

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
einen Einfluss auf die post-traumatische
Gonarthrose im Kaninchenmodell?
- 6 Wochen trial -**

- Eine tierexperimentelle Studie -

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae
der medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Thomas Brockamp
aus Aachen

2009

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

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

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Viola Bullmann

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

Tag der mündlichen Prüfung: 04.04.2009

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Michael J. Raschke -
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Rainer H. Meffert
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Viola Bullmann

Zusammenfassung

Hat die MBST®-Kernspin-Resonanz-Therapie einen Einfluss auf die
post-traumatische Gonarthrose im Kaninchenmodell? - 6 Wochen trial -

- Eine tierexperimentelle Studie -

Thomas Brockamp

Einleitung: Die Anwendung elektromagnetischer Felder wurde in den letzten Jahren, aufgrund positiver Ergebnisse nach stattgefundener Patientenbehandlung, immer weiter auf verschiedene klinische Fragestellungen hin untersucht. Großangelegte in-vivo und in-vitro Studien haben es sich zum Ziel gemacht, einen Wirkmechanismus herauszuarbeiten, um einen neuen Therapieansatz im Bereich der Arthrose zu schaffen.

Ziel der vorliegenden Studie war es herauszufinden, ob die Anwendung der MBST®-Kernspin-Resonanz einen Einfluss auf die Morphologie des Knorpels bei einer mittelgradigen Gonarthrose im Tiermodell hat.

Methode: Bei 12 männlichen, ausgewachsenen, skelettreifen Kaninchen der Rasse „Neuseeland-Weiß“ wurde operativ das vordere Kreuzband beider Hinterläufe durchtrennt, um eine mittelgradige Arthrose über einen Zeitraum von 6 Wochen zu erzeugen. Nach diesen 6 Wochen wurden die Tiere in zwei Gruppen randomisiert. Die Therapiegruppe wurde an 7 aufeinander folgenden Tagen jeweils eine Stunde pro Tag mit Hilfe des MBST®-Gerätes der Firma MedTec behandelt. Die Kontrollgruppe wurde unter gleichen Bedingungen gehalten, jedoch wurde das Therapiegerät nicht aktiviert. Nach Tötung der Tiere wurden die Kniegelenke mit Hilfe verschiedener Scores makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

Ergebnisse: Makroskopisch wiesen die Tiere der Therapiegruppe bei drei von vier bewerteten Parametern ein signifikant niedrigeres Ergebnis auf ($p < 0,05$), als die Tiere der Kontrollgruppe. Die mikroskopische Auswertung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der Therapie- und der Kontrollgruppe.

Schlussfolgerung: Ein bestehender Unterschied zwischen den beiden verglichenen Gruppen lässt einen Einfluss der MBST®-Therapie möglich erscheinen. Weitere Untersuchungen sind nötig, um diesen Einfluss zu bestätigen.

Die Durchführung dieser Versuche erfolgte gemäß des Antrages auf Versuchsvorhaben mit Wirbeltieren (§ 8 Abs. 1 Tierschutzgesetz). Genehmigung der Bezirksregierung Münster: G 17/2004 AZ. 50.0835.1.0

Tag der mündlichen Prüfung: 04.04.2009

Meiner Familie gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Osteoarthrose (OA)	1
1.1.1 Epidemiologie der Osteoarthrose.....	2
1.1.2 Ätiologie der Osteoarthrose	3
1.2 Gonarthrose (GA)	5
1.2.1 Pathogenese der Gonarthrose.....	8
1.2.2 Posttraumatische Arthrose.....	11
1.3 Tiermodell.....	12
1.4 Therapieformen der Osteoarthrose	14
1.5 Magnetfeldtherapie im Vergleich	16
1.6 Ziel der Studie	21
2 Material und Methode	22
2.1 Versuchstiere und Studiendesign.....	22
2.2 Versuchsgruppen und Versuchsdurchführung	22
2.3 Operationsmethode.....	24
2.4 Die MBST®-Kernspin-Resonanz-Therapie im Kaninchenmodell	25
2.5 Methoden der Probenentnahme und Aufarbeitung der Proben	27
2.5.1 Probenentnahme	27
2.5.2 Makroskopische Beurteilung	28
2.5.3 Gewinnung der histologischen Schnitte	29
2.5.4 Färbeverfahren	31
2.5.5 Histologische Beurteilung.....	34
2.5.6 Statistik	35
3 Ergebnisse	36
3.1 Makroskopische Ergebnisse.....	36
3.1.1 Fibrillationen.....	37
3.1.2 Osteophyten.....	38

3.1.3 Erguss.....	39
3.1.4 Ulzerationen.....	41
3.1.5 Gesamtergebnis Makroskopie	42
3.1.6 Ergebnisübersicht Makroskopie	43
3.2 Histologische Ergebnisse	44
3.2.1 Struktur	45
3.2.2 Zellverteilung und –dichte	46
3.2.3 Färbeverhalten unter Safranin-O	48
3.2.4 Gefäßverteilung im Bereich der Knorpel-Knochen-Grenze	50
3.2.5 Gesamtergebnis Histologie	52
3.2.6 Ergebnisübersicht Histologie.....	53
4 Diskussion.....	55
4.1 Diskussion der Methodik	55
4.1.1 Tiermodellauswahl.....	55
4.1.2 Gewinnung und Auswertung der Proben	58
4.2 Diskussion der Ergebnisse	61
4.2.1 Klinischer Stellenwert der MBST®-Kernspin-Resonanz-Therapie bezogen auf die Osteoarthrose.....	65
4.3 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen.....	65
5 Literaturverzeichnis.....	67
6 Anhang	74
6.1 Makroskopische Befunde	74
6.2 Mikroskopische Befunde	75
6.3 Median (Makroskopie).....	77
6.4 Median (Histologie)	78
6.5 Abbildungsverzeichnis.....	79
6.6 Tabellenverzeichnis.....	80
6.7 Abkürzungsverzeichnis.....	81
6.8 Lebenslauf.....	82
6.9 Danksagungen	83

6.10 Versuchsgenehmigung84

1 Einleitung

1.1 Osteoarthrose (OA)

Die Arthrosis deformans (Synonym: Arthrose, Osteoarthrose) gehört zu den degenerativen Gelenkerkrankungen, die vorwiegend bei einem Missverhältnis zwischen Beanspruchung und Beschaffenheit bzw. Leistungsfähigkeit der einzelnen Gelenkanteile und Gelenkgewebe entsteht (Form-Funktion-Problem).

Pathogenetisch lassen sich eine primäre und eine sekundäre Form unterscheiden: Zu der primären Form zählt man die direkte, die durch Schwerarbeit, Sport oder hohes Körpergewicht verursacht ist und die indirekte Form, bei der es zu einer Verminderung der Leistungsfähigkeit der bradytrophen Gewebe durch endogene Veränderungen kommt (z.B. Alterung, Stoffwechselstörungen).

Die sekundäre Form unterteilt man in eine kongenitale und eine erworbene Gelenkdeformierung. Zu den kongenitalen Störungen zählt man eine zu flache Pfannenbildung, Folgezustände nach Wachstumsstörungen sowie nach bestehender Achsenfehlstellung. Erworbene Formen können nach rheumatischen Gelenkleiden, entzündlichen Gelenkkrankheiten und besonders nach Gelenktraumen auftreten (56).

Sie stellt häufig eine auf den subchondralen Knochen und auf das Gelenkkapselgewebe eingreifende Erkrankung dar. In der Folge kommt es zu sklerotischen Veränderungen des Knochens und zur Bildung von Knochenauswüchsen im Bereich der Knochenränder (Osteophyten) (20).



Abb. 1: Verschmälerung des medialen Kniegelenkspaltes und sichtbare, exophytäre Ausziehungen (linkes Knie). (Swagerty DL. Radiographic Assessment of Osteoarthritis. AFP 2001)

In den letzten 80 Jahren erschienen zahlreiche Studien, die versucht haben, die histologischen Charakteristiken einer Osteoarthrose zu beschreiben.

Im Jahre 1949 haben Collins et al. (12) zum ersten mal ein Modell entwickelt, dass auf die histologischen Veränderungen im Gelenkknorpel eingeht.

Bezogen auf dieses Modell zählen folgende Veränderungen zu den frühen Veränderungen einer Osteoarthrose:

- Verlust der oberflächlich gelegenen Knorpelzellen
- Eine diffuse Knorpelzellabnahme
- Erschöpfung des Anteils an Proteoglykanen

Zu diesem Zeitpunkt kann es ebenfalls zu einem Einwachsen der Gefäße aus der unterliegenden Knochensubstanz kommen. Dieses pathologische Verhalten provoziert die Bildung osteophytärer Anbauten.

Die Chondrozyten lagern sich zusammen und es entsteht das Bild einzelner, kleiner Knorpelzellhaufen. Im weiteren Verlauf wird das Knorpelgewebe immer weiter zerstört, bis es an einigen Stellen der Oberfläche schließlich komplett verschwindet.

An Hand dieser histologischen Veränderungen etablierten Mankin et al. im Jahre 1974 einen Score, mit dessen Hilfe sich die von Collins et al. beschriebenen Eigenschaften bewerten lassen (46).

1.1.1 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 – Wirbelgelenk, Hüfte, Knie und Sprunggelenke – betroffen sind.

Die sozioökonomische Belastung, ebenso wie die individuelle Beeinträchtigung der Patienten, ist erheblich. Nach einer Untersuchung in verschiedenen Ländern, darunter USA, Kanada, Großbritannien, Frankreich und Australien, beläuft sich die jährliche ökonomische Belastung durch Erkrankungen des Bewegungsapparates auf 1 bis 2,5% des Bruttosozialproduktes (49).

Diese Kosten ergeben sich aus den direkten Aufwendungen für die medizinische Versorgung der Patienten und den indirekten Aufwendungen, die aus Problemen wie erhöhter Sterblichkeit, chronischer oder auch zeitweiliger Invalidität erwachsen. Laut WHO rangierten im Jahr 2000 Erkrankungen des Bewegungsapparates an dritter Stelle, nach koronaren Herzkrankheiten und zerebrovaskulären Erkrankungen.

Alleine in den USA litten im Jahr 1995 ca. 40 Millionen Menschen (15% der Bevölkerung) an der Krankheit und im Jahre 2020 geht man von 59 Millionen Menschen aus (18% der Bevölkerung), die an einer Arthrose leiden werden (67).

