisches Moment.

Normalerweise liegen die Kerne ungeordnet, d. h. in alle Richtungen zeigend, im Gewebe vor (Abb.4).

Wird nun ein statisches Magnetfeld ( $M_1$ ) von außen angelegt, so richtet sich ein Atomkern in diesem Feld aus. Aufgrund seines Spins dreht sich der Kern nicht einfach, sondern er dreht seine Rotationsachse ( $R$ ) in Richtung des Magnetfeldes, während er sich weiterhin um diese Achse dreht, d.h. er präzediert (Abb.3).

Vereinfacht verhält er sich wie ein schlingernder Kreisel, der sich am Ende „fängt“ und dann wieder ruhig läuft.

Wird dieses Magnetfeld ( $M_1$ ) abgestellt, „fällt“ der Kern in seine ursprüngliche Lage zurück. Wiederum führt er eine Präzessionsbewegung aus.

Ein ähnliches Phänomen ist zu beobachten, wenn man ein zweites, zu M1 orthogonales, hochfrequentes Magnetfeld (M2) (oder einen hochfrequenten Radioimpuls) anlegt. Der Kern präzediert bis seine Rotationsachse parallel zu M2 liegt. Schaltet man M2 ab, so richtet sich der Kern wieder in Richtung von M1 aus.

Je größer der Winkel zwischen R und dem Magnetfeld M1 ist, umso mehr Energie erhält der Kern. Nach dem Abschalten von M2 und dem Rückfall in die M1-Position gibt der Kern diese Energie an seine Umgebung ab (Abb.6). Das Umklappen des Kerns aus dem ursprünglichen Feld M1 wird als Kernspinresonanz bezeichnet.

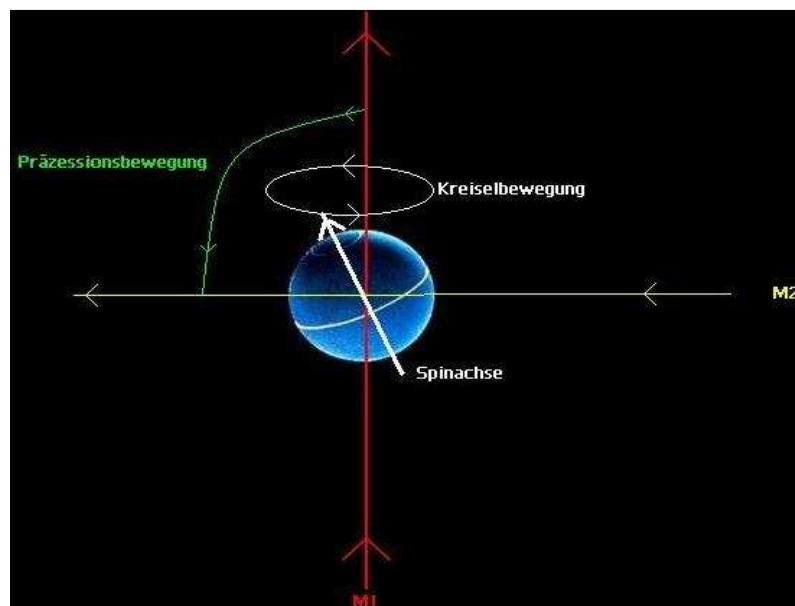


Abb.3: Mechanismus der Kernspinresonanz

Durch das Einbringen eines Hochfrequenzsignals können also Kerne zur Präzession gebracht werden.

Wenn dieses Signal lange genug aufrechterhalten wird, richten sich alle Kerne des exponierten Gewebes in einer Ebene aus. Die Kerne liegen entweder parallel oder antiparallel im Feld, wobei die parallele Ausrichtung etwas energieärmer und damit bevorzugt ist (Abb.5). Die zeitliche Ausrichtung erfolgt exponentiell. Stellt man nun das Signal ab, so kommt es durch Wechselwirkung mit den umgebenden Kernen (die zusammen ein "vibrierendes" Gitter bilden), zu einer Relaxation (*Spin-Gitter-Relaxation*), d.h. die Magnetisierungsvektoren richten sich wieder entlang des statischen Feldes M1 aus, Energie wird abgegeben.

Die Zeit bis die Ursprungsverteilung ca. 64 % ihres Ausgangswertes wieder erreicht hat, nennt man *Spin-Gitter-Relaxationszeit* oder auch T1-Zeit, was für das Verständnis des MRI (Magnet Resonance Imaging) besonders wichtig ist.

Durch den unterschiedlichen Aufbau verschiedener Atome und Moleküle und die unterschiedlichen Wechselwirkungen der einzelnen Teilchen hat jeder Kern einen anderen Spin und dadurch eine andere Resonanzfrequenz. Darüber hinaus verändert sich diese Frequenz proportional mit der Feldstärke eines angelegten Magnetfeldes. Diese Frequenz wird Larmorfrequenz genannt.

Durch entsprechende Feldstärke von M1 und geeigneter Wahl der Frequenz von M2 lässt sich bei bekannter Larmorfrequenz genau bestimmen, welche Kerne angeregt werden (65).

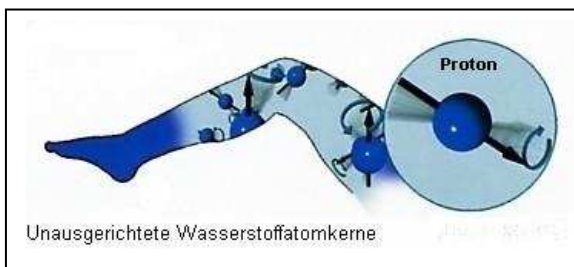


Abb.4: Zustand vor Anlage des statischen Magnetfeldes (ungeordnete Lage der Kerne)



Abb.5: Zustand im statischen Magnetfeld (geordnete, parallele oder antiparallele Lage der Kerne)



Abb.6: Zustand nach Einschalten des Störfeldes (M2) (Präzession der Kerne)

### 1.6.5 Was ist MBST™?

MBST™ (Multi Biosignal Therapie) ist ein Verfahren, das der Magnet-Resonanz-Tomographie (MRI), die bereits eine breite Anwendung im klinischen Alltag findet, eng verwandt ist.

Die klinische Erfahrung mit Arthrosepatienten zeigte, dass ein Teil von ihnen nach stattgehabter MRI eine subjektive Beschwerdebesserung von zum Teil beachtlichem Ausmaß erlebte.

Diese Beobachtung und entsprechende, bei der Magnetfeld-Therapie erzielten Erfolge führten zur Entwicklung des MBST™-Gerätes der Firma MedTec.

Die physikalische Grundlage der MBST™ ist die Kernspinresonanz, die im Detail unter 1.6.4 Larmorpräzession und Kernspinresonanz beschrieben wurde.

Für die therapeutische Anwendung der MBST™ sind bestimmte Parameter definiert, die sich von dem Einsatz der Kernspinresonanz (KSR) im Rahmen der Bildgebung unterscheiden. Die bei der MBST™ eingesetzten Magnetfelder und die entsprechenden KSR-Frequenzen sind wie folgt definiert:

- Stärke des Kernspinmagnetfeldes: 0,4 mT bis 2,35 mT je nach Behandlungssystem (unterschiedliche Systeme für Arthrose, Osteoporose, Rückenschmerz usw.)
- Kernspinresonanzfrequenzen: 17 KHz bis 100 KHz je nach Behandlungssystem (diese Frequenz muss der Larmorfrequenz entsprechen und verändert sich je nach Stärke des jeweiligen Magnetfeldes)

Nach jeder KSR-Sequenz wird die Magnetisierung umgepolt (Energie-Austausch) und die Protonen strahlen gleichzeitig ein KSR-Signal (Energie) im Bereich der oben genannten Larmorfrequenz in die Umgebungszellen ab.

Für KSR-Verfahren müssen folgende Bedingungen erfüllt sein:

- Das Wechselfeld (M2) muss senkrecht zu dem statischen Feld (M1) stehen.
- Die Frequenz des Wechselfeldes ist korreliert mit dem statischen Feld (die Larmorfrequenz der Protonen ändert sich proportional zu der Feldstärke des statischen Feldes)



- Zwischen zwei konsekutiven KSR-Sequenzen muss eine Mindestzeit folgen um die Protonen-Magnetisierung wiederherzustellen (etwa 5 – 50 Hz Repetitionsrate, gewebeabhängig).

Zusätzlich wird mit Hilfe einer „Sweep-Spule“ die Stärke des Magnetfeldes langsam sinusförmig geändert, um für alle Protonen die Kernspinresonanzbedingung zu erfüllen.

Hierbei wird zeitgleich mit jeder Abnahme der Feldstärke der Radioimpuls (M2) gesendet. Diese KSR-Sequenz wird im Englischen als „Fast-Adiabatic-Passage“ (FAP) bezeichnet.

Der wesentliche Vorteil des schnellen adiabatischen Durchlaufes (FAP) besteht darin, dass eine effektive Spininvertierung auch in Feldern mit relativ großer Magnetfeld-Inhomogenität erreicht werden kann.



Abb.7: Steuergerät der MBST™-Spule



Abb.8.:Prototyp der von uns genutzten MBST™-Spule

Über die in Abb.7 gezeigte Steuereinheit wird das MBST™-Gerät bedient. Die jeweiligen Therapieparameter (Feldstärke, Resonanzfrequenz und Behandlungszeit) werden über Chipkarten vor Behandlungsbeginn in das Gerät eingelesen. Je nach Entität stehen dem Anwender verschiedene Behandlungsmodelle in Form verschiedener Chipkarten zur Verfügung.

Die Feldstärke der zur Behandlung genutzten Felder entspricht etwa 1/10.000 der Feldstärke, die im Bereich der Kernspinresonanztomographie Anwendung findet. Nach heutigem Kenntnisstand ist die Therapie damit unschädlich (37, 91).

## 2 Material und Methode

### 2.1 Tiere

Bei den in dieser Versuchsreihe verwendeten Tieren handelte es sich um zwölf männliche Kaninchen der Rasse „Neuseeland-weiß“ (Fa. Peter Rollié, Oelde, Deutschland). Alle Tiere waren ausgewachsen, skelettreif und wogen  $3366\text{g} \pm 188\text{g}$ .

Die Verwendung des Kaninchenmodells zu Erforschung der Osteoarthrose entspricht aufgrund der standardisierten und reproduzierbaren Ergebnisse und der starken Korrelation mit der humanen Arthrose einem Standardmodell der heutigen Wissenschaft.

Die Tiere wurden insgesamt 14 Wochen in einem Käfig mit Plastikboden der Größe III (Maße: 100 cm × 70 cm × 40 cm) bei 20°- 22° C gehalten.

Die Beleuchtung wurde in einem Zwölfstundenintervall geregelt, um Tag- und Nachtphasen zu simulieren.

Wasser und Futter wurden ad libitum zur Verfügung gestellt.

### 2.2 Operationsmethode

Alle Eingriffe wurden in Form einer parenteralen Mischanästhesie mit 0,5 ml (20mg/ml) Xylacin Hydrochlorid und 1,5ml (100mg/ml) Ketamin Hydrochlorid durch eine i.m.- Applikation in die Paravertebralmuskulatur eingeleitet. Nach ca. fünf Minuten trat bei den Tieren eine suffiziente Anästhesie und Narkose für eine Periode von ca. 30 bis 45 Minuten ein. Innerhalb dieses Zeitraumes war es möglich, das jeweilige Tier für die Operation vorzubereiten (Rasur, steriles Abwaschen des OP- Bereiches) und die Operation an beiden Hinterläufen durchzuführen.

Die zu operierenden Hinterläufe wurden mit gefärbtem Alkohol 80% vol. desinfiziert und es wurde ein steriles Operationsfeld durch Stoff- und Papierabdeckung hergestellt. Während der Operation lagen die Tiere in einer möglichst stabilen und sicheren Rückenlage. Somit waren die Hinterläufe gut fixiert und konnten optimal eingesehen werden. Die Atmung sowie die Pupillenreflexe konnten permanent überprüft werden, ohne das Operationsfeld zu tangieren.

Nach einer antero-medialen, parapatellaren Inzision der Haut von ca. 4 cm wurde die Patella nach lateral luxiert und das Kniegelenk unter Darstellung des vorderen Kreuzbandes eröffnet. Das vordere Kreuzband wurde 1-2 Millimeter defektstreckig durchtrennt (vgl. Abb.9 u. 10). Zur Überprüfung der Kniegelenksinstabilität wurde intraoperativ der Lachmann-Test durchgeführt (10).

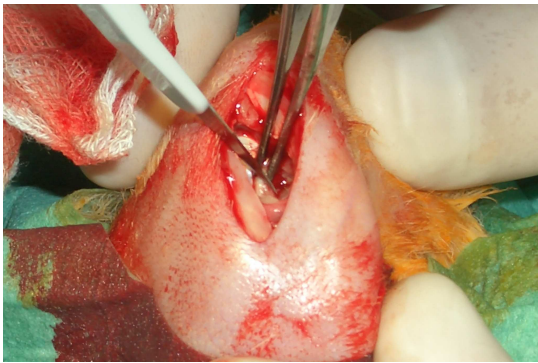


Abb.9: Intraoperative Darstellung des VKB

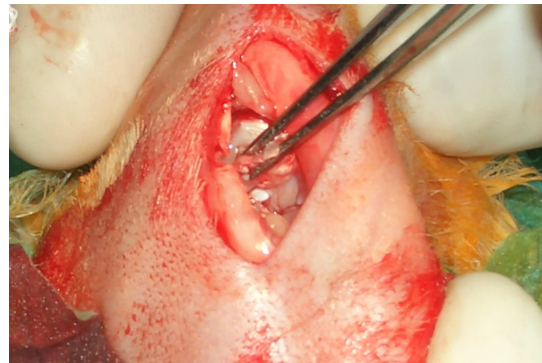


Abb.10: Kreuzbandstumpf nach Durchtrennung

Es erfolgte die Spülung des Gelenkes mit NaCl-Lösung 0,9 %. Anschließend wurde die physiologische Rekonstruktion der Kniegelenkscapsel durch einen resorbierbaren Faden (5-0 Vicryl) vorgenommen, der Hautverschluss erfolgte ebenfalls durch einen resorbierbaren Faden (5-0 Vicryl) um sowohl einer Inokulation des Fadens durch das Tier als auch einem neuerlichen Stress für das Tier durch Fadenentfernung vorzubeugen.

Postoperativ konnten sich die Tiere frei in ihren Käfigen bewegen. In den folgenden zwölf Wochen wurden sie täglich auf ihren Gesundheitszustand hin untersucht, um frühzeitig eventuelle Infektionszeichen oder postoperative Komplikationen zu erkennen. Die Wundverhältnisse der Tiere wiesen weder Anzeichen von Heilungsstörungen auf noch musste eine Sekundärnaht gezogen werden. Die Tiere tolerierten die stattgefundenene Wundversorgung ausnahmslos gut.

## 2.3 Therapie

Nach der zwölfwöchigen Phase freier Bewegung wurden die Tiere in zwei Gruppen randomisiert.

Der Therapiegruppe wurden sieben, der Kontrollgruppe vier Individuen zugeteilt, da ein Tier postoperativ, vor der Randomisierung paravertebrale Abszesse entwickelt hatte und aus der Studie herausgenommen werden musste.

Für die jeweilige Therapiesitzung wurden die Kaninchen initial durch eine intramuskuläre, paravertebrale Injektion mit 1,5ml Ketamin (100mg/ml) und 0,5ml Xylazin (20mg/ml) sediert.

Diese Sedierung wurde dann bei jedem Kaninchen individuell durch eine niedriger dosierte Gabe für eine Stunde aufrecht gehalten. Die Menge an Sedativa konnte in allen Fällen gering gehalten werden, da die anschließende Therapie für die Tiere schmerzfrei war.

Nachfolgend wurden immer zwei Kaninchen zeitgleich in der durch die Firma MedTec, zur Verfügung gestellten MBST™-Spule gelagert und eine Stunde dem dort herrschenden Magnetfeld (20-40 Gauss Permanentmagnetfeld; 2,35 mT, 100 KHz Störfeld, lt. Fa. MedTec) ausgesetzt (Abb.12).



Abb.11: Therapiespulen mit Auflageplateau für Kaninchen

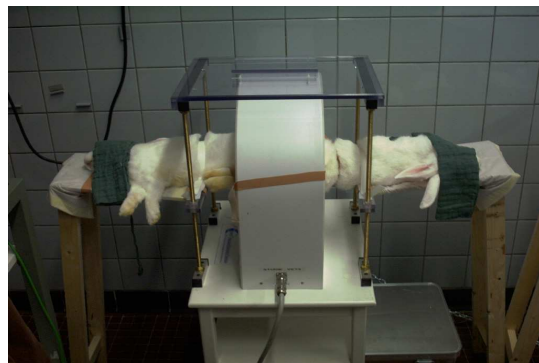


Abb.12: Therapiesitzung mit 2 sedierten Kaninchen.  
Die Op-Tücher (grün) dienen der Reizabschirmung

Die Tiere der Kontrollgruppe wurden sediert und entsprechend gelagert. Da in den Therapiegeräten konstruktionsbedingt ein nicht abschaltbares permanentes Magnetfeld von 20-40 Gauss herrscht, wurden die Tiere nicht in den Spulen gelagert. Somit war es möglich, in Bezug auf die äußeren Einflüsse und die versuchsnotwendigen Faktoren für alle Tiere die gleichen Voraussetzungen zu schaffen.

Direkt nach der Therapiesequenz wurden die Tiere wieder in ihre Käfige gebracht, wo sie unter engmaschiger Kontrolle langsam erwachen konnten. Die Kaninchen konnten

sich danach frei in ihren Käfigen bewegen. Dieses Procedere wurde an sieben aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Auf die einwöchige Therapiephase folgte ein einwöchiges Intervall freier Bewegung in den Käfigen.

In der Therapiewoche wurde bei keinem Tier ein Narkosezwischenfall beobachtet. Auch die Aufwachphasen gestalteten sich problemlos.

## 2.4 Tötung und Probenentnahme

Am Tag der Tötung wurden die Kaninchen durch eine intramuskuläre Injektion mit Ketamin (10 %, Sanofi-CEVA GmbH) und Xylazin (2 %, CEVA) anästhesiert und danach mit einer intrakardialen Injektion von T61® getötet.

Jedes Knie wurde mit 2ml Kochsalzlösung (0,9 %) gespült und wurde anschließend punktiert, um die Synovialflüssigkeit zu gewinnen.

Die Hinterläufe wurden im Hüftgelenk exartikuliert und im Folgenden präpariert.

Daraufhin erfolgte die geblindete makroskopische Untersuchung der Kniegelenke durch zwei Untersucher, wobei die Palpation der Kniegelenke zur Überprüfung des Gelenkergusses schon vor der Spülung erfolgt war (siehe 2.5.1).

Nach der Exartikulation des Kniegelenkes wurden die Tibia- und Femurmetaphyse von der jeweiligen Diaphyse mit einer Knochensäge unter Kühlung getrennt.

Die Gelenkflächen des Tibiaplateaus wurden dann mit Hilfe eines Skalpell in ihren medialen und lateralen sowie ihren ventralen und dorsalen Anteil geteilt (vgl. Abb.:13) und in Formalin fixiert.

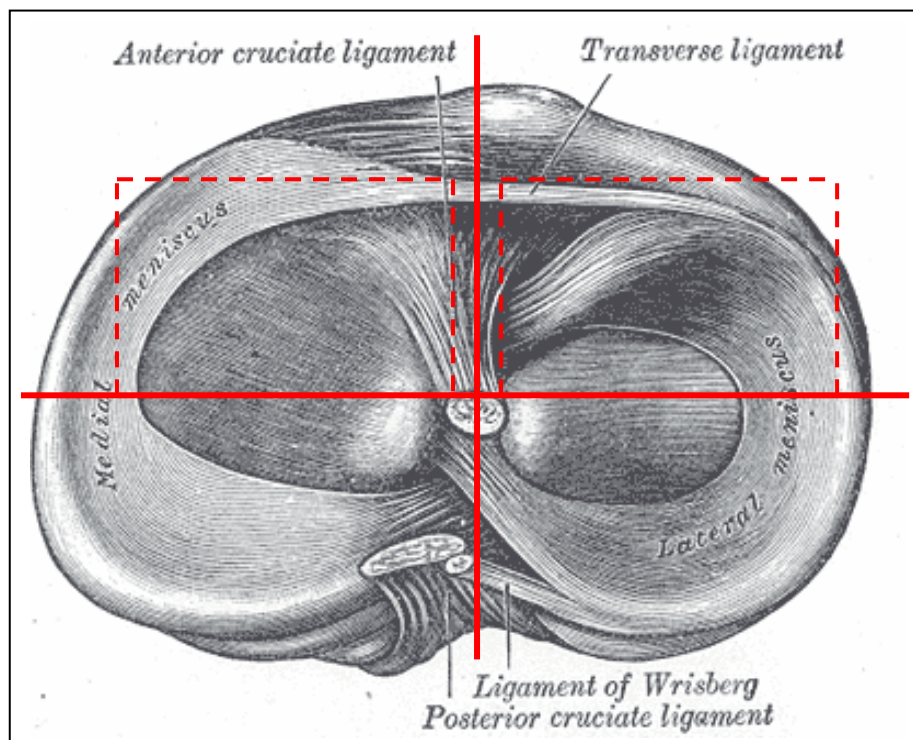


Abb.13: Darstellung der Schnittführung für die histologische Auswertung;  
gestrichelt: "zone of interest"

## **2.5 Aufarbeitung der Proben**

### **2.5.1 Gewinnung der histologischen Schnitte**

Nach der Fixierung der Tibiaplateauanteile in Formalinlösung (40 % gepuffertes Formalin) über eine Woche wurden die Proben für zwölf Wochen in EDTA (20 %; pH 7,4) bei 37°C entkalkt. Die entkalkten Proben wurden über Nacht mit fließendem Leitungswasser gespült und dann nach folgendem Schema entwässert:

Lagerung jeweils eine Stunde in 50 % und 60 % danach jeweils zwei Stunden in 70 % und 80 % und je drei Stunden in 80 % und 96 % Isopropylalkohol. Anschließend Lagerung über Nacht in 96 % Isopropylalkohol bei 45°C. Es folgte die Entwässerung für zweimal vier Stunden in 100 % Isopropylalkohol und über Nacht in gleicher Lösung. Daran schloss sich eine Lagerung über zweimal zwei Stunden in Xylol an, worauf eine Lagerung über zwei und drei Stunden in Paraffin folgte.

Zuletzt wurden die Proben über Nacht bei 60°C in Paraffin gelagert und am folgenden Tag mittels der Einbettstation AP280 der Firma Microm in Paraffin eingebettet.

Die Blöcke wurden auf einer Kühlplatte über einige Minuten ausgehärtet. Es wurden mit dem Schlittenmikrotom der Firma Leica 5 µm dicke Schnitte angefertigt.

Diese Schnitte wurden anschließend auf handelsüblichen Objektträgern fixiert und dann im Wärmeschrank bei 60°C gestreckt.

### **2.5.2 Färbeverfahren**

#### **Hämatoxilin-Eosin-Färbung (HE)**

Die Schnittpräparate wurden für zweimal fünf Minuten in Xylol und dann jeweils in absteigender Reihe fünf Minuten in 100 %, 96 %, 70 % Ethanol und in destilliertem Wasser entparaffiniert. Anschließend wurden die Proben für fünf Minuten in die Färbelösung Hämalaun nach Mayer gegeben und dann für zehn Minuten unter

fließendem Wasser gebläut. Es folgte eine Färbung mit Eosin für zwei Minuten. Im Anschluss wurden die Schnitte kurz mit 70 % Ethanol abgespült. Die Proben wurden dann in einer aufsteigenden Alkoholreihe zwei Minuten in 96 % Ethanol, zweimal fünf Minuten in 100 % Ethanol und zweimal fünf Minuten in Xylol hochgeführt und mit Eukitt eingedeckt.

Die so entstandene Färbung stellt Zellkerne, Kalk und Knorpelsubstanz blau dar, während sich Zytoplasma, Kollagenfasern, Bindegewebe und Erythrozyten in verschiedenen Rottönen einfärben (vgl. Abb.14)

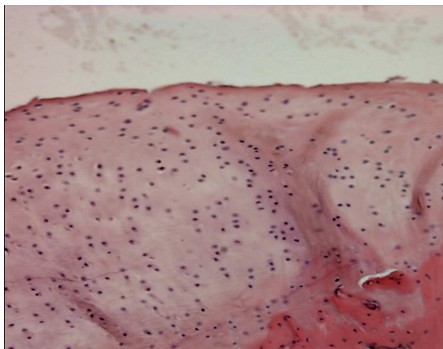


Abb.14: HE-Präparat des Knorpels

### **Safranin-O-Färbung**

Zur Herstellung dieser Färbung wurden die Schnitte in der absteigenden Alkoholreihe über zweimal fünf Minuten Xylol, je fünf Minuten 100 %, 96 % und 70 % Ethanol und fünf Minuten destilliertes Wasser entparaffiniert. Nach vierminütiger Färbung mit Weigert's Eisenhämatoxilin (Merck, Lösung A und B in Mischung 1:1) wurden die Proben kurz in angesäuerten Alkohol (1 ml konzentrierte Salzsäure in 100 ml 70 % Alkohol) gegeben. Anschließend wurden sie mit Leitungswasser für fünf Minuten fließend gewässert. Es folgten eine dreiminütige Färbung mit Echtgrün 0,02 %, 30 Sekunden Spülung mit 1 % Essigsäure und eine Färbung mit Safranin-O für fünf Minuten. Dann wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe über je fünf Minuten 70 %, 96 % Ethanol, zweimal fünf Minuten 100 % Ethanol und zweimal fünf Minuten Xylol entwässert und mit Eukitt eingedeckt.



Nach der Färbung mit Safranin-O sind die Proteoglykane rot, das Zytoplasma grün und die Zellkerne schwarz angefärbt (vgl. Abb.15).



Abb.15: Safranin-O-Präparat des Knorpels

### Masson-Goldner

Die Schnittpräparate wurden zu Anfang zehn Minuten in Xylol und dann jeweils zweimal in absteigender Reihe 30 Sekunden in 100 %, 96 % und 70 % Ethanol und in destilliertem Wasser entparaffiniert. Nach vierminütiger Färbung mit Weigert's Eisenhämatoxilin (Merck, Lösung A und B in Mischung 1:1) wurden die Proben für fünf Minuten unter fließendem Leitungswasser und für 30 Sekunden mit 1 % Essigsäure gespült.

Die Spülung mit 1 % Essigsäure wurde ebenfalls nach folgenden drei Färbeschritten für 30 Sekunden durchgeführt:

1. Färbung mit Azophloxin-Lösung für zehn Minuten,
2. Färbung mit Phosphorwolframsäure-Orange G-Lösung für eine Minute und
3. Färbung mit Lichtgrün-SF für zwei Minuten.

Schließlich wurden die Proben in einer aufsteigenden Alkoholreihe über je 30 Sekunden (70 %, 96 % und dreimal 100 %) und zweimal fünf Minuten in Xylol entwässert und ebenfalls mit Eukitt eingedeckt.

Die Mason-Goldner-Färbung bietet folgende Vorteile: Sie kann an Formalin fixiertem Material durchgeführt werden und Bestandteile wie Muskulatur, Zytoplasma und Erythrozyten können nach einer Kernfärbung mit Weigert's Eisenhämatoxylin mit

Azophloxin und Orange-G-Lösung angefärbt werden. Das Bindegewebe wird anschließend mit Lichtgrün-SF- Lösung gegengefärbt.

Mit Hilfe dieses Färbekittes werden Zellkerne (braun-schwarz), Zytoplasma (ziegelrot), Erythrozyten (orange- gelb) sowie das Bindegewebe (grün) angefärbt (vgl. Abb.16)

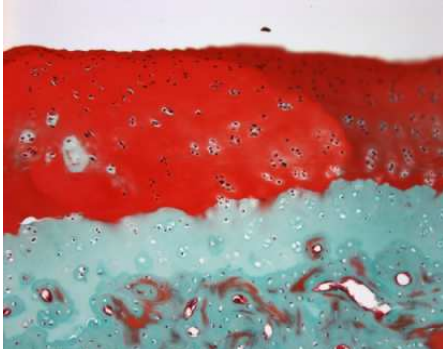


Abb.16: Masson-Goldner-Präparat des Knorpels

### 2.5.3 Mikroskopische Auswertung

Die mikroskopische Auswertung erfolgte durch zwei geblindete Untersucher, die die Proben anhand des Mankinscores (60) bewerteten. Dabei wurden die mit Hämatoxylin-Eosin und Safranin-O gefärbten Schnitte nach den Kriterien Struktur, Zellverteilung und -dichte, Anfärbbarkeit mit Safranin-O und Intaktheit der Knorpel-Knochen-Grenze beurteilt.

Die den Ergebnissen entsprechenden Punktwerte (vgl. Tab.2) wurden addiert und es ergaben sich Werte zwischen 0 (keine arthrotischen Veränderungen) und 14 (arthrotische Destruktion im Endstadium).

Um eine bessere Beurteilung des Gesamtpräparates zu gewährleisten, wurde der jeweilige Einzelscore an drei Bildausschnitten an unterschiedlichen Stellen des Präparates bestimmt. Aus diesen zwölf Einzelwerten (pro Kriterium) wurde dann der Median bestimmt.

I	Struktur	Grad	III	Safranin-	Grad
	Normal	0		normal	0
	Oberflächenunregelmäßigkeiten	1		geringfügige Reduktion	1
	Pannus, Oberflächenunregelmäßigkeiten	2		mäßige Reduktion	2
	Risse bis in die Übergangszone	3		starke Reduktion	3
	Risse bis in die Radiärzone	4		keine Färbung nachweisbar	4
	Risse bis in die verkalkte Zone	5			
	Komplette Desorganisation	6			
II	Zellen		IV	Integrität der Knorpel-	
	normal	0		intakt	0
	Diffuse Hyperzellularität	1		Von Blutgefäßen durchzogen	1
	Cloning	2			
	Hypozellularität	3			

Tab.2: Kriterien des Mankinscores

## 2.5.4 Makroskopische Auswertung

Vor der histologischen Aufarbeitung der Knochen wurden die entnommenen Kniegelenke von zwei Untersuchern geblindet anhand der Methode von Tibesku et al (93) auf vier makroskopische Arthrosekriterien beurteilt. Es wurde das Auftreten von Fibrillationen und Ulzerationen des Knorpels, das Ausmaß osteophytärer Anbauten und das Bestehen eines Ergusses bewertet.

Den makroskopischen Befunden wurde nach Schweregrad ein Punktwert (vgl. Tab.3) zugeordnet und die Einzelpunktwerte wurden addiert.

Es ergaben sich Gesamtpunktwerte zwischen 0 und 11, wobei ein Punktwert von 0 einer makroskopisch gesunden Gelenkfläche und ein Punktwert von 11 einer makroskopisch hochgradigen Arthrose entspricht.

I	Fibrillationen	Grad
	keine	0
	gering	1
	mittelgradig	2
	ausgeprägt	3
II	Ulzerationen	
	keine	0
	kleinflächig	1
	großflächig	2

III	Osteophyten	Grad
	keine	0
	gering	1
	mittelgradig	2
	ausgeprägt	3
IV	Erguss	
	kein	0
	gering	1
	mittelgradig	2
	groß	3

Tab.3: Kriterien des makroskopischer Arthroscorcs

## 2.5.5 Statistische Methodik

Die statistische Auswertung dieser Arbeit wurde mit Hilfe der Statistiksoftware SPSS 11.5 durchgeführt. Beim Vergleich der Gruppen mit den entsprechenden Kontrollgruppen wurde, nach Rücksprache mit dem Institut für Biomathematik der Westfälischen Wilhelms Universität Münster, der Man-Whitney-U-Test verwendet. Das Signifikanzniveau dieser Arbeit wurde mit  $p < 0,05$  angesetzt.

Da es sich bei den von uns erhobenen Ergebnissen um Zahlen auf Ordinalskalen-Niveau handelt und somit Mittelwertsberechnungen nicht durchgeführt werden können, wurde aus den Einzelwerten der mikroskopischen Scores der Median errechnet.

Der Median der Einzelwerte wurde dann zur statistischen Analyse verwendet.

Weil bei dem makroskopischen Score nur ein Wert pro Kriterium erhoben wurde, war dies hier nicht nötig.

Aufgrund des Ordinalskalen-Niveaus der erhobenen Werte konnte eine Poweranalyse nicht durchgeführt werden. Durch der Verwendung des Man-Whitney-U-Tests war dieses aber auch nicht erforderlich.

Die Nullhypothese, die widerlegt werden sollte lautete: Die Kernspin-Resonanz-Therapie hat keinen Einfluss auf die Knorpelmorphologie bei der posttraumatischen Arthrose.

### 3 Ergebnisse

Die Versuchsreihe wurde mit zwölf männlichen Kaninchen der Rasse „Neuseelandweiß“ durchgeführt.

Zum Zeitpunkt der Operation wogen die Tiere durchschnittlich  $4006\text{g} \pm 528\text{g}$ .

Bei der Tötung lag das durchschnittliche Gewicht der Tiere bei  $3953\text{g} \pm 368\text{g}$ .