Bis zu 46 Millionen Arztbesuche und 68 Millionen verlorene Arbeitstage in den USA werden ihr angelastet (51).

In Deutschland erfolgten 1990 über 41 Millionen Arztbesuche wegen degenerativen Gelenkerkrankungen mit 51,8 Millionen Arbeitsausfalltagen (57).

Bei gleich bleibendem alters- und geschlechtsspezifischem Vorkommen der Arthrose ist aufgrund der Bevölkerungsentwicklung mit einem Anstieg der Zahl manifester Fälle von Arthrose bis zum Jahr 2010 um 15% gegenüber 1990 zu rechnen (70). Die Kosten, die durch diese Erkrankung verursacht werden, belaufen sich jährlich auf circa 4,5 Milliarden Euro (15).

1.1.2 Ätiologie der Osteoarthrose

Vor über 220 Jahren wurden bereits erste morphologische Veränderungen von den Gebrüdern Hunter beschrieben (68). Die Erforschung wurde in den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts deutlich intensiviert. Zwischen 1935 und 1970 gelang es, wichtige 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. Außerdem erkannte man die Eigenschaft des Gelenkknorpels, sich unter gewissen Voraussetzungen selbst zu regenerieren und man zog Rückschlüsse auf die physiologischen Eigenschaften des Knorpels (69). 1957 wurde die erste Klassifikation der verschiedenen Schweregrade durch Kellgren und Lawrence vorgenommen (35).

Auch wenn die Osteoarthrose mit fortschreitendem Alter in gewissem Maße als physiologisch gewertet werden kann, darf man sie nicht pauschal als Alterserkrankung darstellen. Ein normales Gelenk kann bis ins hohe Alter funktionstüchtig sein, der Gelenkknorpel kann auch dann immer noch normal aussehen.

Wenn keine Grunderkrankung diagnostiziert werden kann, handelt es sich um eine primäre Arthrose. Sie tritt fast ausschließlich im fortgeschrittenen Alter auf (>60 Jahre) (69). Es besteht die Hypothese einer genetischen Prädisposition, die durch biomechanische, geschlechts- und altersabhängige sowie endokrinologische Faktoren zum Krankheitsbild der Arthrose führt (68).

Die sekundäre Arthrose ist Folge angeborener oder erworbener Schäden (jegliche Arten von Frakturen im Bereich des Gelenkes, Beinachsenfehlstellungen) die sich zum Beispiel direkt auf den Gelenkknorpel, den Stoffwechsel des Gelenkes mit Gelenkentzündungen oder Gelenkerkrankungen mit makroskopischer Gelenkzerstörung auswirken.

Besondere Bedeutung hat die traumatisch induzierte Osteoarthrose, da sie häufig nach Verletzungen des Kniebandapparates auftritt, die dann mit einer Instabilität des Gelenkes einhergehen (59). Gerade bei Jugendlichen entwickelt sich aufgrund des meist starken, traumatischen Einflusses nach Sportverletzungen oftmals eine Arthrose, die sich entweder gar nicht oder nur schwer regeneriert.

Die Fettleibigkeit wird gerade heutzutage als großer Risikofaktor für die Osteoarthrose angesehen, besonders wenn schon in jungen Jahren eine gewisse Übergewichtigkeit besteht (18).

1.2 Gonarthrose (GA)

Der Begriff „Gonarthrose“ beschreibt eine Verschleißerkrankung des Kniegelenks, die in ihrer Definition der allgemeinen Arthrose folgt. Somit gilt auch hier:

Unterschieden werden, die *primäre* (idiopathische) Form mit unbekannter Ursache und die *sekundäre* Form mit bekannten Ursachen, wie zum Beispiel:

- Traumatische Knorpelschädigungen
- Meniskusverletzungen
- Luxationen, Kapsel-Band-Verletzungen
- Intra- und extraartikuläre Frakturen
- Entzündungen
- Mechanische Überbelastung (z.B. durch Adipositas)

Häufig überwiegen Gonarthrosen, bei denen mechanische Faktoren die Ursache zu sein scheinen und die zu einer Störung des Gleichgewichts zwischen Belastung und Belastbarkeit führen.

Der wichtigste Risikofaktor ist das Alter. Die Prävalenz der Gonarthrose steigt mit zunehmendem Alter der Patienten. Das weibliche Geschlecht ist prädestiniert, außerdem haben übergewichtige ein hohes Risiko, eine Gonarthrose zu entwickeln. Die Varusgonarthrose bei übergewichtigen Frauen ist die häufigste Form der Gonarthrose überhaupt. Überbelastung aller Gelenkkompartimente durch schwere körperliche Arbeit sowie einzelner Kompartimente durch Achsfehlstellungen spielen ebenfalls eine wichtige Rolle (19).

Moderner Sport führt nicht direkt zur Gonarthrose. Als unsicher gilt der Zusammenhang zwischen kniebelastenden Sportarten wie Marathonlaufen und der Arthroseentwicklung. Wird Langstreckenlauf als Hochleistungssport betrieben, ist das Risiko einer Gonarthrose 2- bis 3-fach höher als bei Freizeitläufern.

Patienten, die an einer Kniegelenksarthrose leiden, berichten häufig über starke Schmerzen, die initial nur bei Bewegung und nach Belastung (z.B. Treppenauf- und Treppenabsteigen) auftreten. Im fortgeschrittenen Arthrosestadium liegt ein konstanter Ruhe- und Nachtschmerz vor.

Meist resultiert die Gonarthrose in einer zunehmenden Bewegungseinschränkung, sowie in einer Deformierung des Gelenkes (44).

Die Stadieneinteilung der Gonarthrose kann an Hand der Klinik oder nach radiologischen Kriterien erfolgen. Eine häufig verwendete Einteilung ist die radiologische Klassifikation nach Jäger und Wirth (33), mit der sich ein bestehender Arthrosegrad morphologisch bzw. makroskopisch beurteilen lässt.

Schweregrad		Radiologische Kriterien
Grad I	Initiale Gonarthrose	Geringfügige Ausziehungen an der Eminentia intercondylaris und den gelenkseitigen Patellapolen
Grad II	Mäßige Gonarthrose	Ausziehungen auch an den Tibiakonsolen; mäßige Verschmälerung des Gelenkspaltes; beginnende Abflachung der Femurkondylen; mäßige subchondrale Sklerosierung
Grad III	Mittelgradige Gonarthrose	Starke Verschmälerung des Gelenkspaltes; deutliche Endrundung der Femurkondylen; osteophytäre Randwulstbildung an Tibiakonsolen, der Eminentia intercondylaris, den Innenkanten der Femurkondylen und den gelenkseitigen Patellapolen; ausgeprägte subchondrale Sklerosierung
Grad IV	Ausgeprägte Gonarthrose	Gelenkdestruktion mit ausgeprägter Verschmälerung bis Aufhebung des Gelenkspaltes und unruhiger Randkontur; zystische Veränderungen an Tibiakopf, Femurkondylen und Patella; Subluxationsstellung des Femurs gegenüber der Tibia

Tab. 1: Klassifikation der Gonarthrose nach Jäger/ Wirth

Häufig werden die histologischen Stadien einer Gonarthrose wie folgt dargestellt:
Im *Stadium I* kommt es zu einer deutlichen Knorpelverdickung.

Der Knorpel erweicht und es treten gehäuft Fibrillationen und Ulzerationen auf, die als horizontale und vertikale Einrisse besonders gut auf der Knorpelschicht der Tibia zu erkennen sind.

Die Zahl der Chondrozyten nimmt in der oberflächlichen Schicht ab und ein Proteoglykanverlust ist nachweisbar.

Stadium II zeigt eine Knorpelverschmälerung.

Im *Stadium III* bilden sich in den tieferen Schichten Cluster (Gruppen funktions-tüchtiger Chondrozyten). Die vertikalen Einrisse vergrößern sich und der Anteil des Kalkknorpels am Gesamtknorpel nimmt zu.

Ausgehend vom Periost bilden sich verstärkt osteophytäre Anbauten aus.

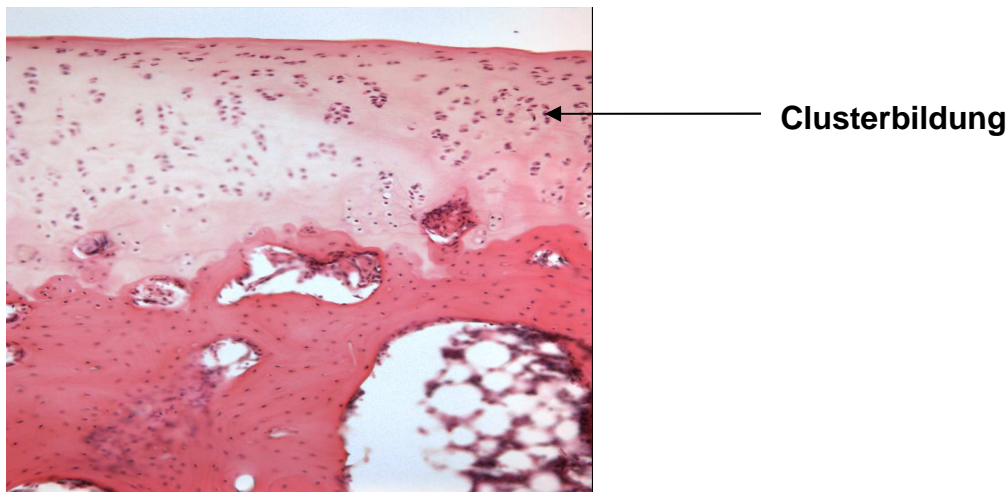
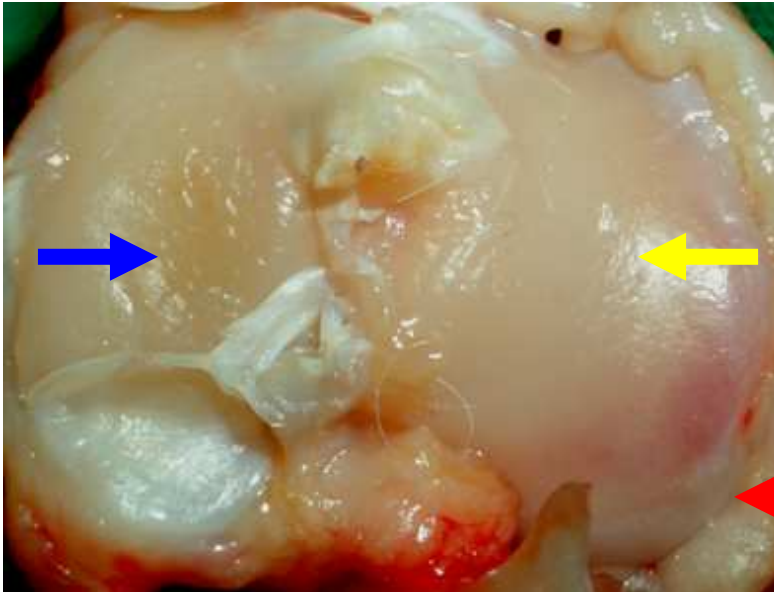


Abb. 2: Knorpelgewebe mit Clusterbildung (histologischer Schnitt; HE)

Das *vierte* und letzte *Stadium* weist auch in den tieferen Schichten des hyalinen Knorpels nekrotische Chondrozyten auf. Der Knorpelabbau betrifft zunehmend auch den Kalkknorpel und endet in einem vollständigen Knorpelverlust.