Prä- und Intraoperativ kam es zu keinerlei Komplikationen jedoch bildeten sich bei einem Kaninchen sieben Tage postoperativ multiple paravertebrale Abszesse, infolgedessen das Tier aus der Studie genommen werden musste. Ansonsten gestaltete sich der postoperative Heilungsverlauf bei allen anderen Tieren komplikationslos.

Zum Zeitpunkt der Tötung ließ sich bei allen Kaninchen die vollständige Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes bei ansonsten – soweit beurteilbar – intakten Bandverhältnissen erkennen.

#### 3.1 Makroskopische Ergebnisse

Nach der Tötung und Entnahme der Kniegelenke wurden diese von zwei geblindeten Untersuchern nach folgenden makroskopischen Kriterien untersucht :

- A : Fibrillationen
- B : Osteophyten
- C: Ulzerationen
- D : Erguss

Den Ergebnissen wurde jeweils ein Punktwert zugeordnet und diese Punktwerte anschließend zu einem Gesamtscore addiert.

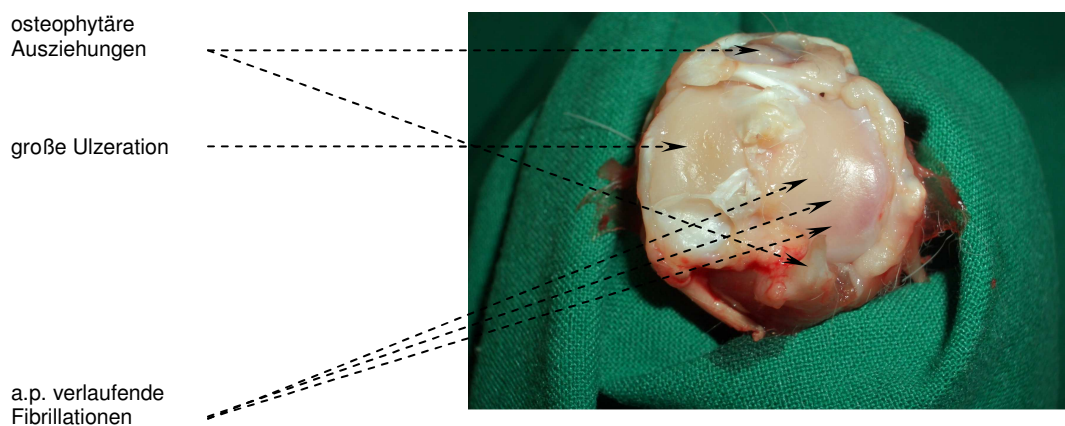


Abb.17: Aufsicht auf Tibiaplateau mit arthrotischen Veränderungen

## A Fibrillationen

Bei den untersuchten Knien wurde auf die Anzahl der erkennbaren „Riefen“ geachtet. Von den 14 untersuchten Tibiaplateaus der Therapiegruppe wies eines geringe Fibrillationen auf, bei sechs zeigten sich mittelgradige Fibrillationen und in sieben Fällen ließen sich ausgeprägte Fibrillationen erkennen.

In der Kontrollgruppe wiesen drei der acht Gelenke geringe, ebenfalls drei Gelenke mittelgradige und zwei ausgeprägte Fibrillationen auf.

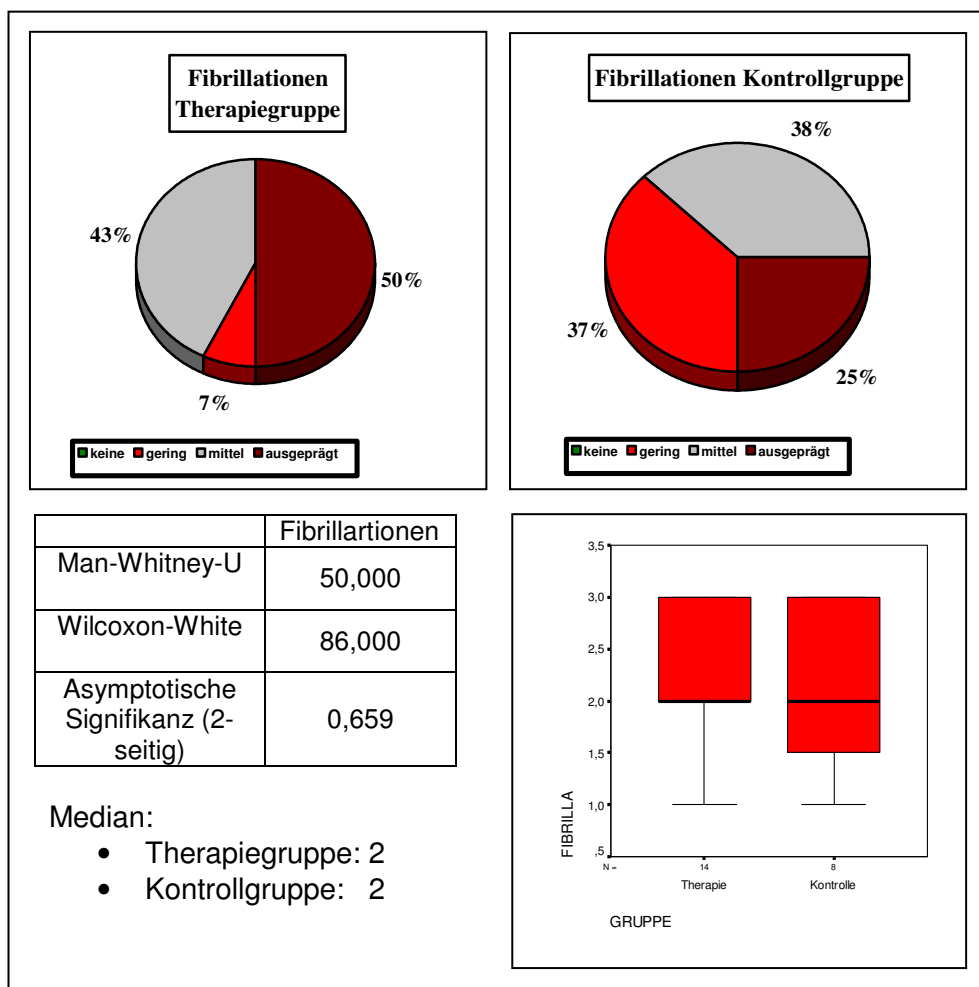


Abb.18: Ergebnis Fibrillationen der Makroskopie

## B Osteophyten

Bei der Untersuchung auf Osteophyten wurde sowohl die Anzahl als auch die Größe der knöchernen Anbauten berücksichtigt.

Osteophytäre Anbauten unterschiedlicher Ausprägung ließen sich in allen 22 Kniegelenken erkennen.

Im Einzelnen wiesen drei Knie der Therapiegruppe eine geringe, drei Gelenke eine mittelgradige und acht Kniegelenke eine ausgeprägte Osteophytenbildung auf.

In der Kontrollgruppe zeigten sich bei fünf Kaninchen geringe osteophytäre Anbauten, bei einem Tier mittelgradige und bei zwei Tieren ausgeprägte.

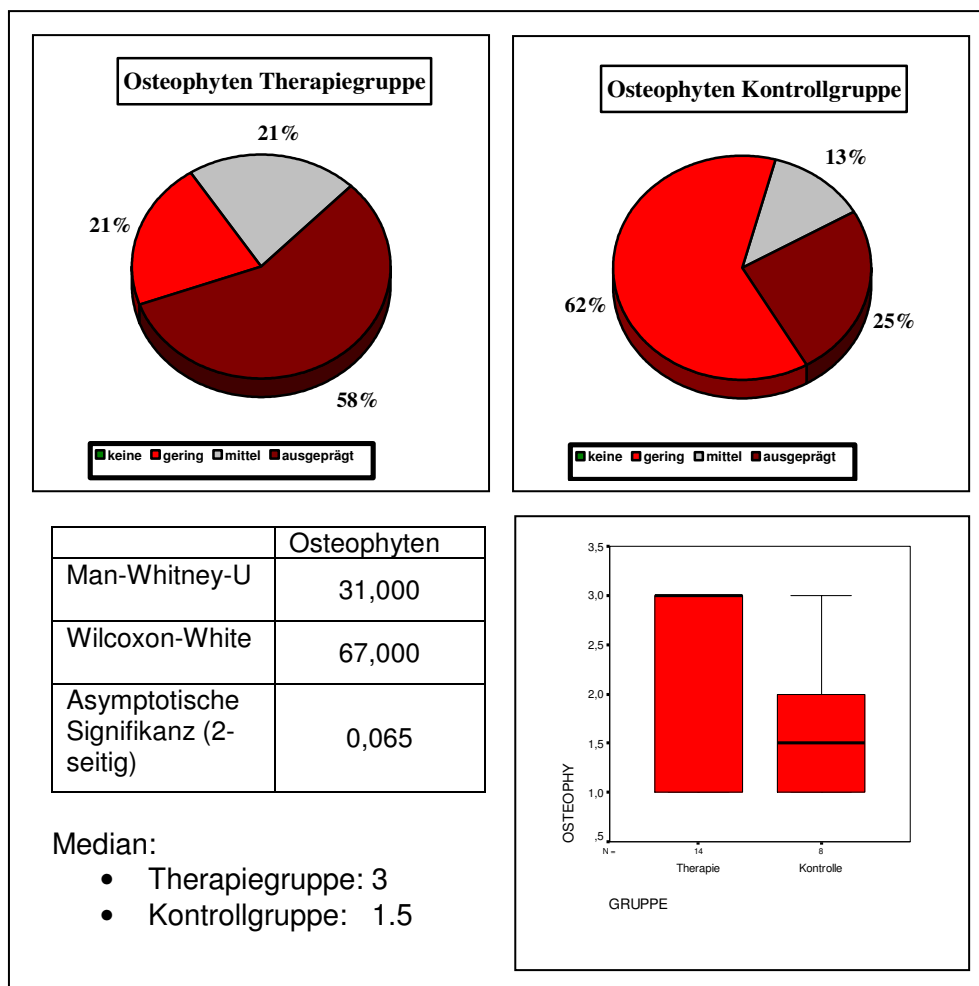


Abb.19: Ergebnis Osteophyten der Makroskopie

### C Ulzerationen

Das Kriterium zur Bewertung der Knorpeldefekte war die Größe der jeweils erkennbaren Ulzeration.

Auf allen entnommenen Tibiaplateaus waren Ulzerationen als Zeichen der Arthrose zu erkennen. Fünf Plateaus der Therapiegruppe ließen kleinflächige Ulzerationen erkennen, während sich bei neun Plateaus großflächige Ulzerationen zeigten.

In der Kontrollgruppe zeigten sich auf sieben Plateaus kleine Ulzerationen und auf einem große Ulzerationen.

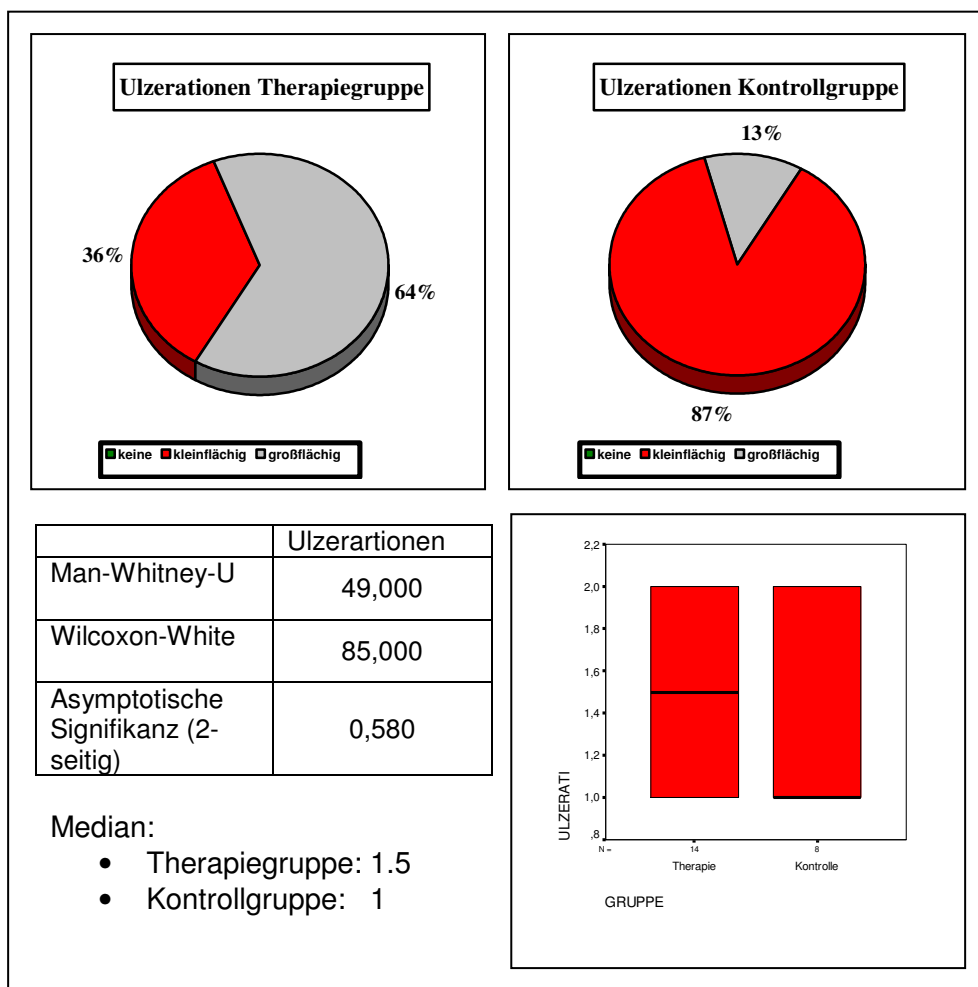


Abb.20: Ergebnis Ulzerationen der Makroskopie



## D Erguss

Das Kriterium bei dieser Untersuchung war die Menge an Flüssigkeit, die sich vor Eröffnung des Kniegelenkes jeweils palpieren ließ. Überstieg die Menge der danach entnommenen Synovialis 1ml so galt dies als großer Erguss.

Bei fünf Knien der Therapiegruppe ließ sich eine geringe Ergussmenge nachweisen, während sich in drei Knien eine mittlere Flüssigkeitsmenge fand.

Fünf der Knie der Therapiegruppe hatten einen großen Erguss.

In einem Knie ließ sich die Menge nicht objektiv bestimmen.

Bei der Kontrollgruppe ließ sich in zwei Knien kein Erguss nachweisen, drei der Tiere hatten einen geringen Erguss gebildet, eines einen mittleren und bei zweien fand sich eine große Ergussmenge.

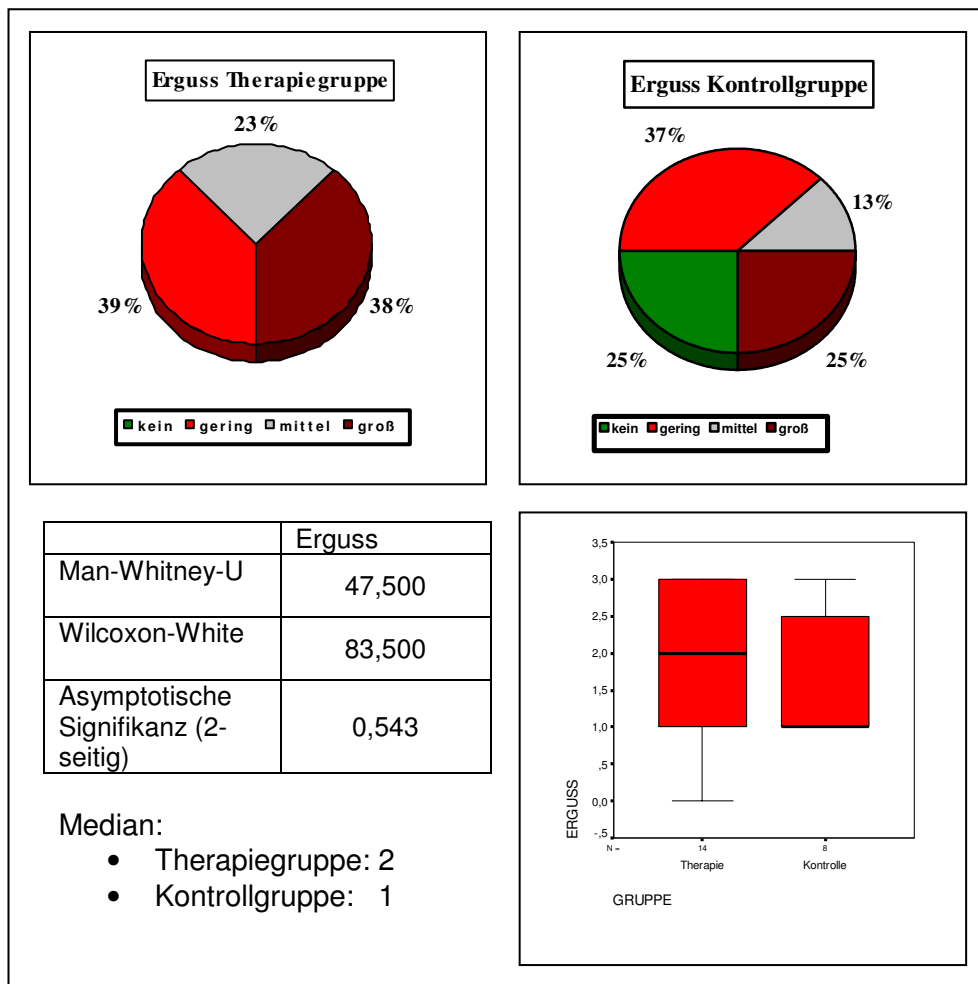


Abb.21: Ergebnis Erguss der Makroskopie

### 3.2 Makroskopischer Gesamtscore

Es wurden insgesamt 22 Kniegelenke auf makroskopische Zeichen einer Arthrose untersucht. Bei allen Tieren, sowohl der Therapiegruppe als auch der Kontrollgruppe, waren arthrotische Veränderungen unterschiedlichen Ausmaßes zu erkennen.