Auf Höhe des subchondralen Raumes kommt es im späteren Stadium der Arthrose zu einem Einwachsen der Gefäße.

Knorpelabbau und später auch Knochenpartikel führen zu einer sogenannten Detritussynovialitis (81). Welche zu den klassischen Entzündungszeichen (Überwärmung, Hyperämie, Schwellung, Schmerz) führt.



**Abb. 3: Osteophytäre Anbauten (Pfeil rot); Fibrillationen (Pfeil gelb);
Ulzerationen (Pfeil blau)**

Die Osteoarthrose ist als Ergebnis progressiver Gelenkknorpelzerstörung anzusehen und führt gerade in der älteren Population zu Bewegungseinschränkungen und physischen Behinderungen.

In den USA werden jährlich mehr als 250.000 Knieprothesen eingesetzt um dem Gelenkverschleiß und den Folgesymptomen der Osteoarthrose entgegen zu wirken (58).

1.2.1 Pathogenese der Gonarthrose

Verantwortlich für die Entstehung einer Gonarthrose sind im Wesentlichen metabolische und mechanische Prozesse.

Neben Arbeitsgruppen, die biochemische Konzepte erklären, gibt es andere, die eine mechanisch induzierte Arthrose mit Hilfe verschiedener in vivo Modelle untersucht haben (Hashimoto et al. (27), Guilak et al. (26))

Unterschiedliche Theorien über die initialen Prozesse der Entwicklung einer Arthrose gehen von einer primären Schädigung des hyalinen Knorpels oder des subchondralen Knochens aus (59).

Im Prozess der Arthrose findet sich eine gesteigerte Syntheseaktivität der Chondrozyten. Es wird vermutet, dass im Verlauf der Arthrose ein intensiver Reparaturversuch abläuft, der irgendwann zum Erliegen kommt.

So besitzt hyaliner Knorpel, im Gegensatz zur Selbstheilungstendenz des Knochens, eine niedrigere Heilungskapazität (62). Der Knorpel ist jedoch zeitlebens syntheseaktiv und teilungsfähig, da er Chondroblasten enthält, die durch Proliferation und Synthese von Interzellulärsubstanz auch kleinere Gewebedefekte heilen kann (6). Oberflächliche Läsionen von mehreren mm² zeigen jedoch keine Bildung von Reparationsgewebe (37). Aus tiefen, d.h. den subchondralen Knochen erreichenden Defekten, kann Regenerationsgewebe von variabler, fibröser bis hyalinartiger Beschaffenheit entstehen. Seine Haltbarkeit scheint jedoch begrenzt (65). Wie die mineralisierte Zone, die die Fähigkeit zur Knochenbildung behält, bei der Rekrutierung von Osteoblasten und Osteoklasten und der Remodellierung der Gelenkoberfläche in Abhängigkeit der Gelenkbeanspruchung wirkt, wird diskutiert (75).

Im Bereich des hyalinen Knorpels tritt bereits im frühen Stadium der Arthrose ein, die oberflächlichen Anteile des hyalinen Knorpels betreffender Verlust von Proteoglykanen ein, welcher im Prozess der Arthrose zunimmt. Er entwickelt sich proportional zum Schädigungsgrad. Einhergehend damit kommt es zur Erweichung des Knorpels. Als Ursache für den Verlust kommen eine Störung der Proteoglykansynthese, eine Störung des Proteoglykanabbaus und die Schädigung des Kollagenfasernetzes in Frage.

Eine gestörte Proteoglykansynthese kann u. a. wie folgt beschrieben werden:

- Proteoglykane weisen einen erhöhten Gehalt an Chondroitinsulfat auf, was einem unreifen Knorpel entspricht
- Fehlende Aggregation mit Hyaluronsäuren
- Störungen des Linkproteins zwischen Proteoglykanen und Hyaluronsäure
- Erhöhte Konzentration niedermolekularer Proteoglykane (22).

Verschiedene Enzyme spielen bei dem Abbauprozess eine Rolle. Zu den am besten untersuchten Enzymen gehören die Kollagenasen, saure Phosphatase, Katherpsin D und B, Arylsulfatase A und B, Lysozym und die β -Glukuronidase.

Bildungsort sind die Chondrozyten (34).

Eine sehr umfangreiche, in ihren Funktionen unterschiedliche Gruppe sind die von aktivierten Makrophagen und Chondrozyten gebildeten Interleukine (IL) (21). Sie sind an katabolen und an anabolen Prozessen beteiligt.

IL-1 gehört in erster Linie zur Gruppe der katabolen Zytokine. Sie regulieren die Biosynthese von Matrixproteinen herunter und können die Genexpression von Matrixmetalloproteinasen steigern (78). Neben IL-1 haben, bezogen auf die Arthrose, noch IL-4, IL-6 und IL-10 Einfluss auf die auf- und abbauenden Prozesse im Gewebe. Der Tumornekrose-Faktor (TNF) gehört zur Gruppe der katabolen Zytokine. Im Gegensatz zu IL-1 besitzt er jedoch eine zehnmal niedrigere Fähigkeit Knorpelgewebe zu zerstören. TNF wurde vermehrt bei Patienten gefunden, die bereits eine rheumatoide Arthritis haben. Wie IL-1 senkt er die Biosyntheserate der Matrixproteine und erhöht die Synthese von Metalloproteinasen (78), die einen Teil des katabolen Effektes auf das Knorpelgewebe ausüben.

Seit einigen Jahren wird ebenfalls verstärkt an Rezeptoren geforscht, die unter anderem auf physiologisch intakten, aber auch auf pathologisch veränderten Chondrozyten nachweisbar sind. Der CD44-Rezeptor findet sich in großer Vielfalt (momentan sind mehr als 30 Isoformen bekannt) auf den verschiedensten Zellen.

Bezogen auf die Interaktionen der Chondrozyten mit der umgebenen Matrix, konnten dem CD44-Rezeptor Aufgaben der Aufrechterhaltung, der Homöostase und der Verankerung der extrazellulären Matrix zugeschrieben werden. Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass bestimmte Isoformen des Rezeptors an der Pathogenese der Arthrose beteiligt sind (63). In diesem Zusammenhang wiesen Fuchs et al. (24) eine gesteigerte Expression von CD44v5 in Knorpel und Synovia von Patienten, im Endstadium der Gonarthrose nach.

Durch ein entstandenes Ungleichgewicht der genannten Arthrosefaktoren kann es zu Störungen in dem Kollagenfasernetz kommen. Im Wesentlichen kommt es zu einer vielfachen Steigerung der Syntheserate, ebenfalls jedoch reduziert sich die

Menge des Gesamtkollagens. Hauptbestandteil dieses Fasernetzes sind Kollagen II, III, V, IX und XI.

Kollagen Typ II ist der Hauptbestandteil der interzellulären Knorpelmatrix. Perizellulär kommt Typ V vor. Es wird eine Änderung der Qualität des Knorpels durch diese Kollagene angenommen (17).

Häufig findet man bei einem arthrotischen Knie ebenfalls eine vermehrte Einlagerung von Wasser. Ursächlich hierfür ist der Verlust der Proteoglykane, die normalerweise eine hohe Wasserbindungskapazität besitzen.

Die physiologische Biomechanik des Kniegelenks ist dann gewährleistet, wenn es zu einer optimalen Druckverteilung im Gelenk kommt.

Kongruenz, Stabilität, Achsenstellung und die neuromuskuläre Balance zählen zu den wichtigsten Faktoren der biomechanischen Funktionseinheit.

Kommt es zu einer Abweichung dieses Konzeptes, kann es unter anderem zu Mikrofrakturen der Knochen trabekel kommen, die wiederum eine Zunahme der Dicke der subchondralen Knochenlamelle bewirkt.

Somit kann es zu einer Versteifung des Knochens mit anschließender Erhöhung der Stoßbelastung kommen.

Weiterhin können Gefäßeinbrüche entstehen, die bis an den basalen, hyalinen Knorpel reichen, sobald die Chondrozyten nicht mehr in der Lage sind, Proteaseinhibitoren zu produzieren (26).

1.2.2 Posttraumatische Arthrose

Gelenktraumen und ihre Komplikationen bilden einen Großteil der Störungen, die von orthopädischen Chirurgen angetroffen werden. Die Knieverletzungen zählen mit 5,7% bis 20% zu den häufigsten Gelenktraumen. Bei 20%- 40% aller Sportler, die einen orthopädischen Chirurgen aufsuchen, wird ein Kniegelenkstrauma diagnostiziert (71). Verletzungen des Bandapparates, der Menisken und/ oder der Gelenkscapsel zählen zu den Auslösern nachfolgender Komplikationen wie zum Beispiel der post-traumatischen Arthrose.

Kommt es zu einem solchen Trauma, ist es für die Prognose von Bedeutung, wie tiefgreifend die Verletzung der Knorpeloberfläche ist (60).

Bei kleinen Defekten, die durch ein Trauma verursacht wurden, lässt sich eine hohe mitotische Aktivität in dem benachbarten Gewebe der Läsion nachweisen. Diese Aktivität ist assoziiert mit einem Anstieg verschiedener Matrixkomponenten. Der Prozess ist jedoch von kurzer Lebensdauer und nach einer Woche kommt es zu einer Normalisierung und es lassen sich Werte messen, die ähnlich der Werte von schein-operierten Tieren sind (47, 45).

Rosenberg et al. (61) wiesen an einem Kaninchenmodell nach, dass selbst ein Jahr nach Induktion eines auf die Knorpelzellschicht limitierten Traumas, keine wesentlichen Reparatur- oder Umbauprozesse stattgefunden hatten.