Die Ergebnisse der makroskopischen Einzelscores der beiden Gruppen unterschieden sich nicht statistisch signifikant:

- Fibrillationen 2 vs. 2  $p = 0,659$
- Osteophyten 3 vs. 1.5  $p = 0,065$
- Ulzerationen 1.5 vs. 1  $p = 0,580$
- Erguss 2 vs. 1  $p = 0,543$ .

Ebenso unterschieden sich Therapie- und Kontrollgruppe in der ermittelten Gesamtscore nicht statistisch signifikant voneinander (8,5 vs. 6,5  $p = 0,111$ ).

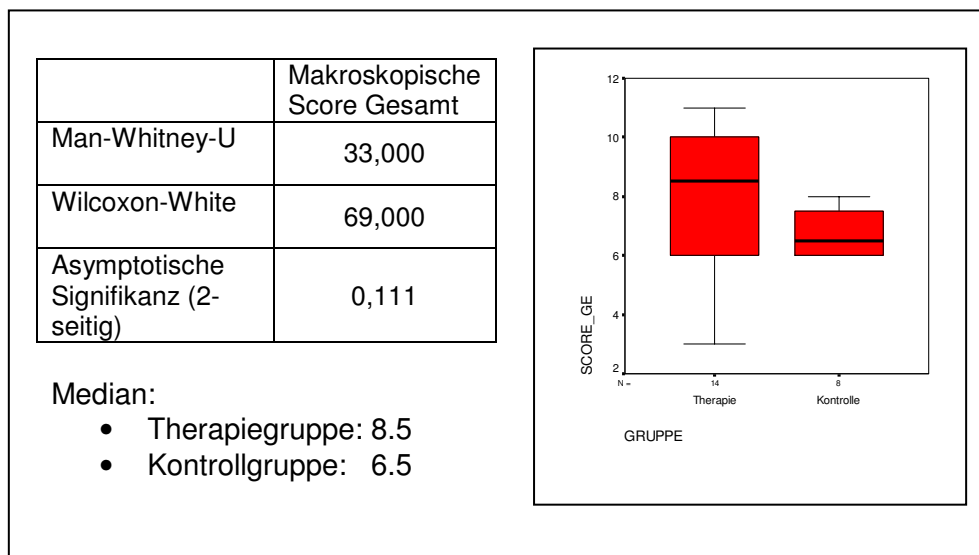


Abb.22: Gesamtergebnis der Makroskopie

### 3.3 Histologische Ergebnisse

Von den 22 Plateaus wurden histologische Präparate angefertigt, von denen jeweils eines mit HE und ein weiteres Präparat mit Safranin-O gefärbt wurden.

Anschließend wurden die Schnitte von zwei geblindeten Untersuchern anhand der vier Kriterien:

- A Struktur
- B Zellen
- C Anfärbbarkeit mit Safranin- O (Proteoglykangehalt)
- D Auftreten von Gefäßen

auf mikroskopische Zeichen der Arthrose untersucht.

Den jeweiligen Ergebnissen wurde ein Punktwert zugeordnet und diese Punktwerte anschließend zu einem Gesamtscore addiert.

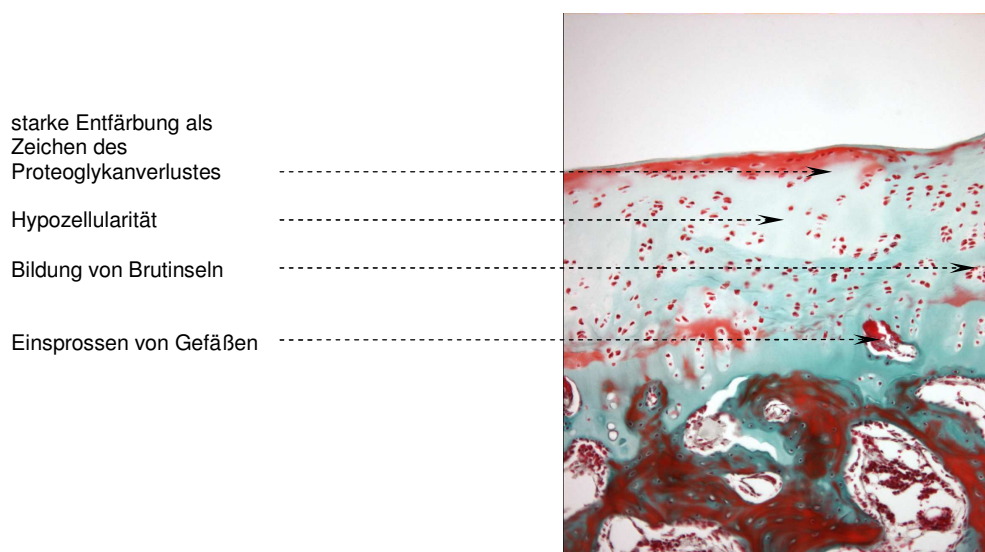


Abb.23: Histologische Darstellung der arthrotischen Veränderungen

#### A Struktur

Bei der Bewertung der Struktur der Präparate wurde auf Risse und ihre jeweilige Tiefe in der Knorpelschicht geachtet.

Um die Gesamtheit des untersuchten Areals besser abzubilden, wurden die einzelnen Präparate an jeweils drei Stellen untersucht. Hieraus ergibt sich eine heterogene, aber repräsentative Verteilung der einzelnen Werte.

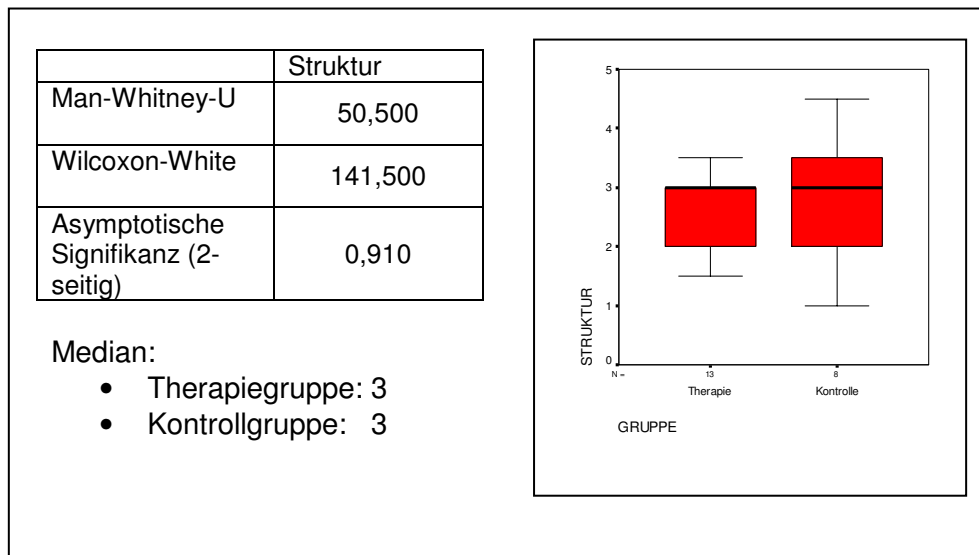


Abb.24: Ergebnis Struktur der Mikroskopie

## B Zellen

Bei diesem Kriterium wurden die Anzahl und Verteilung der Zellen in der Knorpelmatrix beurteilt. Auch hier wurden zur besseren Wiedergabe der Gesamtsituation drei unterschiedliche Areale untersucht.

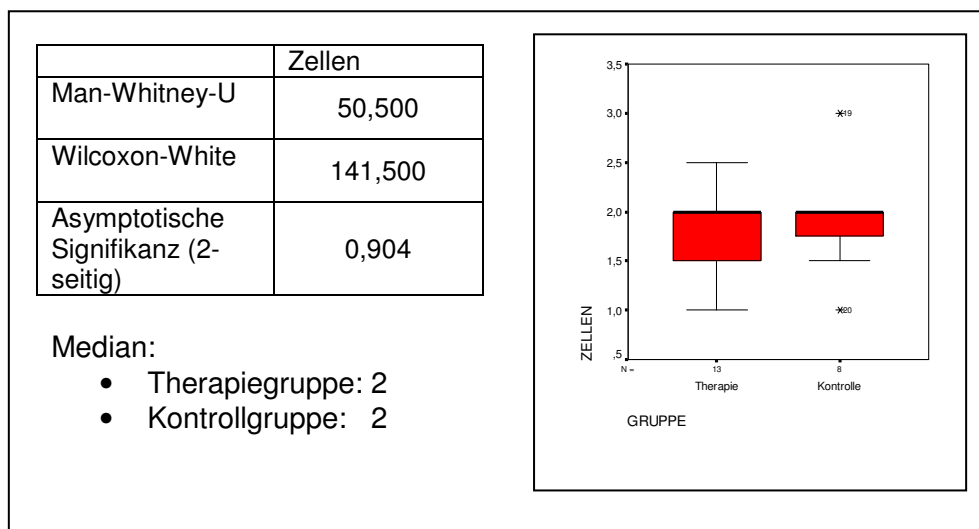


Abb.25: Ergebnis Zellen der Mikroskopie

### C Anfärbarkeit mit Safranin-O

Die Anfärbung mit Safranin-O dient der Darstellung von Proteoglykanen in der extrazellulären Matrix. Mit fortschreitender Degradation des Knorpels verringert sich der Gehalt an Proteoglykanen und die Färbung vermindert sich entsprechend.

Wie bei allen histologischen Untersuchungen wurden auch hier drei unterschiedliche Bereiche des jeweiligen Präparates beurteilt.

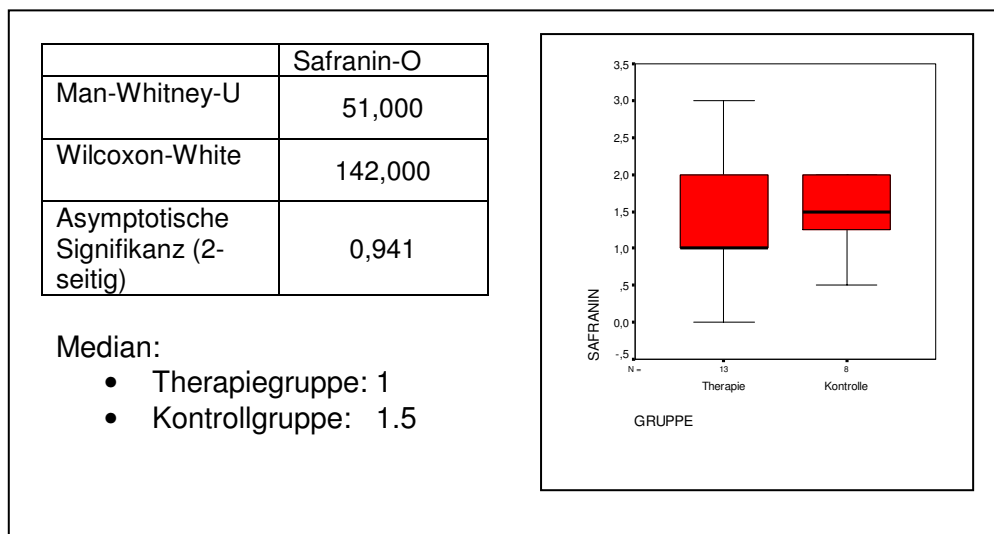


Abb.26: Ergebnis Safranin-O der Mikroskopie

### D Auftreten von Gefäßen

Ein Zeichen von Knorpeldestruktion ist das Auftreten von Gefäßen in der Knorpelmatrix. Die Angiogenese wird ausgelöst durch die fortschreitende Destruktion und die damit verbundenen Reparaturvorgänge.

Der Nachweis eines Gefäßes – in der Zone IV des Knorpels oder darüber – im Verlauf des Präparates ist hier schon ausreichend, um als positiv gewertet zu werden. Die hier etwas abweichende Darstellung im Boxplot kommt durch die andere Art der Daten zustande. Nur die Zahlen 1 (Gefäße vorhanden) und 0 (keine Gefäße vorhanden) waren möglich. Da der Großteil der Ergebnisse bei 0 liegt, gelten die Werte mit 1 als

Ausreißer und werden durch Kreuze mit der dazugehörigen Fallnummer gekennzeichnet. Die Werte der Ausreißer betragen nicht 1 sondern 0,5, da bei der Statistischen Auswertung der Scores der Median verwendet wurde.

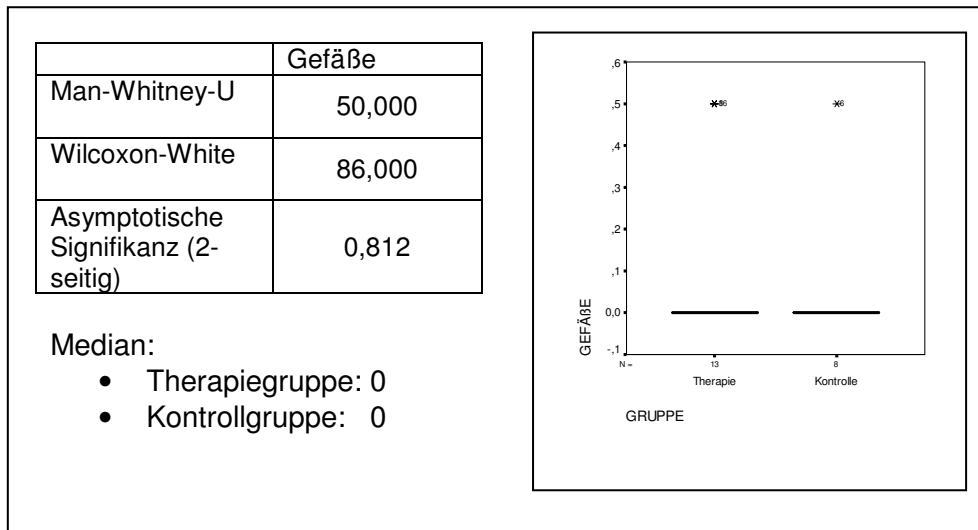


Abb.27: Ergebnis Gefäße der Mikroskopie

### 3.4 Histologischer Gesamtscore

Es wurden insgesamt 66 Präparate der 22 Tibiaplateaus mikroskopisch untersucht. Auch hier ließ sich in jedem Fall eine arthrotische Destruktion unterschiedlichen Ausmaßes feststellen. Nach der Auswertung der Ergebnisse des Mankin-Score lässt sich feststellen, dass weder bei den Einzelwerten des mikroskopischen Scores:

- Struktur 3 vs.3 p= 0,910
- Zellen 2 vs. 2 p= 0,904
- Safranin-O 1 vs. 1.5 p= 0,941
- Gefäße 0 vs. 0 p= 0,812
- 

noch bei dem Gesamtscore (6,05 vs. 6,25 p= 0,942) einen signifikanten Unterschied zwischen der Therapie- und der Kontrollgruppe bestand.