Bei Inzisionen, die jedoch bis auf die subchondrale Knorpel-/ Knochenschicht treffen, kann es zu Einblutungen kommen. Dieses Blut und undifferenzierte Zellen besitzen die Fähigkeit sich im Laufe einer kurzen Zeit zu Fibroblasten umzuwandeln und in einer Art „Fibroblasten-Klumpen“ einen Grossteil des Defektes zu verschließen (46).

Patienten leiden abhängig von der Intensität eines Traumas unter Schmerzen und Bewegungseinschränkungen. Die posttraumatischen Struktur- und Funktionsstörungen umfassen permanente und progrediente Gelenkknorpeldegenerationen, Kapselkontrakturen, Gelenkinstabilität und Fehlstellungen die somit zur Arthrose führen können (59).

Es wird vermutet, dass von den 21 Millionen Amerikanern, die an einer Osteoarthrose leiden, 10% posttraumatischen Ursprungs sind.

Die genauen Funktionsmechanismen, die zu einer posttraumatischen Arthrose führen sind bis heute noch nicht vollständig verstanden (25).

1.3 Tiermodell

Die meisten Ergebnisse über die Prozesse bei Gonarthrosen wurden im Rahmen von tierexperimentellen Untersuchungen (metabolisch, mechanisch) gewonnen.

Hauptsächlich verwendet man Kaninchen, Schweine oder Hunde, sowie Ratten, Mäuse und auch Vögel. Der Erfolg einer Methode hängt davon ab, in wie weit die Vorgänge im Modell mit denen im Menschen übereinstimmen.

Die Vorteile, mit Tiermodellen zu arbeiten liegen darin, die Nummer der Variablen zu kontrollieren.

Drei Techniken werden voranging angewandt, um eine Gonarthrose *in vivo* zu erzielen. Man kann sie mechanisch durch Destabilisation oder Immobilisation nach intra- oder extraartikulärer chirurgischer Intervention induzieren.

Eine weitere Möglichkeit ist die Induktion einer chemischen Substanz, wie z.B. Kollagenase (36), bei der allerdings der Nachteil besteht, dass im initialen Ausmaß ein unbekannter Knorpelschaden entsteht.

Für die mechanische Arthrose wurden bereits ab 1970 Modelle am Kaninchen beschrieben (30). Zunächst wurde ein Modell mit partieller oder kompletter Entfernung des Meniskus publiziert (50).

Ehrlich et al. durchtrennten 1975 am Kaninchen beide Kreuzbänder sowie das mediale Kollateralband und fanden nach Ablauf von 6 Monaten eine Osteoarthrose, die mit der beim Menschen übereinstimmt (14).

Dieses Modell wurde dann durch ein Modell mit isolierter Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes abgelöst, welches ebenfalls eine Osteoarthrose induziert und das momentan als Standardmodell angesehen wird (80).

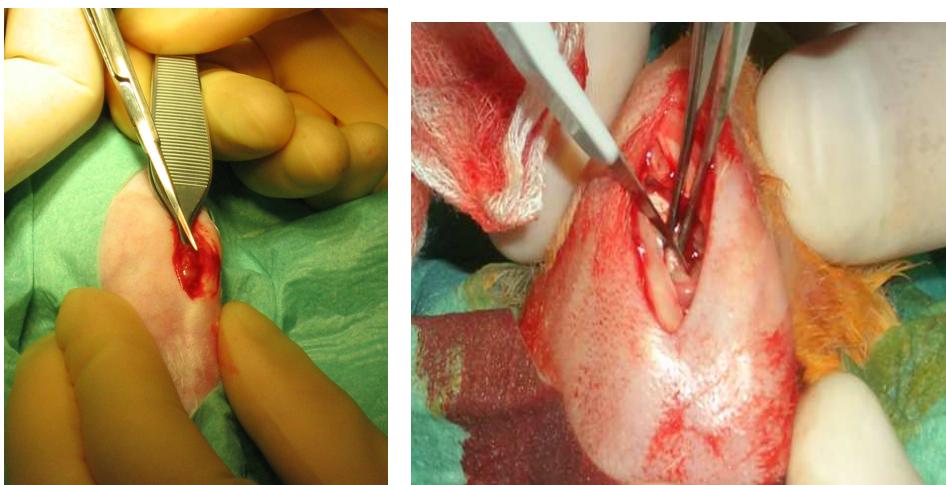


Abb. 4 und Abb. 5: Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes (VKB) intraoperativ.

Das Kaninchenmodell ist das Modell, welches am häufigsten Anwendung findet, wenn es um die induzierte Arthrose geht. Es ist einerseits groß genug, um an ihm selbst aufwendigere Operation wie z.B. den Kreuzbandersatz durchzuführen, andererseits ist es weit verfügbar, gut zu halten und die pathologischen Prozesse sind in einer großen Anzahl der Fälle auf den Menschen übertragbar.

1.4 Therapieformen der Osteoarthrose

Die Möglichkeiten, eine Arthrose zu behandeln sind heutzutage sehr vielfältig. Daher wird im Folgenden auf die Behandlungsformen eingegangen, die Schwerpunkt gängiger wissenschaftlicher Studien sind.

Hierzu gehören, die konservative Therapie und die chirurgische Therapie.

Mit Hilfe einer medikamentösen Therapie versucht man in erster Linie, die schmerzarme oder –freie Bewegungstherapie zu unterstützen und ein Fortschreiten der Erkrankung zu unterdrücken. Bevorzugt werden Medikamente wie nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAPs) und Analgetika.

Nicht-steroidale Antiphlogistika spielen bei der Behandlung der aktivierten Arthrose eine zentrale Rolle. Sie können sowohl lokal als auch systemisch verabreicht werden. Der therapeutische Effekt ebenso wie das Nebenwirkungspotential von NSAPs beruht auf der Hemmung der Cyclooxygenase. Dieses Enzym besteht aus zwei Isoformen: COX-1 / COX-2.

COX-1 bildet Prostaglandine, die im Gastrointestinaltrakt und an der Niere zytoprotektiv wirken, während COX-2 als Antwort auf pro- inflammatorische Reize, bei der Wundheilung und der Perfusionsregulation beteiligt werden. Aufgrund gastrointestinaler Nebenwirkungen werden NSAPs mit Vorsicht eingesetzt. Zu den sichersten gehören Ibuprofen, Naproxen, Indometacin und Diclophenac. Medikamente wie Paracetamol und Flupirtin gehören zu den Analgetika der ersten Wahl in der Behandlung der Arthrose.

Da die gastroprotektiven Prostanide insbesondere durch die konstitutive COX-1-Isoform gebildet werden und somit COX-1-Hemmer bzw. unselektive Hemmer diesen physiologischen Effekt inhibieren, erhoffte man sich durch die Entwicklung selektiver COX-2-Hemmer eine Ausschaltung dieses Nebenwirkungspotentials. Ein endoskopisch nachgewiesenes niedrigeres Risiko der Entstehung gastrointestinaler Geschwüre ist der Hauptgrund für ihren therapeutischen Einsatz (28). Man setzt selektive COX-2-Hemmer zur Reduktion der Reizzustände degenerativer Gelenkerkrankungen und rheumatoider Arthritis, sowie bei Schmerzen ein (44).

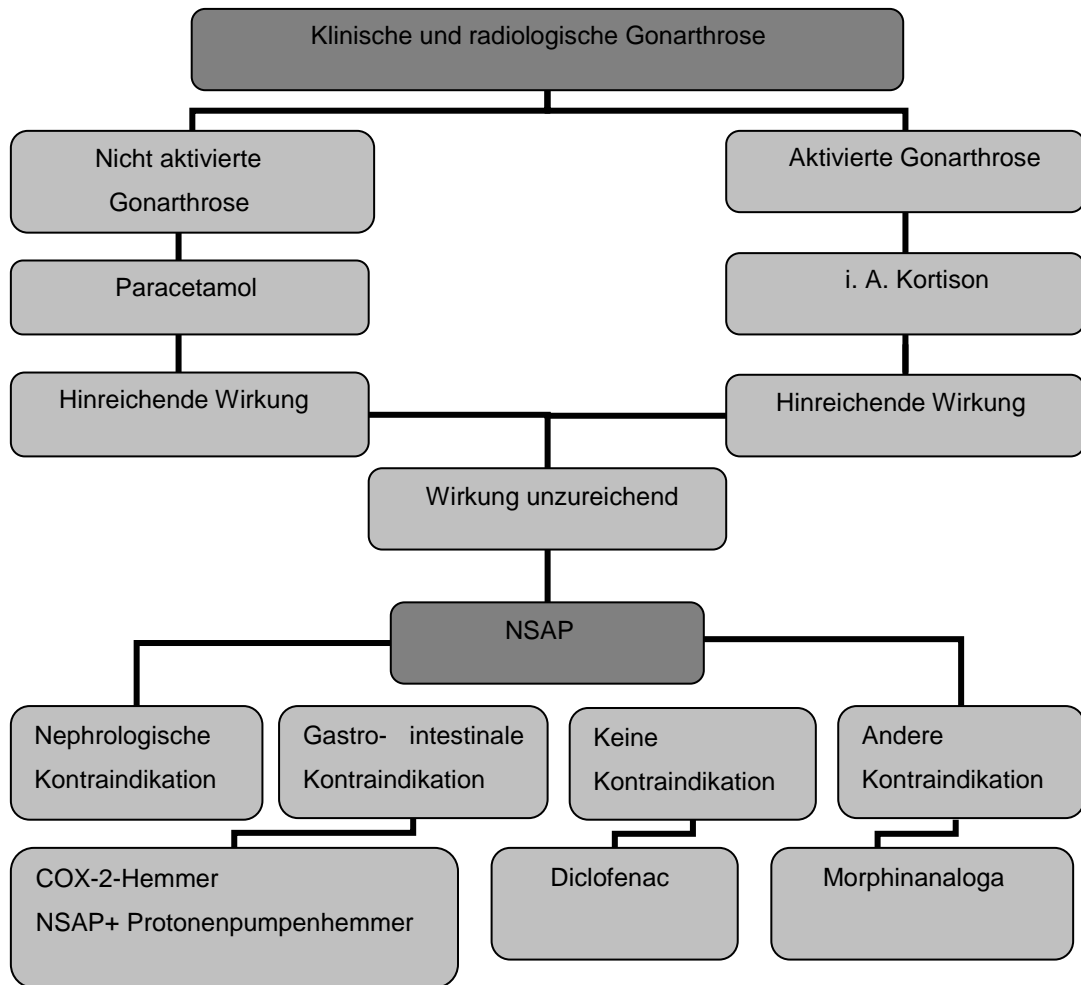


Abb. 6: Übersicht über eine konservative Therapiemöglichkeit

Zur operativen Behandlung der Gonarthrose gehören gelenkerhaltende Maßnahmen, wie die Umstellungsosteotomie, bei der die Last auf eine weniger stark betroffene Knorpelzone verteilt wird, um so eine höhergradige Arthroseform abzuwenden oder die Progredienz einer bereits bestehende Arthrose einzudämmen. Arthroskopische Spülungen zum Auswaschen von Zelldetritus bringen bei beginnender Gonarthrose gute Ergebnisse. Ultima ratio ist der Gelenkersatz. Er kann Teile des Gelenkes ersetzen oder aber auch „total“ sein. Da die heutigen Prothesen eine begrenzte Haltbarkeit haben, wird die totale Endoprothese allerdings erst ab dem 60. Lebensjahr empfohlen, soweit dies möglich ist. Therapiemethoden die zukünftig neue Möglichkeiten bieten können, sind die autologe Knorpeltransplantation (AKT) sowie minimalinvasive Operationsverfahren (71).