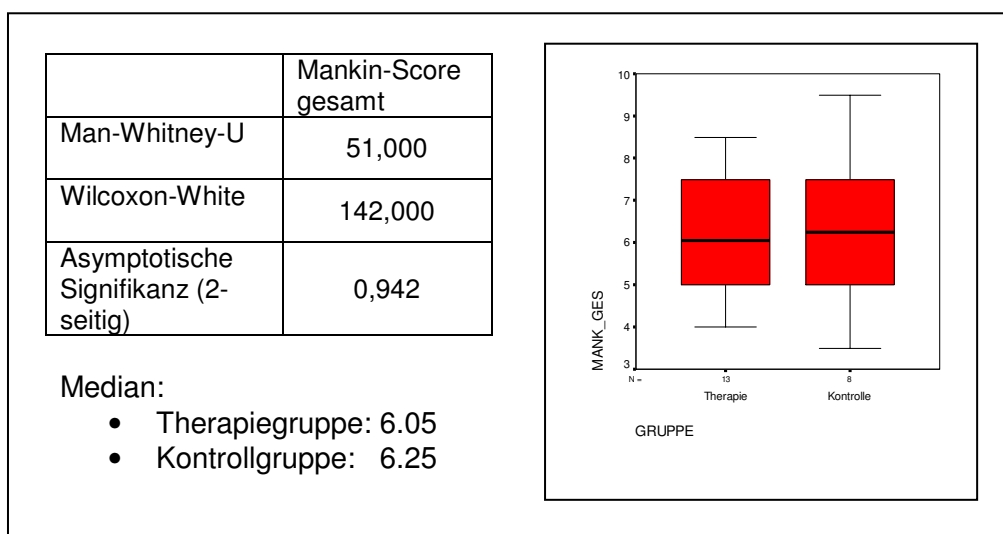


Abb. 28: Gesamtergebnis der Mikroskopie

## 4 Diskussion

### 4.1 Diskussion des Modells

Die grundlegende Forderung an jedwede Form medizinischer Forschung ist die nach Objektivität, Reliabilität und Validität. Diese klassische Trias des Versuchsdesigns lässt sich gut auf die Wahl des Tiermodells übertragen.

Natürlich muss ein Tiermodell valide sein, es muss also das „messen“, was es vorgibt zu messen. In unserem Fall ist die Frage nach der Validität des Modells die Frage: *„Erzeugt dieses Tiermodell eine Arthrose, die für diese Untersuchung nutzbar ist?“*

Prinzipiell lassen sich drei Möglichkeiten der Arthroseinduktion im Tiermodell unterscheiden. Zum einen die große Gruppe der chemisch oder mechanisch induzierten Arthrose, zum anderen die Nutzung gentechnisch veränderter Tiere z.B. von knock-out-Mäusen (21).

Wir entschieden uns gegen die Nutzung transgener Tiere, da die in einem solchen Modell auftretende Arthrose nach heutigem Wissensstand nur bedingt mit der humanen Arthrose vergleichbar ist.

Bei der chemisch induzierten Arthrose werden inflammatorische Substanzen wie Papain (71), Zymokin und Natrium Iodoacetat (40) intraartikulär injiziert. Der Vorteil dieser Methode ist die minimale Invasivität und die Minimierung der Gefahr iatrogen Knorpelläsionen zu verursachen.

Der Nachteil dieser Methode liegt in der schlechten Steuerbarkeit und den interindividuell teils starken Unterschieden im Ausprägungsgrad der Arthrose.

Zwei Kriterien sprachen gegen die Wahl dieser Methode. Zum einen war es für den Versuch wichtig, eine pathogenetisch gleichartige Arthrose bei allen Kaninchen dieser Versuchsreihe zu erzeugen, gleichzeitig aber eine gute Steuerbarkeit des Schweregrades der induzierten Arthrose zu gewährleisten.

Zum Zweiten ist die chemisch induzierte Arthrose nur bedingt mit der menschlichen Arthrose vergleichbar.

Aufgrund dieser Nachteile entschieden wir uns, ein Modell mit mechanisch induzierter Arthrose zu verwenden.



Es gibt drei unterschiedliche Arten eine mechanische Arthrose zu induzieren.

1. Immobilisation (75)
2. Denervierung (80)
3. Destabilisierung (42, 70).

Sowohl durch Immobilisation als auch durch Denervierung lässt sich eine Arthrose mit Knorpelzelluntergang auslösen, dieser ist aber rein metabolisch bedingt und entsprechende Reparaturvorgänge wie Zellvermehrung, vermehrte Produktion extrazellulärer Matrix und Entwicklung von Osteophyten lassen sich kaum nachweisen oder fehlen ganz (76).

Des Weiteren führt die Immobilisation zu Veränderungen am vorderen Kreuzband (46, 72), was gerade in der posttherapeutischen Bewegungsphase zu einer individuell unterschiedlichen Instabilität mit nachfolgender Arthroseinduktion führen könnte. Dadurch wäre die Krankheitsausbildung schlechter steuerbar und damit schlechter vergleichbar.

Blatter et al (11) untersuchten die Wirkung von Granulozyten-spezifischer-Elastase auf die Knorpelmorphologie im Kaninchenmodell. Nebenbefundlich stellten sie fest, dass eine Immobilisation der Hinterläufe in der Kontrollgruppe über sechs Wochen zu keiner nennenswerten arthrotischen Veränderung in den jeweiligen Kniegelenken führte. Dieses erklärten sie mit dem Unvermögen der Tiere kompensierende, d.h. schmerzende oder ruhig gestellte Hinterläufe zu entlasten.

Die durch Destabilisierung hervorgerufene Arthrose ist der menschlichen Arthrose pathogenetisch am ähnlichsten, auch wenn sie nur den kleinen Anteil der sekundär posttraumatischen Arthrosen simuliert.

Um eine Instabilität zu induzieren gibt es eine Vielzahl an operativen Möglichkeiten.

Die partielle oder totale einseitige oder beidseitige Mensektomie (66), die Resektion eines oder beider Kreuzbänder, die einseitige oder beidseitige Durchtrennung der Kollateralbänder und eine Fülle von Kombinationen dieser Methoden (51).

Das Ausmaß der dabei induzierten Arthrose sowie die Latenzphase unterscheiden sich zum Teil sehr stark. So stellten Hulth et al (81) fest, dass die Latenzperiode bei der partiellen und kompletten Mensektomie relativ lang ist. Des Weiteren ist die auftretende Schädigung lokal sehr begrenzt.

Dass auch ein radikales operatives Vorgehen nicht immer positiv mit der entwickelten Arthrose korreliert, erkannten Hulth et al schon 1970 (42).

Das von uns angewendete und durch Yoshioka et al (100) etablierte Modell der isolierten Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes ist zurzeit das Standardmodell zur Induktion einer Arthrose.

Dieses liegt an der leichten Durchführbarkeit, der Komplikationsarmut und der pathogenetisch engen Verwandtschaft zur humanen posttraumatischen Arthrose.

Ein weiterer Vorteil der von uns benutzten Methode ist die hohe Korrelation zwischen Latenzphase und Arthrosegrad.

In Studien, die einen Zusammenhang zwischen dem Grad der Arthrose und dem Zeitraum ihrer Entwicklung untersucht haben, wird die in diesem Modell induzierte Arthrose nach vier Wochen als geringgradig, nach acht Wochen als mittelgradig und nach zwölf Wochen als schwergradig eingestuft (93, 100).

Danach ist die in diesem Versuch induzierte Arthrose als schwer anzusehen.

Somit ist die Forderung nach Validität bestmöglich erfüllt worden. Als Hinweis auf einen hohen Grad an Reliabilität lässt sich die Tatsache werten, dass dieses Modell in einer großen Zahl an Studien zur Arthroseforschung Anwendung gefunden hat (22, 68, 90).

Auch die Forderung nach Objektivität lässt sich anhand der Literatur gut belegen. So hat eine Reihe unterschiedlicher Untersucher zu unterschiedlichen Zeitpunkten an unterschiedlichen Orten mit diesem Modell eine ähnliche Arthrose induziert.

Der Nachteil dieses Modells liegt darin, dass im Gegensatz z. B. zur chemisch induzierten Arthrose, eine kontinuierliche Zerstörung des Knorpels durch die Instabilität hervorgerufen wird, da die Ursache der Knorpeldestruktion nicht beseitigt wird.

## **4.2 Diskussion der Probenaufarbeitung „Zone of interest“**

Eine Kniegelenksarthrose weist Zonen auf, in denen sie verschieden stark ausgeprägt ist. Diese ungleiche Verteilung der Arthrose hängt besonders von der Kongruenz der Gelenkanteile, sowie der Stellung der Gelenkachse ab.

Mankin et al (60) untersuchten 31 Areale auf 13 Femurköpfen bezüglich histologischer und biochemischer Zeichen von Arthrose. Sie wiesen nach, dass, abhängig von dem Zeitraum über den die Arthrose bestand, Unterschiede im Ausmaß der arthrotischen Veränderung des Knorpels bestanden. Um die Vergleichbarkeit der histologischen Beurteilung der Kaninchengelenke untereinander zu gewährleisten, sollten die Proben somit aus jeweils derselben, dieser Spezies entsprechenden, Belastungszone

stammen. Von besonderem Interesse sind zum einen der mediale Anteil des Tibiaplateaus, da er am häufigsten und ausgeprägtesten arthrotische Veränderungen aufweist, sowie der laterale Anteil des Plateaus. Zentrale Gelenkanteile werden stärker belastet als randständige (69). Somit erklärt sich auch die von uns vorgenommene Teilung der Gelenkflächen in eine anteriore und posteriore Hälfte, die gewährleistet, dass die Schnittpräparate aus dem Zentrum des Gelenkes stammen.

Die mikroskopische Auswertung dieser Arbeit orientierte sich daher in erster Linie an der Bearbeitung der zentralen Anteile des medialen und lateralen Tibiaplateaus, stellvertretend für das gesamte Knie.

Die makroskopischen Parameter wurden durch Inspektion des gesamten Tibiaplateaus erhoben.

### **4.3 Diskussion des makroskopischen Scores**

Die Gonarthrose ist eine degenerative Gelenkerkrankung, die mit bestimmten pathologischen Veränderungen am Knorpel, aber auch am gesamten Gelenk einhergeht. Zu diesen Veränderungen gehören Erosionen des Knorpels, Osteophytenbildung und Bildung von Gelenkerguss.

Während es radiologisch schon anerkannte Scores zur klinischen In-vivo-Bewertung von arthrotischen Deformitäten gibt (48), fehlt ein standardisiertes Bewertungsmodell für die Wissenschaft.

In der Vergangenheit kam es so zu einer sehr großen Varianz von Kriterien zur makroskopischen Beurteilung von arthrotischen Deformationen.

So benutzten Yoshioka et al (100) ein Modell, in dem sie drei Gruppen von Kaninchen mit einem jeweils unterschiedlichen Arthrosegrad (gering, mittel, schwer) untersuchten. Im Vordergrund standen die Messung des Durchmessers der Knorpelschicht, die Begutachtung der oberflächlichen Beschaffenheit sowie die Zelldichte der Knorpelschicht des Tibiaplateaus.

Hashimoto et al (39) versuchten die Entwicklung und Regulation der osteophytären Strukturen in einem Modell der induzierten Arthrose nachzuvollziehen.

Analog zum Mankin-Score publizierten Tibesku et al. 2005 ein Messinstrument zur makroskopischen Beurteilung arthrotischer Kniegelenke.

In diesen Score fließen vier Kriterien zur Beurteilung der arthrotischen Schädigung des Knorpels ein (93).

Dies erlaubt eine umfassende Beschreibung der arthrotischen Veränderung des untersuchten Gelenks. Weitere Vorteile dieser Methode sind die immerwährende Verfügbarkeit und die kostengünstige Anwendung.

Der Nachteil dieser Methode ist, dass die Grundlage der Bewertung die subjektive Sicht des Untersuchers darstellt. Daraufhin könnte vermutet werden, dass die absoluten Ergebnisse unterschiedlicher Studien nur schwer miteinander vergleichbar seien. Für den einzelnen Versuch sind die Ergebnisse aber repräsentativ, wenn die gleichen Untersucher die Bewertung geblendet vornehmen. Das war in diesem Fall gegeben. Darüber hinaus kann man mutmaßen, dass die Objektivität, die bei dem Mankin-Score als bewiesen gilt, auch für diesen analog entwickelten Score gilt.

#### **4.4 Diskussion des histologischen Scores**

Auch histologisch gibt es eine Reihe von Kriterien, die zur Bewertung des Arthrosegrades herangezogen werden können.

Hier konnten wir aber auf ein sehr gut validiertes und etabliertes Messinstrument zurückgreifen.

Bereits in den 70er Jahren entwickelten Mankin et al den Mankin-Score, der die histologischen Kriterien Struktur, Zellen, Safranin-O und Gefäße beinhaltet (60). Methodisch schwer zu erhebende Parameter wie Knorpeldickemessung erhalten keinen Einzug in die Bewertung. Die schon bei der Makroskopie erwähnte Problematik der subjektiven Bewertung der Arthrosezeichen trifft auch hier zu.

Des Weiteren bleiben auch die normalen Probleme histologischer Aufarbeitung von Proben bestehen. So kann es vorkommen, dass bei der Zerteilung der Tibiaplateaus und dem anschließenden Herstellen der Schnittpräparate Läsionen erzeugt werden, die als arthrotische Destruktion fehlgedeutet werden können.

Dieses haben wir durch sorgfältige Präparation mit unbenutzten handelsüblichen Einwegskalpellens und Verwendung frischer Mikrotommesser zu verhindern versucht.

Ein weiteres Problem kann die nicht repräsentative Wiedergabe der Knorpelverhältnisse sein. So konnten Mankin et al (60) zeigen, dass es innerhalb eines Gelenkes, vor allem bei schon weit fortgeschrittener Arthrose, große Unterschiede im Ausmaß der arthrotischen Veränderung zwischen einzelnen Arealen des Knorpels gibt. Bei der Herstellung von Schnittpräparaten kann es zur Darstellung eines übermäßig destruierten oder unversehrten Areals kommen. Auch Überlagerungsphänomene bei

nicht genau orthogonalem Anschnitt der Gelenkflächen können zu falschen Bewertungen durch die Untersucher führen.

Um diese Fehler so weit wie möglich auszuschließen haben wir uns zur Untersuchung der Tibiaplateaus entschieden. Im Unterschied zu den abgerundeten femoralen Anteilen ist das Tibiaplateau nahezu flach. Zusätzlich sind die femoralen Bereiche der Destruktion oft kleiner als die tibialen, da immer nur ein relativ kleines Knorpelareal des Femurs auf dem gesamten Tibiaplateau „walzt“.

Zusätzlich wurden sowohl die lateralen als auch die medialen Gelenkanteile des Plateaus histologisch an jeweils drei Stellen untersucht, um ein möglichst großes und damit repräsentatives Areal zu beschreiben.

Durch strikt mittige Teilung des Tibiaplateaus und Parafineinbettung genau parallel zur Schnitfführung wurde versucht Überlagerungsphänomene zu verhindern.

Auch die Anfertigung immer gleich dicker Schnitte von 5 µm hatte dieses Ziel.

Zusätzlich lassen sich viele der Überlagerungsphänomene durch einen erfahrenen Untersucher erkennen. Beide Untersucher hatten ausreichend Erfahrung im Mikroskopieren histologischer Schnitte.

#### **4.5 Diskussion der Therapie**

Bei dem von uns benutzten Therapiegerät der Firma Medtec handelt es sich um ein Gerät, das für die Anwendung am Menschen konstruiert ist. Alle Parameter, wie die Frequenz des Magnetfeldes, die Stärke des Feldes und auch die Dauer der Therapie orientieren sich an empirischen Parametern aus der humanen Anwendung oder an Resonanzfrequenzmessungen an Proben unterschiedlicher Gewebe.

Zwar ist es bei genauer Kenntnis der Larmorfrequenz der einzelnen Atomkerne physikalisch-theoretisch möglich, durch die Wahl der Stärke des ersten (statischen) Feldes und die Wahl der Frequenz des Transversalfeldes sehr genau zu bestimmen, welche Kerne in Resonanz geraten sollen, dies ist aber in derart komplexen Systemen wie dem Kaninchen oder auch dem Menschen nicht uneingeschränkt möglich.

Auch die Therapiedauer in unserem Modell orientiert sich am menschlichen Behandlungsmuster.

Studien mit gepulsten elektromagnetischen Feldern an Hartley-Guinea-Schweinen zeigten einen deutlichen Effekt nach sechs Monaten einständiger Behandlung (20).

Ein solches Behandlungsschema wäre auch für die humane Anwendung praktikabel.

Goodwin et al (34) sahen dagegen, dass sehr lange Behandlungszeiten zu einer schlechten Patientcompliance führten.

In zwei klinischen Studien mit PEMF konnte die Wirksamkeit der Therapie bei einer täglichen Behandlungsdauer von über fünf Stunden auf die Knochenheilung gezeigt werden (13, 59).

Des Weiteren kommt ein unabhängiger Gutachter zu dem Ergebnis, dass schon relativ kurze Behandlungszeiten von 3, 5, 9 oder 10 Behandlungsstunden pro Therapieserie nutzbringend sein können.

Eine klinische, placebokontrollierte Studie, die in der kürzesten Vergangenheit die Wirkung der MBST™-Therapie untersuchte, kam zu dem Ergebnis, dass die einstündige Behandlung in einer fünftägigen Therapieserie die Schmerzen der Therapiegruppe in einem Kollektiv von 62 Patienten mit Rückenschmerz signifikant vermindern konnte (50).

Somit orientierten wir uns an den für die humane Anwendung üblichen Therapiedauern und Feldstärken, da keine Daten zur therapeutischen Anwendung der Kernspinresonanz für das Kaninchen vorlagen. Dies stellt eine Limitierung des Modells dar.

Es lässt sich jedoch nicht ausschließen, dass eine Therapie mit anders gewählten Parametern, wie z.B. einer längeren Behandlungszeit, einen Effekt in dem von uns gewählten Modell gezeigt hätte.

## **4.6 Diskussion der Ergebnisse**

Die Gelenkknorpel von zwölf Kaninchen sollten in unserem Versuch untersucht werden. Bei zwei operierten Gelenken pro Tier ergibt dies eine Gesamtprobengröße von 24 Knien. Ein Tier entwickelte postoperativ spontane Abszesse und musste aus der Studie herausgenommen werden.

Das Präparat des medialen Gelenkanteils eines weiteren Tieres erwies sich als objektiv nicht auswertbar, so dass letztendlich 21 Gelenke zur Auswertung genutzt werden konnten. Dies entspricht einer drop-out-Rate von 7,2 %. Da bei der Planung des Versuchsaufbaus mit einer Rate von 10 – 15 % gerechnet wurde und die Anzahl der Tiere entsprechend gewählt wurde, scheint das Ergebnis nicht durch eine zu kleine Probengröße verfälscht zu sein.

Da statistische Untersuchungen mit dem verwendeten Man-Whitney-U-Test gegen Abweichungen von der Normalverteilung resistent sind, erübrigte sich die Durchführung einer Poweranalyse.

Die in diesem Versuch erhobenen Werte zeigen eine große Varianz in vielen Bereichen. So verteilen sich die Werte für Struktur des lateralen Plateaus von Tier K von gering (1) bis zur höchsten möglichen Punktzahl (6).

Die arthrotischen Veränderungen bei einigen Tieren waren nicht wie erwartet als schwer oder schwerstgradig zu erkennen, z.B. unterscheiden sich die histologischen Scores von Tier A-re (3) zu Tier H-re (11) um fast den Faktor vier.

Diese deutlichen Unterschiede bei Tieren, die zum gleichen Zeitpunkt postoperativ getötet wurden, werden in der Literatur schon von Vignon et al (95) und auch von Tibesku et al (93) beschrieben. Eine mögliche Erklärung für diese interindividuell starken Unterschiede könnten die abweichenden Ausprägungen als Folge einer genetisch determinierten unterschiedlichen Knorpelqualität sein. Ähnlich also wie dies beim Menschen auch angenommen wird.

Des Weiteren waren bei den Tieren beider Versuchsgruppen starke Unterschiede in der Gewichtszunahme und dem Bewegungsverhalten zu beobachten.

Eine Einflussnahme auf diese Faktoren ist nur sehr begrenzt möglich. Die Auswahl der Tiere nach gleicher Rasse, Geschlecht, Gewicht und gleichem Züchter sowie die Haltung unter gleichen standardisierten Bedingungen sollte die höchstmögliche Homogenität der Versuchspopulation gewährleisten.

Darüber hinaus kann man diese Ergebnisse nicht isoliert betrachten, sondern muss sie im Zusammenhang mit den aktuellen Forschungsergebnissen anderer Gruppen sehen.

Das Ziel unserer Studie war es, einen möglichen Erklärungsansatz für die in klinischen Untersuchungen gezeigten Effekte am Menschen im Tiermodell zu verifizieren oder zu widerlegen.

Dieser Erklärungsansatz geht von der direkten Beeinflussung der Knorpelmorphologie durch die Kernspin-Resonanz-Therapie aus. Entsprechend lautete unsere Nullhypothese: *Die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie hat keinen Einfluss auf die Knorpelmorphologie bei der Gonarthrose.*

Diese Hypothese konnte durch unseren Versuch nicht widerlegt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir in unserem Modell mit der MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie keinen signifikanten Unterschied im Arthrosegrad

zwischen der Therapiegruppe und der Kontrollgruppe feststellen konnten, sich also die Knorpelmorphologie nicht überzufällig in beiden Gruppen unterschied.

Grundlage für die von uns durchgeführte Untersuchung war die Erkenntnis, dass die Ergebnisse klinischer Studien am Menschen zum Teil sehr vielversprechend sind. Die Parameter, die bei diesen Untersuchungen gemessen werden können, sind standardisierte Schmerzscores und Bewegungsumfänge in den betroffenen Gelenken. Eine Untersuchung dieser Kriterien ist im Tierversuch, wenn überhaupt, sehr schwer zu realisieren und sehr störanfällig.

Ob sich diese Messgrößen in unserem Versuch geändert haben, konnte aufgrund der Natur des Tierversuches nicht festgestellt werden und darüber hinaus lag unser Augenmerk auf der Morphologie des Knorpels.

Eine mögliche Erklärung für diese Ergebnisse ist, dass die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie nicht direkt die Morphologie des Knorpels beeinflusst, sondern die artikuläre Entzündungsreaktion modifiziert. Mögliche Ansatzpunkte wären z.B. die Matrixmetalloproteinasen, von denen es katabole und anabole Isoformen gibt, oder aber Zytokine wie TGF- $\beta$  oder IGF-I und IGF-II, von denen man annimmt, dass sie die Arthroseentstehung beeinflussen (98). Dieses war aber nicht Gegenstand der von uns durchgeführten Untersuchung.

Im Hinblick auf den dokumentierten Erfolg der Methode in klinischen Studien könnte die Schlussfolgerung bei diesem Erklärungsmodell lauten: Alle Patienten haben die gleiche Arthrose aber die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie könnte die Schmerzübertragung oder Entzündungsreaktion so beeinflussen, dass therapierte Patienten die Arthrose nicht mehr so stark spüren.

Eine andere, mögliche Erklärung ist die, dass die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie sehr wohl auf die Morphologie des arthrotischen Knorpels und des subchondralen Knochens wirkt, die Schädigung und Deformation in der zwölf-Wochen-Gruppe aber so langanhaltend und groß waren, dass die Effekte mit unseren Methoden nicht mehr messbar waren.

Eine Erkenntnis, die diese Theorie unterstützt, stammt von Papaioannou et al (77), die zeigen konnten, dass sich in dem von uns benutzten Tiermodell eine eher degenerative Phase (Wochen eins bis acht) und eine eher regenerative Phase (über acht Wochen) bei fortschreitender Arthrose unterscheiden lassen. So könnten die Effekte der MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie gerade in der degenerativen Phase stattfinden.



Die Schlussfolgerung dieses Modells würde lauten: Die MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie wirkt gerade in den frühen Stadien der arthrotischen Destruktion.

Darüber hinaus muss auch die unterschiedliche pathogenetische Ursache von Arthrose in die Diskussion einbezogen werden. Während in den humanen Versuchsreihen die Patienten mit posttraumatischer Arthrose nur einen Teil der Versuchspopulation ausmachten, war unsere Versuchsreihe aufgrund der unter 4.1 genannten Punkte auf Tiere mit posttraumatischer Arthrose beschränkt. Denkbar wäre aber, dass gerade Patienten mit minderwertigem Knorpelgewebe im Besonderen von der MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie profitieren.

Die Schlussfolgerung in diesem Fall hieße: Gerade Patienten mit einer idiopathischen primären Arthrose profitieren von der MBST™-Kernspin-Resonanz-Therapie.

## **4.7 Schlussfolgerung**

Abschließend lässt sich sagen, dass wir in unserem definierten Modell mit unseren definierten Therapieparametern, mit den von uns genutzten Messinstrumenten keinen Effekt der Therapie auf die Knorpelmorphologie nachweisen konnten.

Es kann hierdurch jedoch nicht die pauschalisierte Aussage getroffen werden, dass die Kernspin-Resonanz-Therapie keine Wirkung hat; in dem von uns gewählten Versuchsaufbau konnte ein möglicher Effekt jedoch nicht gezeigt werden. Grund hierfür könnte sein, dass die Ursache der arthrotischen Destruktion, die Instabilität des Kniegelenkes, durch die Therapie nicht beseitigt wurde. Da eine Beseitigung der Ursache an sich, sofern möglich, immer Bestandteil der medizinischen Therapie sein sollte, stellt dies einen Kritikpunkt an unserem Modell dar.

Möglicherweise ist ein Modell, bei dem der Auslöser der Destruktion nur über eine definierte Zeit wirkt, besser geeignet, da etwaige Regenerationsprozesse hier Zeit haben zu wirken.

Weitere Untersuchungen, wie z.B. molekularbiologische Analysen oder Beschreibung von Entzündungsparametern sowie bestimmten Enzymen, wären zur weiteren Klärung der Frage nach einer Wirksamkeit sicherlich sinnvoll.

## 5 Ausblick und mögliche Folgeuntersuchungen

Die Effekte der Kernspin-Resonanz-Therapie, die in klinischen Studien gezeigt wurden, lassen eine Vielzahl hypothetischer Wirkprinzipien zu, von denen nur ein Teil zu morphologischen Veränderungen der von uns untersuchten mechanisch beanspruchten Komponenten Knorpel und Knochen führen würde.

Dementsprechend vielfältig sind auch die weitergehenden Untersuchungen, die sinnvoll erscheinen:

### **1. Ausweitung der Analytik zur Untersuchung der beteiligten Strukturen.**

Hier scheint unter anderem die Untersuchung der Expression von Zytokinen (z.B. TGF- $\beta$ , Interleukin-6), die als Entzündungsmediatoren das Ausmaß und Voranschreiten der Erkrankung modifizieren, wertvoll.

Auch die Expression von arthroseassoziierten Rezeptoren (z.B. CD-44) der Chondrozyten könnte aussagekräftig näher untersucht werden.

Denkbar ist auch die Messung der biomechanischen Belastbarkeit der Knorpelanteile von Tibia und Femur.

Darüber hinaus scheint auch die exakte Messung des Wasser- und Proteoglykangehalts des Knorpels sinnvoll.

### **2. Änderung des Studiendesigns auf ein longitudinales, anstelle eines endpunktorientierten Designs.**

Dieses schließt die Messung der Zusammensetzung der Synovialflüssigkeit, insbesondere des Anteils und des Verhältnisses der Entzündungsmediatoren genauso mit ein, wie die Messung des Anteils und Verhältnisses der an Umbauvorgängen beteiligten Enzyme, z.B. der Matrixmetalloproteinasen.

In regelmäßigen Abständen durchgeführte bildgebende Diagnostik wie Röntgen, CT oder Mikro-CT zur Evaluation des Destruktionsgrades der beteiligten Strukturen ließe die Erhebung wertvoller Daten schon in-vivo zu.

Auch die Messung der neuronalen Aktivität, insbesondere der Schmerzafferenzen und der Rezeptordichte der Schmerzrezeptoren, erscheint als einer der möglicherweise beeinflussten Faktoren folgerichtig.

### **3. Veränderung des Tiermodells.**

Gerade die Nutzung gendefizienter knock-out-Mäuse zur Untersuchung von „spontan“ entwickelter Arthrose ließe die Untersuchung einer großen Versuchspopulation mit einem ökonomischen Kosten-Nutzen-Verhältnis zu.

Denkbar wäre auch die Durchführung einer Versuchsreihe mit anschließender Refixation des vorderen Kreuzbandes zur Ausschaltung des pathologischen Reizes.

Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente fanden im Rahmen eines Pilotversuches statt, so dass nur ein begrenztes Ausmaß der denkbaren Untersuchungen durchgeführt wurde.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Muscoloskeletal disorders take up 16% of direct, 40% of indirect health care resources. Orthopaedics today 2006.
2. Pressemitteilung Orthopädie bewegt, 2004.
3. Pschyrembel, Klinisches Wörterbuch. Vol. 260: de Gruyter, 2004.
4. Statistisches Bundesamt, Krankenhausdiagnosestatistik 2000.
5. Aaron RK, Ciombor DM. Acceleration of experimental endochondral ossification by biophysical stimulation of the progenitor cell pool. J Orthop Res 14 (4): 582-9, 1996.
6. Aaron RK, Ciombor DM, Simon BJ. Treatment of nonunions with electric and electromagnetic fields. Clin Orthop Relat Res (419): 21-9, 2004.
7. Aaron RK, Skolnick AH, Reinert SE, Ciombor DM. Arthroscopic debridement for osteoarthritis of the knee. J Bone Joint Surg Am 88 (5): 936-43, 2006.
8. Aaron RK, Wang S, Ciombor DM. Upregulation of basal TGFbeta1 levels by EMF coincident with chondrogenesis--implications for skeletal repair and tissue engineering. J Orthop Res 20 (2): 233-40, 2002.
9. Bassett CA, Pawluk RJ, Pilla AA. Acceleration of fracture repair by electromagnetic fields. A surgically noninvasive method. Ann N Y Acad Sci 238: 242-62, 1974.
10. Benjaminse A, Gokeler A, van der Schans CP. Clinical diagnosis of an anterior cruciate ligament rupture: a meta-analysis. J Orthop Sports Phys Ther 36 (5): 267-88, 2006.
11. Blattert TR, Kunz E, Muller J, Weckbach A. [Induction of arthritis in healthy knee joints after intra-articular injection of the proteolytic enzyme elastase - An experimental investigation in the rabbit]. Z Orthop Ihre Grenzgeb 140 (1): 101-5, 2002.
12. Borella L, Eng CP, DiJoseph J, Wells C, Ward J, Caccese R, Baeder WL. Rapid induction of early osteoarthritic-like lesions in the rabbit knee by continuous intra-articular infusion of mammalian collagenase or interleukin-1. Agents Actions 34 (1-2): 220-2, 1991.
13. Borsalino G, Bagnacani M, Bettati E, Fornaciari F, Rocchi R, Uluhogian S, Ceccherelli G, Cadossi R, Traina GC. Electrical stimulation of human femoral intertrochanteric osteotomies. Double-blind study. Clin Orthop Relat Res (237): 256-63, 1988.
14. Brighton CT, Hozack WJ, Brager MD, Windsor RE, Pollack SR, Vreslovic EJ, Kotwick JE. Fracture healing in the rabbit fibula when subjected to various capacitively coupled electrical fields. J Orthop Res 3 (3): 331-40, 1985.

15. Brighton CT, Wang W, Seldes R, Zhang G, Pollack SR. Signal transduction in electrically stimulated bone cells. *J Bone Joint Surg Am* 83-A (10): 1514-23, 2001.
16. Brouwer RW, Jakma TS, Bierma-Zeinstra SM, Verhagen AP, Verhaar J. Osteotomy for treating knee osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev* (1): CD004019, 2005.
17. Brouwer RW, Jakma TS, Verhagen AP, Verhaar JA, Bierma-Zeinstra SM. Braces and orthoses for treating osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev* (1): CD004020, 2005.
18. Cane V, Botti P, Farneti D, Soana S. Electromagnetic stimulation of bone repair: a histomorphometric study. *J Orthop Res* 9 (6): 908-17, 1991.
19. Carley PJ, Wainapel SF. Electrotherapy for acceleration of wound healing: low intensity direct current. *Arch Phys Med Rehabil* 66 (7): 443-6, 1985.
20. Ciombor DM, Aaron RK, Wang S, Simon B. Modification of osteoarthritis by pulsed electromagnetic field--a morphological study. *Osteoarthritis Cartilage* 11 (6): 455-62, 2003.
21. de Hooge AS, van de Loo FA, Bennink MB, Arntz OJ, de Hooge P, van den Berg WB. Male IL-6 gene knock out mice developed more advanced osteoarthritis upon aging. *Osteoarthritis Cartilage* 13 (1): 66-73, 2005.
22. Diaz-Gallego L, Prieto JG, Coronel P, Gamazo LE, Gimeno M, Alvarez AI. Apoptosis and nitric oxide in an experimental model of osteoarthritis in rabbit after hyaluronic acid treatment. *J Orthop Res* 23 (6): 1370-6, 2005.
23. Ekenstedt KJ, Sonntag WE, Loeser RF, Lindgren BR, Carlson CS. Effects of chronic growth hormone and insulin-like growth factor 1 deficiency on osteoarthritis severity in rat knee joints. *Arthritis Rheum* 54 (12): 3850-3858, 2006.
24. Eyre DR, Wu JJ. Collagen structure and cartilage matrix integrity. *J Rheumatol Suppl* 43: 82-5, 1995.
25. Fergusson CM. The aetiology of osteoarthritis. *Postgrad Med J* 63 (740): 439-45, 1987.
26. Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Cavani F, Setti S, Cane V, Giardino R. Pulsed electromagnetic fields reduce knee osteoarthritic lesion progression in the aged Dunkin Hartley guinea pig. *J Orthop Res* 23 (4): 899-908, 2005.
27. Fitzsimmons RJ, Ryaby JT, Magee FP, Baylink DJ. IGF-II receptor number is increased in TE-85 osteosarcoma cells by combined magnetic fields. *J Bone Miner Res* 10 (5): 812-9, 1995.
28. Fitzsimmons RJ, Ryaby JT, Mohan S, Magee FP, Baylink DJ. Combined magnetic fields increase insulin-like growth factor-II in TE-85 human osteosarcoma bone cell cultures. *Endocrinology* 136 (7): 3100-6, 1995.