1.5 Magnetfeldtherapie im Vergleich

Eine weitere Möglichkeit der Arthrosebehandlung ist die Therapie mit Hilfe von Magnetfeldern. Man muss generell unterscheiden, um welche Form der Anwendung eines Magnetfeldes es sich handelt. Zwei bisher intensiv untersuchte Formen, sind die Therapie mit *statischen Magnetfeldern* und mit *pulsierenden elektromagnetischen Feldern*.

In-vivo Studien über die Wirkung von statischen Magnetfeldern auf die Osteoarthrose zeigen einen positiven Effekt bezogen auf das Schmerzverhalten des Patienten oder den Einfluss auf einzelne Entzündungsparameter im Kniegelenk (32, 79, 77).

In-vitro Modelle, bei denen die Wirkung auf Wachstumsfaktoren untersucht wurde, beschreiben häufig einen stimulierenden Effekt, ausgehend von dem eingesetzten Magnetfeld (1).

Die Wirkungsform von pulsierenden elektromagnetischen Feldern gehört ebenfalls, in einem hohen Maße, zu dem Schwerpunkt derzeitiger wissenschaftlicher Arbeiten. Es konnte aufgezeigt werden, dass es eine Zunahme der Proliferation menschlicher Chondrozyten und Wachstumsfaktoren gab (13, 31). Zusätzlich zeigen Arbeiten, dass es einen Effekt auf typische Arthrosefaktoren wie z.B. Interleukine, Stromelysine und Kollagenasen gibt (10).

Der Unterschied in den beiden oben genannten Formen besteht überwiegend darin, dass bei einem gepulsten elektromagnetischen Feld ein gleichstromgerichtetes, sich ständig wiederholendes Signal verwendet wird, dass mit einer bestimmten Intensität und einer bestimmten Frequenz übertragen wird (4). Dieses, Frequenzgebundene Signal, gibt es bei statischen Magnetfeldern nicht.

Das Prinzip der Magnetfeldwirkung ist noch nicht vollends verstanden. Generell wird davon ausgegangen, dass es auf biochemischer Ebene zu einer Induktion einzelner Signalkaskaden und somit zu einer Beeinflussung biophysikalischer Prozesse, basierend auf verschiedenen Transportproteinen (Ionenkanäle, Tunnelproteine) kommt.

Die in dieser Arbeit untersuchte Wirkung des Therapiegerätes der Firma MedTec Medizintechnik GmbH, Wetzlar, (MBST[®]) gehört neben den oben genannten, zu einer weiteren Form eventueller Therapiemöglichkeiten der Osteoarthritis.

Generell handelt es sich bei der MBST[®]-Therapie um eine neue Variante physikalischer, nichtinvasiver Verfahren zur Behandlung verschiedener Krankheitsbilder.

Um einen nachweislichen Effekt dieser Therapieform nachvollziehen zu können, wird im Folgenden auf das Wirkprinzip des MBST[®]-Therapiegerätes und die hypothetische Wirkung im Organismus eingegangen.

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 diese Kerne ungeordnet, das heißt in alle Richtungen zeigend, im Gewebe vor.

Wird nun ein statisches Magnetfeld (M1) von außen angelegt, so richtet sich der 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.

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

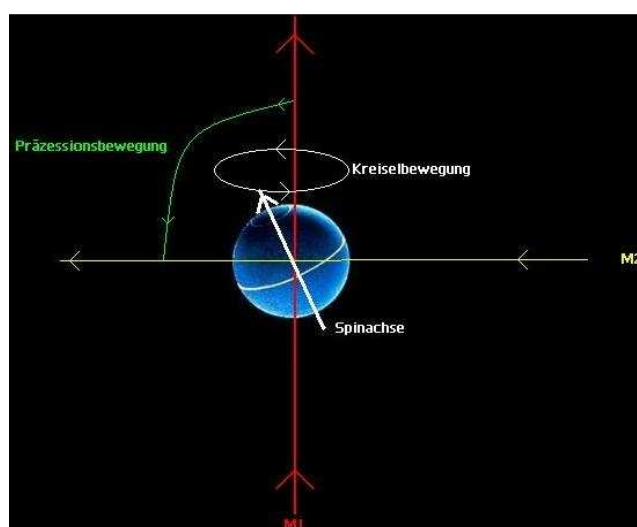


Abb. 7: Schematische Darstellung eines Atoms unter Magnetfeldeinfluss

Wird dieses Magnetfeld (M1) abgestellt „fällt“ der Kern in seine ursprüngliche Lage zurück und führt währenddessen 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.

Das Umklappen des Kerns aus dem ursprünglichen Feld M1 wird als *Kernspinresonanz* bezeichnet. 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 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 und Energie wird abgegeben.

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.

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. Diese Tatsache ist für eine erfolgreiche Nutzung des MBST[®]-Gerätes von Bedeutung.

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 (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 geben gleichzeitig ein KSR-Signal (Energie) ab, das die Umgebungszellen, im Bereich der oben genannten Larmorfrequenz, beeinflusst.

Für KSR-Verfahren müssen folgende Bedingungen erfüllt sein:

1. Das Wechselfeld (M2) muss senkrecht zu dem statischen Feld (M1) stehen.
2. Die Frequenz des Wechselfeldes ist korreliert mit dem statischen Feld (die Larmorfrequenz der Protonen ändert sich proportional zu der Feldstärke des statischen Feldes)
3. Zwischen zwei konsekutiven KSR-Sequenzen muss eine Mindestzeit folgen, um die Protonenmagnetisierung wiederherzustellen (etwa 5 – 50Hz Repetitionsrate, gewebeabhängig).

Mit Hilfe einer „Sweep-Spule“ wird die Stärke des Magnetfeldes langsam sinusförmig geändert, um für alle Protonen die Kernspinresonanzbedingung zu erfüllen. Gleichzeitig wird bei jeder Abnahme der Feldstärke der Radioimpuls (M2) gesendet (23, 73).

Welche genaue Auswirkung diese Energieabgabe hat, ist im Einzelnen noch nicht ganz eindeutig.

Bezogen auf den Organismus wäre eine Wirkung ähnlich der, eines pulsierenden elektromagnetischen Feldes, denkbar. Das heißt, dass es auch unter der MBST[®]-Therapie unter anderem zu einer Beeinflussung von Protonenkanälen kommen kann und der Transport von Protonen schneller abläuft.

Hellwig et al. (29) beschreiben einen Zusammenhang zwischen Protonenkanälen und Rezeptoren für Vanillinsäure, die eine Rolle in der Schmerzübertragung spielen. Somit wäre ein Einfluss auf das Schmerzempfinden bei Patienten mit einer Osteoarthritis denkbar.

Weitere in-vitro und in-vivo Studien wurden innerhalb der letzten Jahre durchgeführt. Artmann et al. (3) testeten das Gerät an Fibroblastenkulturen. In dieser Studie wurde die MBST[®]-Therapie gegen Placebo geprüft. Unter der Anwendung des MBST[®]-Gerätes kam es im Gegensatz zu der Placebo kontrollierten und der Gruppe, die einem statischen Magnetfeld ausgesetzt war, zu einer Änderung der Proteinsynthese, bei der eine Hochregulierung einer Proteinklasse, wie auch Abregulierung einer anderen Proteinklasse gefunden wurde.

Krösche et al. (39) führten an 30 Patienten mit teilweise multiplen Gelenksbeschwerden eine prospektive Studie durch. Die Gesamtergebnisse dieser Studie zeigen bei 76,7% eine Beschwerdeverbesserung an einem behandelten Gelenk und bei 70% der Patienten eine Beschwerdeverbesserung an mehreren Gelenken.

In dieser experimentellen Arbeit soll der Einfluss der MBST[®]-Therapie, bezogen auf eine post-traumatische Arthritis, im Kaninchenknie untersucht werden.



Abb. 8 und Abb. 9: Ansicht der Therapiespulen mit angebauter Liegefläche für die zu therapierenden Tiere.

1.6 Ziel der Studie

Ziel der vorliegenden Studie war der Wirksamkeitsnachweis der Magnet-Bio-Signal-Therapie® auf die Morphologie des Gelenkknorpels im Tiermodell, bei einer zuvor induzierten und sich über sechs Wochen entwickelnden, post-traumatischen Gonarthrose.

Es ist bekannt, dass elektromagnetische Felder und gepulste elektromagnetische Signale Einfluss auf Knorpelzellen haben und zu einer Ausrichtung und vermehrten Syntheserate führen können (11, 43).

Es liegen Hinweise darauf vor, dass eine Behandlung - insbesondere bei relativ frischen Gelenkarthrosen - mittels elektromagnetischer Felder und gepulster elektromagnetischer Signale, den Krankheitsverlauf positiv beeinflussen kann.

2 Material und Methode

2.1 Versuchstiere und Studiendesign

Als Versuchstiere dienten 12 männliche, ausgewachsene, skelettreife Kaninchen der Rasse „Neuseeland-Weiß“ (Fa. Peter Rollié, Oelde, Deutschland) mit einem Körpergewicht von 3,5 bis 4 Kilogramm.

Die Studie wurde mit insgesamt zwölf Tieren durchgeführt.