29. Fuchs S, Dankbar B, Wildenau G, Goetz W, Lohmann CH, Tibesku CO. Expression of the CD44 variant isoform 5 in the human osteoarthritic knee joint: correlation with radiological, histomorphological, and biochemical parameters. *J Orthop Res* 22 (4): 774-80, 2004.
30. Fuchs S, Skwara A, Rosenbaum D. Preliminary results after total knee arthroplasty without femoral trochlea: evaluation of clinical results, quality of life and gait function. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 13 (8): 664-9, 2005.
31. Fukada EY, I. Mechanical deformation and electrical polarisation in biological substances. *Biophys*. 5: 199-208, 1968.
32. Fukada EY, I. On the piezoelectric effect of bone. *J. Phys. Soc. Jap.* 12: 1158-1162, 1957.
33. Gentzkow GD. Electrical stimulation to heal dermal wounds. *J Dermatol Surg Oncol* 19 (8): 753-8, 1993.
34. Goodwin CB, Brighton CT, Guyer RD, Johnson JR, Light KI, Yuan HA. A double-blind study of capacitively coupled electrical stimulation as an adjunct to lumbar spinal fusions. *Spine* 24 (13): 1349-56; discussion 1357, 1999.
35. Goodwin JL, Kraemer JJ, Bajwa ZH. The use of opioids in the treatment of osteoarthritis: when, why, and how? *Curr Pain Headache Rep* 9 (6): 390-8, 2005.
36. Guerkov HH, Lohmann CH, Liu Y, Dean DD, Simon BJ, Heckman JD, Schwartz Z, Boyan BD. Pulsed electromagnetic fields increase growth factor release by nonunion cells. *Clin Orthop Relat Res* (384): 265-79, 2001.
37. Guisasola C, Desco M, Millan O, Villanueva FJ, Garcia-Barreno P. Biological dosimetry of magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging* 15 (5): 584-90, 2002.
38. Hamblen DL. Can the ankle joint be replaced? *J Bone Joint Surg Br* 67 (5): 689-90, 1985.
39. Hashimoto S, Creighton-Achermann L, Takahashi K, Amiel D, Coutts RD, Lotz M. Development and regulation of osteophyte formation during experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 10 (3): 180-7, 2002.
40. Horn V, Papousek F, Havelka S. [Experimental arthrosis caused by chemical cartilage damage]. *Z Orthop Ihre Grenzgeb* 126 (1): 71-5, 1988.
41. Huiskes R. If bone is the answer, then what is the question? *J Anat* 197 ( Pt 2): 145-56, 2000.
42. Hulth A, Lindberg L, Telhag H. Experimental osteoarthritis in rabbits. Preliminary report. *Acta Orthop Scand* 41 (5): 522-30, 1970.

43. Inoue N, Ohnishi I, Chen D, Deitz LW, Schwardt JD, Chao EY. Effect of pulsed electromagnetic fields (PEMF) on late-phase osteotomy gap healing in a canine tibial model. *J Orthop Res* 20 (5): 1106-14, 2002.
44. Iwashina T, Mochida J, Miyazaki T, Watanabe T, Iwabuchi S, Ando K, Hotta T, Sakai D. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates cell proliferation and proteoglycan production in rabbit intervertebral disc cells cultured in alginate. *Biomaterials* 27 (3): 354-61, 2006.
45. Jacobson JI, Gorman R, Yamanashi WS, Saxena BB, Clayton L. Low-amplitude, extremely low frequency magnetic fields for the treatment of osteoarthritic knees: a double-blind clinical study. *Altern Ther Health Med* 7 (5): 54-64, 66-9, 2001.
46. Kanda T, Ochi M, Ikuta Y. Adverse effects on rabbit anterior cruciate ligament after knee immobilization: changes in permeability of horseradish peroxidase. *Arch Orthop Trauma Surg* 117 (6-7): 307-11, 1998.
47. Kar NC, Cracchiolo A, 3rd, Mirra J, Pearson CM. Acid, neutral, and alkaline hydrolases in arthritic synovium. *Am J Clin Pathol* 65 (2): 220-8, 1976.
48. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis* 16 (4): 494-502, 1957.
49. Kirschvink JL. Magnetite biomineralization and geomagnetic sensitivity in higher animals: an update and recommendations for future study. *Bioelectromagnetics* 10 (3): 239-59, 1989.
50. Kullich WC, Schwann, H *Annuals of the rheumatic Diseases, Abstractband*. In: Annual European Congress of Rheumatology Vienna 2005.
51. Kuo SY, Chu SJ, Hsu CM, Chen CM, Chang ML, Chang DM. An experimental model of osteoarthritis in rabbit. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 54 (6): 377-81, 1994.
52. Lee TC, Taylor D. Bone remodelling: should we cry Wolff? *Ir J Med Sci* 168 (2): 102-5, 1999.
53. Lehmann L, Stove J. [Pain symptoms of osteoarthritis-aspects of etiology and therapy]. *Schmerz* 18 (6): 453-62, 2004.
54. Lorich DG, Brighton CT, Gupta R, Corsetti JR, Levine SE, Gelb ID, Seldes R, Pollack SR. Biochemical pathway mediating the response of bone cells to capacitive coupling. *Clin Orthop Relat Res* (350): 246-56, 1998.
55. Luben RA, Cain CD, Chen MC, Rosen DM, Adey WR. Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy low-frequency fields. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79 (13): 4180-4, 1982.

56. Madry HK, D. Konservative Therapie der Kniegelenksarthrose. *Der Unfallchirurg* 107: 689-700, 2004.
57. Maetzel A, Li LC, Pencharz J, Tomlinson G, Bombardier C. The economic burden associated with osteoarthritis, rheumatoid arthritis, and hypertension: a comparative study. *Ann Rheum Dis* 63 (4): 395-401, 2004.
58. Malchau H, Herberts P, Eisler T, Garellick G, Soderman P. The Swedish Total Hip Replacement Register. *J Bone Joint Surg Am* 84-A Suppl 2: 2-20, 2002.
59. Mammi GI, Rocchi R, Cadossi R, Massari L, Traina GC. The electrical stimulation of tibial osteotomies. Double-blind study. *Clin Orthop Relat Res* (288): 246-53, 1993.
60. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am* 53 (3): 523-37, 1971.
61. Mansat P, Mansat M, Bellumore Y, Rongieres M, Bonneville P. [Mid-term results of shoulder arthroplasty for primary osteoarthritis]. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot* 88 (6): 544-52, 2002.
62. March LM, Cross MJ, Lapsley H, Brnabic AJ, Tribe KL, Bachmeier CJ, Courtenay BG, Brooks PM. Outcomes after hip or knee replacement surgery for osteoarthritis. A prospective cohort study comparing patients' quality of life before and after surgery with age-related population norms. *Med J Aust* 171 (5): 235-8, 1999.
63. McDevitt C, Gilbertson E, Muir H. An experimental model of osteoarthritis; early morphological and biochemical changes. *J Bone Joint Surg Br* 59 (1): 24-35, 1977.
64. Meinecke F-W. Beeinflussung der Knochenbildung durch elektromagnetische Potentiale. Gravenbruch bei Frankfurt am Main, 1978.
65. Meschede D. Gerthsen Physik. 21 ed: Springer, p. 629-637, 2002.
66. Messner K, Fahlgren A, Ross I, Andersson B. Simultaneous changes in bone mineral density and articular cartilage in a rabbit meniscectomy model of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 8 (3): 197-206, 2000.
67. Mikesky AE, Mazzuca SA, Brandt KD, Perkins SM, Damush T, Lane KA. Effects of strength training on the incidence and progression of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 55 (5): 690-9, 2006.
68. Miller D, Forrester K, Hart DA, Leonard CA, Salo P, Bray RC. Endothelial Dysfunction and Decreased Vascular Responsiveness in the Anterior Cruciate Ligament Deficient Model of Osteoarthritis. *J Appl Physiol*, 2006.



69. Moschella D, Blasi A, Leardini A, Ensini A, Catani F. Wear patterns on tibial plateau from varus osteoarthritic knees. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 21 (2): 152-8, 2006.
70. Moskowitz RW, Davis W, Sammarco J, Martens M, Baker J, Mayor M, Burstein AH, Frankel VH. Experimentally induced degenerative joint lesions following partial meniscectomy in the rabbit. *Arthritis Rheum* 16 (3): 397-405, 1973.
71. Murray DG. Experimentally Induced Arthritis Using Intra-Articular Papain. *Arthritis Rheum* 7: 211-9, 1964.
72. Newton PO, Woo SL, MacKenna DA, Akeson WH. Immobilization of the knee joint alters the mechanical and ultrastructural properties of the rabbit anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 13 (2): 191-200, 1995.
73. Niedhard FU, Pfeil, Joachim. *Orthopädie*. Vol. 5: Thieme, p. 598, 2005.
74. Norris TR, Iannotti JP. Functional outcome after shoulder arthroplasty for primary osteoarthritis: a multicenter study. *J Shoulder Elbow Surg* 11 (2): 130-5, 2002.
75. Pالمoski M, Perricone E, Brandt KD. Development and reversal of a proteoglycan aggregation defect in normal canine knee cartilage after immobilization. *Arthritis Rheum* 22 (5): 508-17, 1979.
76. Pالمoski MJ, Brandt KD. Immobilization of the knee prevents osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection. *Arthritis Rheum* 25 (10): 1201-8, 1982.
77. Papaioannou N, Krallis N, Triantafillopoulos I, Khaldi L, Dontas I, Lyritis G. Optimal timing of research after anterior cruciate ligament resection in rabbits. *Contemp Top Lab Anim Sci* 43 (6): 22-7; quiz 58, 2004.
78. Podskubka A, Povysil C, Kubes R, Sprindrich J, Sedlacek R. [Treatment of deep cartilage defects of the knee with autologous chondrocyte transplantation on a hyaluronic Acid ester scaffolds (Hyalograft C)]. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech* 73 (4): 251-63, 2006.
79. Schott H. [The therapeutics of Paracelsus with reference to natural philosophy, alchemy and psychology]. *Sudhoffs Arch Z Wissenschaftsgesch Beih* (31): 25-41, 1993.
80. Schwartz ER. Animal models: a means to study the pathogenesis of osteoarthritis. *J Rheumatol* 14 Spec No: 101-3, 1987.
81. Shapiro F, Glimcher MJ. Induction of osteoarthrosis in the rabbit knee joint. *Clin Orthop Relat Res* (147): 287-95, 1980.
82. Sharrard WJ. A double-blind trial of pulsed electromagnetic fields for delayed union of tibial fractures. *J Bone Joint Surg Br* 72 (3): 347-55, 1990.
83. Sokoloff L. *The Biology of Degenerative Joint Disease*. *Perspect Biol Med* 42: 94-106, 1963.

84. Sokoloff L. Some highlights in the emergence of modern concepts of osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* 31 (2): 71-107, 2001.
85. Spadaro JA. Electrically stimulated bone growth in animals and man. Review of the literature. *Clin Orthop Relat Res* (122): 325-32, 1977.
86. Spadaro JA, Bergstrom WH. In vivo and in vitro effects of a pulsed electromagnetic field on net calcium flux in rat calvarial bone. *Calcif Tissue Int* 70 (6): 496-502, 2002.
87. Stengel D, Bauwens K, Ekkernkamp A, Cramer J. Efficacy of total ankle replacement with meniscal-bearing devices: a systematic review and meta-analysis. *Arch Orthop Trauma Surg* 125 (2): 109-19, 2005.
88. Stove J. [Conservative therapy of arthritis]. *Orthopade* 34 (6): 613-21; quiz 622, 2005.
89. Sulzbacher I. Arthrose - Histologie und pathogenetische Ansätze. *Der Radiologe* 40 (12): 1126-1133, 2000.
90. Takahashi K, Goomer RS, Harwood F, Kubo T, Hirasawa Y, Amiel D. The effects of hyaluronan on matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), interleukin-1beta(IL-1beta), and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) gene expression during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 7 (2): 182-90, 1999.
91. Temiz-Artmann A, Linder P, Kayser P, Digel I, Artmann GM, Lucker P. NMR in vitro effects on proliferation, apoptosis, and viability of human chondrocytes and osteoblasts. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 27 (6): 391-4, 2005.
92. Tepper OM, Callaghan MJ, Chang EI, Galiano RD, Bhatt KA, Baharestani S, Gan J, Simon B, Hopper RA, Levine JP, Gurtner GC. Electromagnetic fields increase in vitro and in vivo angiogenesis through endothelial release of FGF-2. *Faseb J* 18 (11): 1231-3, 2004.
93. Tibesku CO, Szuwart T, Ocken SA, Skwara A, Fuchs S. Expression of the matrix receptor CD44v5 on chondrocytes changes with osteoarthritis: an experimental investigation in the rabbit. *Ann Rheum Dis* 65 (1): 105-8, 2006.
94. van den Berg WB. The role of cytokines and growth factors in cartilage destruction in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Z Rheumatol* 58 (3): 136-41, 1999.
95. Vignon E, Bejui J, Mathieu P, Hartmann JD, Ville G, Evreux JC, Descotes J. Histological cartilage changes in a rabbit model of osteoarthritis. *J Rheumatol* 14 Spec No: 104-6, 1987.
96. Wang J, Elewaut D, Veys EM, Verbruggen G. Insulin-like growth factor 1-induced interleukin-1 receptor II overrides the activity of interleukin-1 and controls the homeostasis of the extracellular matrix of cartilage. *Arthritis Rheum* 48 (5): 1281-91, 2003.

97. Wiltschko W, Stapput K, Thalau P, Wiltschko R. Avian magnetic compass: fast adjustment to intensities outside the normal functional window. *Naturwissenschaften* 93 (6): 300-4, 2006.
98. Wu LD, Yu HC, Xiong Y, Feng J. Effect of dehydroepiandrosterone on cartilage and synovium of knee joints with osteoarthritis in rabbits. *Rheumatol Int* 27 (1): 79-85, 2006.
99. Yen-Patton GP, Patton WF, Beer DM, Jacobson BS. Endothelial cell response to pulsed electromagnetic fields: stimulation of growth rate and angiogenesis in vitro. *J Cell Physiol* 134 (1): 37-46, 1988.
100. Yoshioka M, Coutts RD, Amiel D, Hacker SA. Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cartilage* 4 (2): 87-98, 1996.
101. Zhadin M, Barnes F. Frequency and amplitude windows in the combined action of DC and low frequency AC magnetic fields on ion thermal motion in a macromolecule: theoretical analysis. *Bioelectromagnetics* 26 (4): 323-30, 2005.
102. Zizic TM, Hoffman KC, Holt PA, Hungerford DS, O'Dell JR, Jacobs MA, Lewis CG, Deal CL, Caldwell JR, Cholewczynski JG, et al. The treatment of osteoarthritis of the knee with pulsed electrical stimulation. *J Rheumatol* 22 (9): 1757-61, 1995.

## 7 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Röntgenbild einer Gonarthrose im Endstadium (a.p. Strahlengang)	S.6
<b>Abbildung 2:</b> „Orthopaedic patients use more analgesics than patients in other specialities” Orthopaedics Today Jan./Feb. 2006 S.16;	S.16
<b>Abbildung 3:</b> Schematische Darstellung der Larmorpräzession	S.20
<b>Abbildung 4:</b> Schematische Darstellung der Ausrichtung der Protonen im Gewebe zur Verfügung gestellt durch die Firma MedTec	S.21
<b>Abbildung 5:</b> Schematische Darstellung der Ausrichtung der Protonen bei Magnetfeldexposition zur Verfügung gestellt durch die Firma MedTec	S.21
<b>Abbildung 6:</b> Schematische Darstellung der Ausrichtung der Protonen im Gewebe zur Verfügung gestellt durch die Firma MedTec	S.22
<b>Abbildung 7:</b> Foto der Steuereinheit des MBST™-Gerätes zur Verfügung gestellt durch die Firma MedTec	S.23
<b>Abbildung 8:</b> Foto einer MBST™-Spule (dem von uns genutzten Gerät entsprechend) zur Verfügung gestellt durch die Firma MedTec	S.23
<b>Abbildung 9:</b> Intraoperative Darstellung des vorderen Kreuzbandes	S.25
<b>Abbildung 10:</b> Kniegelenk nach operativer Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes	S.25
<b>Abbildung 11:</b> Aufbau der Spulen im Labor	S.27
<b>Abbildung 12:</b> Aufbau der Spulen im Labor während einer Therapiesitzung	S.27
<b>Abbildung 13:</b> Schematische Darstellung der Schnittführung zur Zerteilung der Tibiaplateaus Gray’s Anatomy of the Human Body Vol. 20 1918	S.28
<b>Abbildung 14:</b> Histologisches Präparat, Hämatoxlin-Eosin-Färbung	S.29
<b>Abbildung 15:</b> Histologisches Präparat, Safranin-O-Färbung	S.30
<b>Abbildung 16:</b> Histologisches Präparat, Mason-Goldner-Färbung	S.31
<b>Abbildung 17:</b> Darstellung des Tibiaplateaus mit charakteristischen arthrotischen Veränderungen	S.34
<b>Abbildung 18:</b> Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung auf Fibrillationen mit Boxplot	S.35
<b>Abbildung 19:</b> Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung auf Osteophyten mit Boxplot	S.36
<b>Abbildung 20:</b> Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung auf Ulzerationen mit Boxplot	S.37

---

<b>Abbildung 21:</b> Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung auf Erguss mit Boxplot	S.38
<b>Abbildung 22:</b> Ergebnisse der makroskopischen Untersuchung als Gesamtscore mit Boxplot	S.39
<b>Abbildung 23:</b> Histologisches Präparat mit charakteristischen arthrotischen Veränderungen	.40
<b>Abbildung 24:</b> Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung auf Struktur mit Boxplot	S.41
<b>Abbildung 25:</b> Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung auf Zellen mit Boxplot	S.41
<b>Abbildung 26:</b> Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung auf Safranin-O mit Boxplot	S.42
<b>Abbildung 27:</b> Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung auf Gefäße mit Boxplot	S.43
<b>Abbildung 28:</b> Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung als Gesamtscore mit Boxplot	S.44

## 7.1 Tabellen

- Tabelle 1:** Histologische Stadieneinteilung der Arthrose; Sulzbacher, I., Arthrose – Histologie und pathogenetische Ansätze. *Der Radiologe*, 2000. 40(12): p. 1126-1133 S.10
- Tabelle 2:** Kriterien des Mankin-Scores; Mankin, H.J., et al., Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*, 1971. 53(3): p. 523-37; S.30
- Tabelle 3:** Kriterien des makroskopischen-Scores; Tibesku, C.O., et al., Expression of the matrix Receptor CD44v5 on chondrocytes changes with osteoarthritis: an experimental investigation in the rabbit. *Ann Rheum Dis*, 2006. 65(1): p. 105-8; S.31

## 8 Anhang

### 8.1 Makroskopische Befunde

<b>Probe</b>	<b>Fibrillationen</b>	<b>Ulzerationen</b>	<b>Osteophyten</b>	<b>Erguss</b>	<b>Kreuzband</b>
A links	2	1	1	0	durchtrennt
A rechts	1	1	1	0	durchtrennt
B links	3	2	3	2	durchtrennt
B rechts	2	2	1	1	durchtrennt
C links	3	1	2	1	durchtrennt
C rechts	2	2	1	1	durchtrennt
D links	3	1	3	2	durchtrennt
D rechts	2	1	3	1	durchtrennt
E links	3	1	3	2	durchtrennt
E rechts	2	2	3	3	durchtrennt
F links	2	2	2	2	durchtrennt
F rechts	3	1	3	1	durchtrennt
G links	1	1	1	3	durchtrennt
G rechts	1	1	1	3	durchtrennt
H links	3	2	3	3	durchtrennt
H rechts	3	2	3	3	durchtrennt
I links	2	1	2	3	durchtrennt
I rechts	1	1	1	3	durchtrennt
J links	3	2	1	1	durchtrennt
J rechts	2	1	2	1	durchtrennt
K links	2	2	3	1	durchtrennt
K rechts	3	2	3	2	durchtrennt

## 8.2 Mikroskopische Befunde

Probe Rechts	Struktur (0-6)	Zellen (0-3)	Safranin- O (0-4)	Gefäße (0-1)
A medial	0-0-1-1-1-1	1-1-2-2-2-2	1-1-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1
A lateral	2-2-3-3-3-3	1-1-1-1-2-2	0-0-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1
B medial	————	————	————	————
B lateral	————	————	————	————
C medial	1-1-1-1-1-1	1-1-1-1-2-2	0-0-1-1-1-1	0-0-0-0-0-0
C lateral	3-3-3-3-3-3	1-1-2-2-3-3	2-2-3-3-3-3	1-1-1-1-1-1
D medial	1-1-1-1-2-2	1-1-1-1-1-1	1-1-2-2-2-2	0-0-0-0-1-1
D lateral	2-2-2-2-2-2	0-0-1-1-1-1	1-1-1-1-1-1	0-0-1-1-1-1
E medial	3-3-3-3-3-3	1-1-3-3-3-3	3-3-3-3-3-3	0-0-0-0-0-0
E lateral	3-3-3-3-4-4	2-2-2-2-3-3	2-2-2-2-3-3	0-0-0-0-1-1
F medial	2-2-3-3-3-3	1-1-2-2-2-2	2-2-2-2-3-3	0-0-0-0-0-0
F lateral	3-3-3-3-4-4	2-2-3-3-3-3	0-0-0-0-1-1	0-0-1-1-1-1
G medial	2-2-2-2-3-3	2-2-2-2-2-2	2-2-2-2-3-3	0-0-0-0-0-0
G lateral	3-3-3-3-6-6	1-1-3-3-3-3	2-2-2-2-4-4	0-0-0-0-1-1
H medial	1-1-1-1-4-4	1-1-1-1-3-3	3-3-3-3-3-3	0-0-0-0-1-1
H lateral	1-1-3-3-3-3	1-1-2-2-2-2	0-0-1-1-1-1	0-0-1-1-1-1
I medial	2-2-3-3-5-5	2-2-2-2-3-3	2-2-2-2-4-4	0-0-0-0-1-1
I lateral	2-2-3-3-3-3	1-1-2-2-2-2	1-1-1-1-2-2	0-0-0-0-1-1
J medial	1-1-1-1-2-2	1-1-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1	0-0-0-0-0-0
J lateral	2-2-3-3-5-5	1-1-1-1-2-2	0-0-1-1-4-4	0-0-0-0-1-1
K medial	1-1-2-2-3-3	1-1-2-2-2-2	0-0-1-1-2-2	0-0-0-0-1-1
K lateral	1-1-2-2-6-6	2-2-2-2-3-3	1-1-1-1-3-3	0-0-0-0-1-1



<b>Probe Links</b>	<b>Struktur (0-6)</b>	<b>Zellen (0-3)</b>	<b>Safranin- O (0-4)</b>	<b>Gefäße (0-1)</b>
A medial	3-3-3-3-3-3	3-3-3-3-3-3	2-2-2-2-3-3	0-0-0-0-1-1
A lateral	0-0-2-2-2-2-	1-1-1-1-2-2	0-0-1-1-1-1	0-0-0-1-1-1
B medial	3-3-3-3-4-4	1-1-1-1-2-2	0-0-0-0-1-1	0-0-0-0-1-1
B lateral	1-1-4-4-4-4	1-1-2-2-2-2	0-0-0-0-1-1	0-0-0-0-1-1
C medial	1-1-3-3-3-3	1-1-2-2-2-2	1-1-2-2-2-2	0-0-0-0-0-0
C lateral	0-0-1-1-1-1	2-2-2-2-2-2	1-1-1-1-3-3	0-0-1-0-0-1
D medial	2-2-3-3-3-3	1-1-2-2-2-2	0-0-0-0-0-0	0-0-0-0-0-0
D lateral	3-3-4-4-4-4	2-2-2-2-2-2	0-0-1-1-2-2	0-0-0-0-0-0
E medial	3-3-4-4-4-4	1-1-2-2-2-2	0-0-1-1-2-2	0-0-0-0-0-0
E lateral	3-3-3-3-3-3	2-2-2-2-2-2	1-1-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1
F medial	4-4-4-4-4-4	2-2-2-2-3-3	2-2-2-2-3-3-	0-0-0-0-1-1
F lateral	1-1-1-1-4-4	1-1-1-1-2-2	0-0-2-2-4-4	0-0-0-0-0-0
G medial	3-3-4-4-4-4	1-1-1-1-3-3	1-1-1-1-2-2	0-0-0-0-1-1
G lateral	3-3-3-3-3-3	2-2-2-2-2-2	1-1-1-1-4-4	1-0-0-0-1-0-
H medial	3-3-3-3-4-4	1-1-1-1-2-2	2-2-3-3-3-3	0-0-0-0-1-1
H lateral	3-3-3-3-4-4	2-2-2-2-3-3	2-2-2-2-3-3	0-0-0-0-1-1
I medial	4-4-4-4-4-4	1-1-2-2-3-3	1-1-1-1-2-2	0-0-0-0-0-0
I lateral	3-3-3-3-3-3	1-1-2-2-2-2	2-2-2-2-2-2	0-0-0-0-0-0
J medial	4-4-4-4-5-5	3-3-3-3-3-3	1-1-2-2-3-3	0-0-0-0-0-0
J lateral	3-3-5-5-5-5	1-1-3-3-3-3	1-1-2-2-4-4	0-0-1-1-1-1
K medial	2-2-3-3-6-6	1-1-2-2-3-3	0-0-1-1-4-4	0-0-0-0-1-1
K lateral	3-3-4-4-5-5	1-1-2-2-2-2	1-1-1-1-1-1	0-0-0-0-1-1

### 8.3 Randomisierungsschlüssel

<b>Tier</b>	<b>Gruppe</b>
A	Therapie (T27)
B	Therapie (T24)
C	Kontrolle (K21)
D	Therapie (T21)
E	Therapie (T23)
F	Kontrolle (K22)
G	Kontrolle (K24)
H	Therapie (T26)
I	Therapie (T25)
J	Kontrolle (K23)
K	Therapie (T22)

## 8.4 Lebenslauf



## 8.5 Danksagungen

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Rainer Meffert für die Überlassung dieses Themas und die gute Betreuung während der gesamten Arbeit bedanken.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Dr. med. Hendrik Jansen, der auch in schwierigen Situationen immer einen Ausweg wusste und jederzeit als Ansprechpartner zur Verfügung stand.

Ohne seine tatkräftige Hilfe wäre die Fertigstellung dieser Arbeit unmöglich gewesen.

Ganz besonderen Anteil, gerade an der Aufarbeitung der Proben hatten die medizinisch-technischen-Assistentinnen des Labors der Unfallchirurgie Frau Simone Niehues und Claudia Niepagenkämper.

Dr. rer. nat. Jürgen Paletta war in methodischen Fragen immer eine große Hilfe.

Ihre praktische Erfahrung und die wertvollen Tipps haben maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Ich danke allen für die gute Zusammenarbeit.

## 8.6 Versuchsgenehmigung

Bei den in dieser Dissertation durchgeführten tierexperimentellen Untersuchungen handelte es sich um in vivo- Experimente.

Die Durchführung dieser Versuche erfolgte gemäß des Antrages auf Versuchsvorhaben mit Wirbeltieren (§ 8 Abs. 1 Tierschutzgesetz).

Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

**Gegen Empfangsbekanntnis**  
 Herrn  
 Priv.-Doz. Dr. med. Rainer Meffert  
 Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand-  
 und Wiederherstellungschirurgie  
 Universitätsklinikum Münster  
 Waldeyerstr. 1

48149 Münster

Dienstgebäude:  
 Domplatz 1-3  
 Telefon: (0251) 411-0  
 Durchwahl: 411-2104  
 Telefax: 411-2115 2108  
 Raum: 431  
 Auskunft erteilt:  
 Herr Skoff  
 E-Mail:  
 Dez50@bezreg-muenster.nrw.de  
 Aktenzeichen:  
 50.0835.1.0 ( G 17/2004 )

28. April 2004

**Tierschutz;  
 Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren**

Ihr Antrag vom 21.01.2004

**G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d**

Sehr geehrter Herr Priv.-Doz. Dr. med. Meffert,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der zur Zeit gültigen Fassung (BGBl. I S. 1105, 1818) wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung des nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:


**" Welchen Effekt hat die MBST® – Kernspin-Resonanz-Therapie auf die Morphologie des Knorpels bei Kniegelenks- Arthrose im Kaninchenmodell?"**

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr Priv.-Doz. Dr. med. Rainer Meffert Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie Universitätsklinikum Münster Waldeyerstr. 1 48149 Münster	Herr Dr. med. H. Jansen Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie Universitätsklinikum Münster Waldeyerstr. 1 48149 Münster
--	--

Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411-3300  
 E-Mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de • Internet: www.bezreg-muenster.nrw.de  
 zentrale Telefaxnummer: (0251) 411-2525  
 Konten der Landeskasse Münster:  
 Deutsche Bundesbank - Filiale Münster - BLZ: 400 000 00 Konto: 40001 520  
 WestLB AG Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61820  
 ÖPNV ab Hbf: Linien 14 • 20 bis Haltestelle Domplatz, Linien 2 • 10 • 11 • 12, bis Haltestelle Windthorststraße (Haus K), Linie 7 bis Haltestelle "Wiener Str. (Haus W)

1/2



Diese Genehmigung gilt bis zum **30.04.2005**.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

### **36 Kaninchen**

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

Laut Auskunft der Stadt Münster liegt für Herrn Dr. med. H.-P. Tüttenberg bisher kein Sachkundenachweis vor. Die Genehmigung des Tierversuches erfolgt mir der Auflage, dass Herr Dr. med. H.-P. Tüttenberg erst nach Vorlage des Sachkundenachweises bei der Stadt Münster an diesem Versuch teilnimmt.

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Ich weise darauf hin, dass diese Genehmigung eine evtl. erforderliche Zustimmung nach dem Gentechnikgesetz für Arbeiten mit transgenen Tieren nicht einschließt.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

#### **Rechtsbehelfsbelehrung**

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

**Ich bitte um umgehende Rückgabe des beiliegenden Empfangsbekanntnisses.**

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



Dr. Piantkowiak

## Bezirksregierung Münster

Bezirksregierung Münster • 48128 Münster

Herrn  
Priv.-Doz. Dr. med. Rainer Meffert  
Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand-  
Und Wiederherstellungschirurgie  
Universitätsklinikum Münster  
Waldeyerstr. 1

48149 Münster

Dienstgebäude:  
Domplatz 6-7  
48143 Münster  
Telefon: 0251 411-0  
Durchwahl: 411-2104  
Telefax: 411-2115  
Raum: C 211  
Auskunft erteilt:  
Dirk Skoff  
E-Mail:  
Dez50@bezreg-muenster.nrw.de  
Aktenzeichen:  
50.0835.1.0 (G 17/2004)

1. Juni 2005

**Tierschutz**

Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Verlängerung des Tierversuchs:

**„Welchen Effekt hat die MBST® - Kernspin-Resonanz-Therapie auf die Morphologie des Knorpels bei Kniegelenks – Arthrose im Kaninchenmodell?“**

Antrag vom 21.01.2004

Mein Genehmigungsbescheid vom 28.04.2004 – Az.: 50.0835.1.0 (G 17/2004) –

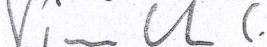
Sehr geehrter Herr Dr. Meffert,

gem. § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBl. I S. 1105) verlängere ich auf Ihren Antrag hin die Genehmigungsdauer für die Durchführung des o.a. Versuchsvorhabens bis zum **30.04.2006**.

Die Verlängerung kann jeweils nur über einen Zeitraum von einem Jahr ausgesprochen werden. Der nächste Antrag auf Verlängerung kann bereits im November/Dezember diesen Jahres gestellt werden.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag



Dr. Piontkowski

E-Mail: poststelle@bezreg-muenster.nrw.de  
Internet: www.bezreg-muenster.nrw.de  
Grünes Umweltschutztelefon: (0251) 411 - 3300  
**ÖPNV - Haltestellen:**  
Domplatz, Linien 2, 10, 11, 12, 14, 20  
Raphaelsklinik, Linien 2, 10, 11, 12 (Haus K)  
Albrecht-Thaer-Straße, Linie 17 (Haus N)  
Hauptbahnhof, ca. 100 m zu FuR (Haus S)

Konten der Landeskasse	Deutsche Bundesbank - Filiale Münster	WestLB AG Münster
BLZ:	400 000 00	400 500 00
Konto:	40 001 520	61 820
IBAN:	DE34 4000 0000 0040 0015 20	DE65 4005 0000 0000 0618 20
BIC:	MARKDEF1400	WELAF33M