Die Tiere bieten, aufgrund ihrer körperlichen Eigenschaften und ihres schnelleren Stoffwechsels im Gegensatz zu anderen Versuchstierarten, optimale Voraussetzungen für die Untersuchung am Skelettsystem.

Sie wurden insgesamt über einen Zeitraum von acht Wochen in einem Käfig mit Kunststoffboden und vorhandener, innerer Kunststoffbox gehalten. Ein Futter- und ein Wasserspeicher wurden am Käfig befestigt, sodass die Tiere ihren Ernährungsrhythmus selbst bestimmen konnten. Alle Tiere wurden bei einer Raumtemperatur von 20- 22 °C und einem Beleuchtungsintervall von 7.00 bis 19.00 Uhr gehalten, um Tages- und Nachtphasen zu erzeugen, nach denen sich die Tiere richten.

2.2 Versuchsgruppen und Versuchsdurchführung

Der Versuchsaufbau gliedert sich insgesamt in 2 Versuchsgruppen, eine Therapie- und eine Kontrollgruppe.

Gruppe	Bezeichnung	Tiere (n)	Knie (n)
I	Therapiegruppe (T)	8	16
II	Kontrollgruppe (K)	4	8

Tab. 2: Versuchsgruppen

Die Therapiegruppe und die Kontrollgruppe wurden dem gleichen Zeitplan untergeordnet. Sie wurden am selben Tag operiert und für sechs Wochen in einem Käfig gehalten. Anschließend erhielt jedes Tier der Therapiegruppe über eine Woche lang, jeden Tag eine Therapiestunde, wohingegen jedes Tier der Kontrollgruppe zeitgleich eine nicht effektive Scheintherapie bekam.

Nach diesen sieben Wochen wurden alle Tiere eine weitere Woche in den Käfigen gehalten und schließlich unter schmerzfreien Bedingungen getötet.

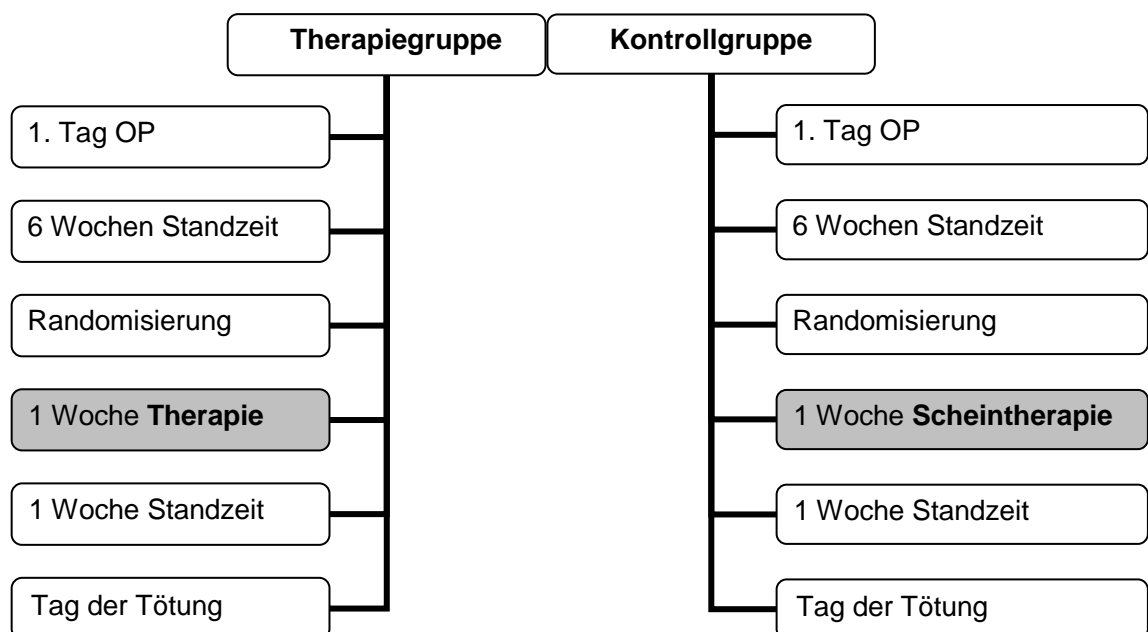


Abb. 10: Darstellung des Zeitplans

2.3 Operationsmethode

Alle Eingriffe wurden in Form einer parenteralen Mischanästhesie mit 0,5 ml (20mg/ml) Xylacin Hydrochlorid und 1,5 ml (100mg/ml) Ketamin Hydrochlorid durch eine i.m.-Applikation in die Paravertebralmuskulatur eingeleitet. Nach ca. 5 Minuten trat bei den Tieren eine suffiziente Anästhesie und Narkose für eine Periode von ca. 30- 45 Minuten ein. Innerhalb dieses Zeitraumes war es möglich, die Tiere für die Operation vorzubereiten (Rasur, steriles Abwaschen des OP-Bereiches) und die Operation an den jeweils beiden Hinterläufen durchzuführen. Die zu operierenden Hinterläufe wurden mit 80%igem, gefärbten Alkohol 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 konnten die Hinterläufe gut fixiert und betrachtet werden, und bei den Tieren konnten permanent die Atmung, sowie die Pupillenreflexe überprüft werden.

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 mm defektstreckig durchtrennt. Zur Überprüfung der Kniegelenksinstabilität wurde intraoperativ der Lachmann-Test durchgeführt.

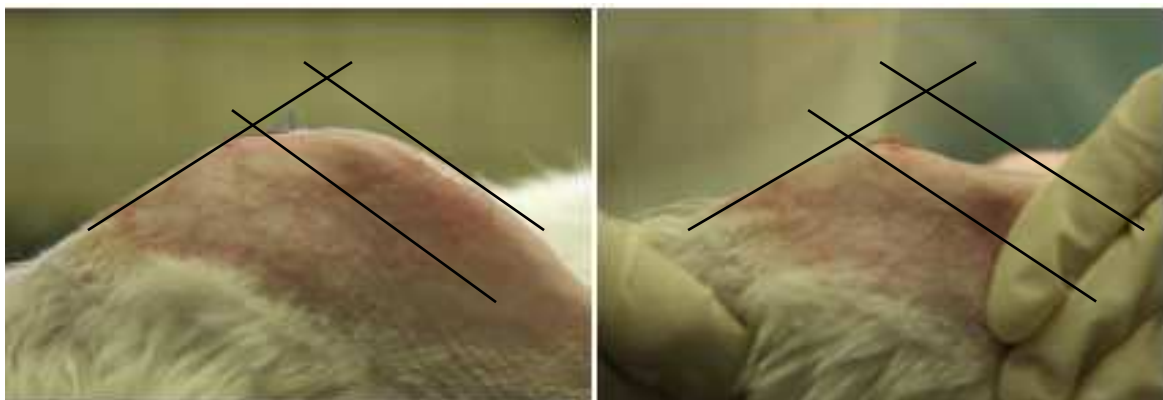


Abb. 11 und Abb. 12: Intraoperativer Lachmann-Test

(Knie in normaler, gebeugter Stellung; Abb.11)

(Tibia gegen den Femur nach ventral disloziert: vordere Schublade; Abb.12)

Es erfolgte die Spülung des Gelenkes mit 0,9%iger NaCl-Lösung. 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 den Käfigen (Maße: 100cm x 70cm x 40cm) bewegen. In den folgenden sechs Wochen wurden sie täglich auf ihren Gesundheitszustand hin untersucht, um frühzeitig eventuelle Infektionszeichen oder postoperative Komplikationen zu erkennen. Die Wundverhältnisse der Tiere wiesen keinerlei Anzeichen im Hinblick auf Heilungsstörungen auf und es musste ebenfalls keine Sekundärnaht gezogen werden. Die Tiere akzeptierten die stattgefundene Wundversorgung und den postoperativen Zustand ausnahmslos gut.

2.4 Die MBST[®]-Kernspin-Resonanz-Therapie im Kaninchenmodell

Nachdem sich alle Tiere sechs Wochen lang in den Käfigen bewegen konnten, wurden sie für die Therapiewoche vorbereitet.

Bei allen Tieren wurde gleich verfahren. Die Sedierung erfolgte mit 1,5 ml (100mg/ml) Ketamin Hydrochlorid und 0,5 ml (20mg/ml) Xylacin Hydrochlorid. Diese Sedierung wurde dann bei jedem Kaninchen individuell, durch eine niedriger dosierte Gabe, für eine Stunde aufrecht gehalten. Die Menge der Sedierung konnte in allen Fällen gering gehalten werden, da die anschließende Therapie für die Tiere schmerzfrei gewesen ist.

Nach eingetretener Narkose wurden immer zwei Tiere in eine Therapiespule der Firma Med Tec[®] gelagert, und die Knie der Versuchstiere wurden im Zentrum der Spule fixiert, um sie im Wirkungsbereich, einem kugelförmigen Feld, zu halten. Während die Therapiegruppe einem einwirkenden Magnet-Resonanz-Feld ausgesetzt wurde, wurden die Tiere der Kontrollgruppe nur narkotisiert, nicht aber in die Spule gelegt, um dem Einfluss des permanent bestehenden Magnetfeldes nicht ausgesetzt zu werden.

Somit war es möglich, in Bezug auf die äußeren Einflüsse und die versuchsnotwendigen Faktoren, für alle Tiere die notwendigen Voraussetzungen zu schaffen.

Zentrum der Therapiespule

Therapiespule

Liegefläche für ein Tier



Abb. 13: Ansicht auf zwei funktionsbereite MBST®-Spulen

Dieses Verfahren, wurde an sieben aufeinander folgenden Tagen, jeweils eine Stunde pro Tag an jedem Kaninchen durchgeführt.

Nach Ablauf jeder einzelnen Therapiesequenz wurden die Tiere aus den Therapiegeräten herausgenommen und umgehend wieder in ihre Käfige gebracht.

In den Käfigen konnten sie sich anschließend wieder bewegen, und erhielten Wasser und Futter ad libitum. Bei keinem Tier wurde ein Narkosezwischenfall beobachtet.

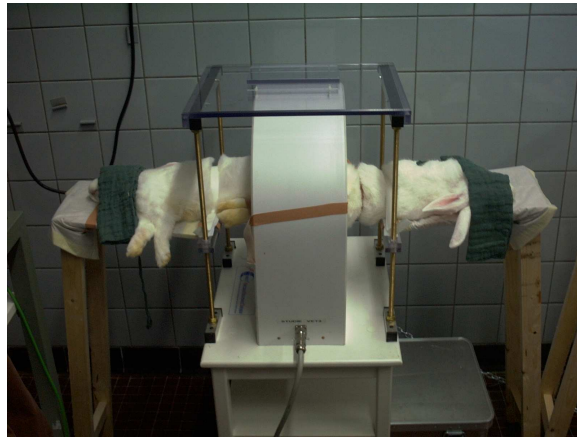


Abb. 14 und Abb. 15: Front- und Seitenansicht von in einer Therapiespule gelagerten Versuchstieren.

2.5 Methoden der Probenentnahme und Aufarbeitung der Proben

2.5.1 Probenentnahme

Mittels einer Mischnarkose aus 1,5 ml (100mg/ml) Ketamin und 0,5 ml (20mg/ml) Xylacin wurden die Tiere narkotisiert, um dann mit einer intrakardialen Injektion von T 61[®] getötet zu werden.

Jedes Knie wurde punktiert und mit 2 ml Kochsalzlösung (0,9%) gespült, um die Synovialflüssigkeit zu gewinnen. Durch eine Querinzision der Patellarsehne wurden die Kniegelenke eröffnet. Es erfolgte die geblindete Beurteilung des makroskopischen Scores durch zwei Untersucher (s.u.). Das Tibiaplateau, der Femurkondylus und die Patella wurden entnommen und bei – 80 Grad tiefgefroren.

2.5.2 Makroskopische Beurteilung

Für die makroskopische Beurteilung wurde ein Score verwendet, der die vier wesentlichen Arthrosezeichen bewertet:

- Fibrillationen
- Ulzerationen
- Osteophyten
- Erguss

Jedes dieser Zeichen erhält einen definierten Punktwert. Diese werden zusammengezählt und geben den Zustand des Kniegelenkes in Bezug auf das Arthrostadium wieder. Insgesamt können bis zu 11 Punkte erreicht werden.

(0 Punkte: Knie ohne makroskopisch sichtbare Arthrosezeichen;

11 Punkte: Knie mit makroskopisch hochgradiger Arthrose).

Vor der Auswertung wurden die einzelnen Proben geblindet, um dann von zwei Untersuchern bewertet zu werden.

Grad	Fibrillationen	Ulzerationen	Osteophyten	Erguss
0	Keine	Keine	Keine	Kein
1	Gering	Kleinflächig	Gering	Gering
2	Mittelgradig	Großflächig	Mittelgradig	Mittelgradig
3	Ausgeprägt	---	Ausgeprägt	Groß

Tab. 3: Darstellung des makroskopischen Scores (Tibesku et. al 2003)

2.5.3 Gewinnung der histologischen Schnitte

Die Proben wurden in einer Formalinlösung (40% gepuffertes Formalin) aufgetaut. Anschließend wurde mit einer feinen Laubsäge das Tibiaplateau mit jeweils einem Schnitt in der Frontal- und Sagittalebene zerteilt. Im Anschluss erfolgte eine vierwöchige Phase, in der die medialen und lateralen Plateaustücke mit Hilfe einer EDTA Lösung (20%; pH 7,4) entkalkt wurden.

Die entkalkten Proben wurden über Nacht mit fließendem Leitungswasser gespült und dann in eine aufsteigende Alkoholreihe für jeweils sechs Stunden eingelegt (50%, 75% und 90% Isopropylalkohol). Um das Gewebe vollständig zu entwässern und auf die Einbettung in Paraffin vorzubereiten, folgten noch weitere Arbeitsschritte. Die Proben wurden im Wärmeschrank (45°) über Nacht in 100% Isopropylalkohol entwässert und anschließend für 12 Stunden in eine Mischung aus Isopropylalkohol und Paraffin im Verhältnis 1:1 (bei 60°) gelegt.

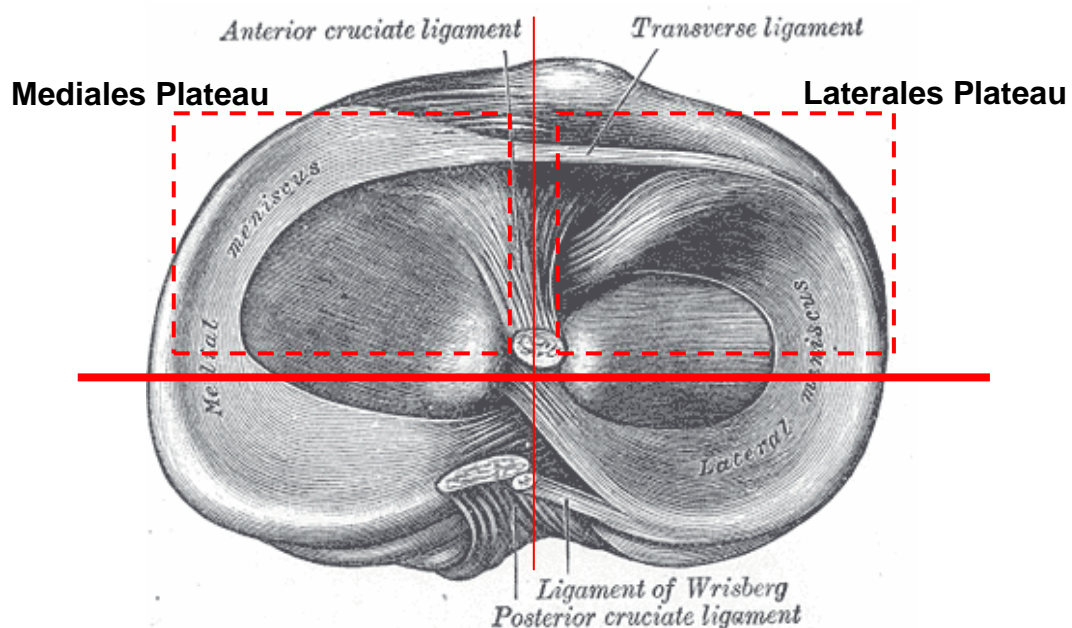


Abb. 16: Darstellung der Schnitfführung für die histologische Auswertung; gestrichelt: zone of interest

(Quelle: 20th U.S. edition of Gray's Anatomy of the Human Body, 1918)

Jede Probe wurde einzeln mit Paraffin übergossen und für kurze Zeit auf eine Kühlplatte gelegt, um auszuhärten.

Im Anschluss wurden die fertigen Blöcke in ein Schlittenmikrotom eingelegt und verschiedene Schnitte von 4 µm Dicke angefertigt. Es wurden jeweils die ersten Gewebeschnitte verworfen, um die Schnittebenen zu erhalten, die in der zentralen Region des Tibiaplateaus lagen (zone of interest).

Die Schnitte wurden dann auf Objektträger fixiert und für ca. 12 Stunden, zum Trocknen, in den Wärmeschrank (45°) gestellt.

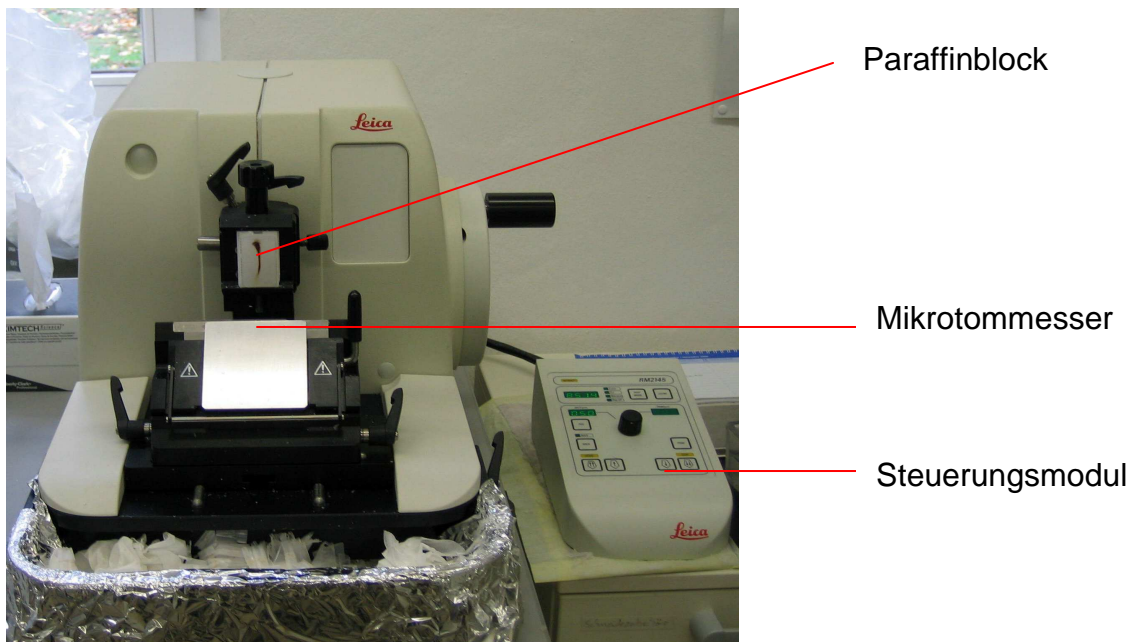


Abb. 17: Schnittmikrotom der Firma Leica

2.5.4 Färbeverfahren

Insgesamt wurden drei verschiedene Färbemethoden durchgeführt, um eine möglichst genaue und aussagekräftige Auswertung der Schnitte zu erhalten.

- Hämatoxilin-Eosin Färbung (H.E.)
- Masson-Goldner Färbekitt
- Safranin-O Färbung

2.5.4.1 Hämatoxilin-Eosin Färbung (H. E.)

Durch die Färbung der Schnitte mit H.E. werden Zellkerne, Kalk und Knorpelsubstanz blau dargestellt. Zytoplasma, Kollagenfasern, Bindegewebe und Erythrozyten werden in verschiedenen Rottönen eingefärbt.

Zuerst werden die Proben entparaffiniert. Sie wurden zweimal für fünf Minuten in Xylol und dann jeweils in absteigender Reihe für fünf Minuten in 100%, 96%, 70% Ethanol und in destilliertem Wasser eingelegt.

Für die eigentliche Färbung benötigt man die Färbelösung Hämalaun nach Mayer (Färbedauer: fünf Minuten) und Eosin (Färbedauer: zwei Minuten). Zwischen den beiden Färbeschritten wurden die Schnitte für zehn Minuten unter fließendem Wasser gespült.

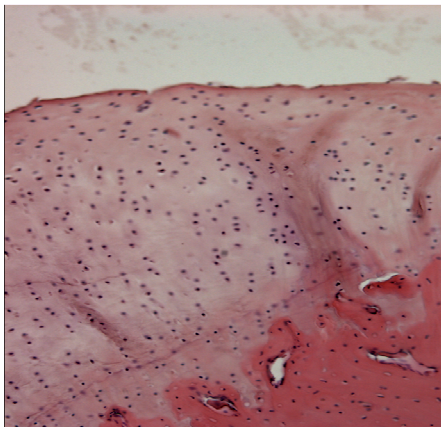


Abb. 18: Histologisches Präparat; H.E. Färbung

Schließlich wurden die Proben in einer aufsteigenden Alkoholreihe fixiert (zwei Minuten 96% Ethanol, 2x fünf Minuten 100% Ethanol, 2x fünf Minuten Xylol) und mit Eukitt eingedeckt.

2.5.4.2 Masson-Goldner Färbekitt

Mit Hilfe dieses Färbekitts werden Zellkerne (braun-schwarz), Cytoplasma (ziegelrot), Erythrozyten (orange-gelb) sowie das Bindegewebe (grün) angefärbt.

Die Schnittpräparate wurden zu Anfang 10 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 Eisenhämatoxylin (Merck, Lösung A und B in Mischung 1:1) wurden die Proben für 5 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 10 Minuten.
2. Färbung mit Phosphorwolframsäure-Orange G-Lösung für 1 Minute und
3. Färbung mit Lichtgrün SF für 2 Minuten.

Schließlich wurden die Proben in einer aufsteigenden Alkoholreihe über je 30 Sekunden (70 %, 96 % und 3 x 100 %) und zweimal 5 Minuten in Xylol entwässert und ebenfalls mit Eukitt eingedeckt.

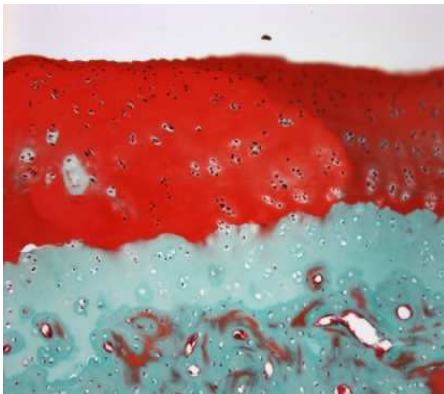


Abb.19: Histologisches Präparat; Masson-Goldner Färbekitt

Die Masson-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.

2.5.4.3 Safranin-O Färbung

Das Färbeverfahren mit Safranin-O dient besonders der Darstellung von Proteoglykanen (rote Färbung), Zytoplasma (grüne Färbung) und von Zellkernen (schwarze Färbung). Diese Färbeeigenschaften werden für die Auswertung des mikroskopischen Scores (nach Mankin et al.) eingesetzt.

Zur Entparaffinierung wurden die Schnitte in einer absteigenden Alkoholreihe über zweimal 5 Minuten in Xylol, je 5 Minuten in 100 %, 96 % und 70 % Ethanol und für 5 Minuten in destilliertes Wasser gegeben.

Nach vierminütiger Färbung mit Weigert's Eisenhämatoxylin (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 5 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 5 Minuten.

Schließlich wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe über je 5 Minuten in 70 %, 96 % Ethanol, zweimal 5 Minuten 100 % Ethanol und zweimal 5 Minuten Xylol entwässert und mit Eukitt eingedeckt.



Abb. 20: Histologisches Präparat; Safranin-O Färbung

2.5.5 Histologische Beurteilung

Die histologische Beurteilung erfolgte durch den Mankin Score (48).

Zwei Untersucher beurteilten alle geblindeten, mit Hämatoxylin-Eosin und Safranin-O gefärbten Schnitte, an Hand von vier verschiedenen Kriterien:

- Struktur
- Zellverteilung und -dichte
- Anfärbung durch Safranin-O
- Gefäßverteilung in der Knorpel-Knochen-Grenze

Jedes einzelne Kriterium verfügt über verschiedene Punktwerte, die den einzelnen Proben zugeteilt werden können. Hierbei werden zwischen 0 und 14 Punkte vergeben. 0 Punkte entsprechen einem gesunden Knorpel, ein Punktwert von 14 dagegen einer Arthrose im Endstadium.

Grad	Struktur	Zellverteilung u. -dichte	Anfärbung Safranin-O	Knorpel- Knochen- Grenze
0	Normal	Normal	Normal	Intakt
1	Oberflächen- unregelmäßigkeiten	Diff. Hyper- zellularität	Geringe Reduktion	Blutgefäß durchzogen
2	+ Pannus	Cloning	Mäßige Reduktion	
3	Risse bis in die Über- gangszone	Hypozellularität	Starke Reduktion	
4	Risse bis in die Radiärzone		Keine Färbung	
5	Risse bis in die verkalkte Zone			
6	Komplett Desorganisiert			

Tab. 4: Histologische Beurteilung nach Mankin

2.5.6 Statistik

Die statistische Analyse erfolgte unter Verwendung von SPSS-Software (Version 11.5, Windows). Im Rahmen der deskriptiven Statistik orientiert sich diese Arbeit an der Messtheorie der Ordinalskala. Somit konnten die vorliegenden Ergebnisse über den Median berechnet werden.

Die analytische Statistik wurde mit Hilfe des für nicht-parametrische Daten zu verwendenden Mann-Whitney-Wilcoxon Test erhoben. Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0.05$ angegeben. Eine Poweranalyse kann aufgrund der verwendeten Testverfahren keine Anwendung finden.

Hypothese: Die H_0 -Hypothese besagt, dass kein Effekt auf die makroskopische oder mikroskopische Morphologie des Knorpels, durch die MBST[®]-Behandlung erzielbar ist.

3 Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse konnte mit insgesamt 12 Neuseeland Kaninchen durchgeführt werden. Innerhalb des Versuchszeitraumes ist kein Tier gestorben. Bei 2 Tieren bildete sich postoperativ jeweils ein gering gradiges Hämatom aus, das nach zwei Tagen folgenlos abheilte.

Jedes Tier wurde am Tag der Operation und am ersten Tag der Therapie gewogen. Am Tag der Operation lag das durchschnittliche Gewicht bei $3472,5 \text{ g} \pm 259,4$ und am ersten Tag der Therapie bei $3692,5 \text{ g} \pm 289,5$.

Von insgesamt 24 operierten Kaninchenknien konnten 23 Knie für die makroskopische und 20 Knie für die histologische Auswertung verwendet werden. Ein Knie wurde ganz aus der Wertung heraus genommen, da sich nach Tötung des Tieres und Präparation des Knies zeigte, dass ein Kreuzband nicht vollständig durchtrennt wurde.

3.1 Makroskopische Ergebnisse

Die makroskopische Ausarbeitung erfolgte durch die Analyse des Tibiaplateaus mit Hilfe des Scores nach Tibesku et al. (74). Somit werden auf den folgenden Seiten die Ergebnisse bezüglich der Fibrillationen, Osteophyten, Kniegelenksergüsse und Ulzerationen dargestellt.

3.1.1 Fibrillationen

Bei allen 23 Knien konnten, nach 6 Wochen Standzeit, Fibrillationen nachgewiesen werden. In der Therapiegruppe fanden sich elf Tiere mit geringgradigen und fünf mit mittelgradigen Fibrillationen. Die Kontrollgruppe wies dagegen sechs Gelenke mit mittelgradigen Fibrillationen und eines mit ausgeprägter Fibrillation auf. Die Therapiegruppe zeigt, in Hinsicht auf die Fibrillationen ein signifikant niedrigeres Ergebnis, als die Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Der Median der Therapiegruppe liegt bei 1,0 und in der Kontrollgruppe bei 2,0.

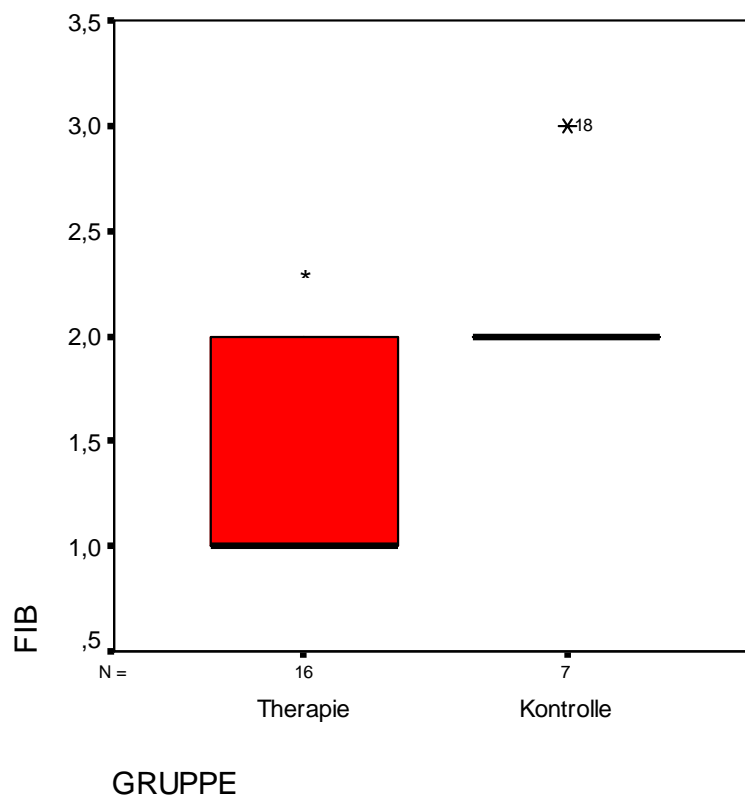


Abb. 21: Fibrillationen; (* = $p < 0,05$)

Fibrillationen	
Mann-Whitney-U	15,000
Wilcoxon-W	151,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,002

Tab. 5: Signifikanzniveau (Fib)

3.1.2 Osteophyten

Bei drei der insgesamt 23 ausgewerteten Knie ließen sich keine Osteophyten nachweisen. Zehn Knie wurden mit geringgradigen, sechs mit mittelgradigen und weitere vier Knie wurden mit ausgeprägten osteophytären Anbauten vorgefunden. Die Therapiegruppe zeigt, in Hinsicht auf die Osteophyten ein signifikant niedrigeres Ergebnis, als die Kontrollgruppe ($p < 0,05$).

Der Median der Therapiegruppe liegt bei 1,0 und in der Kontrollgruppe bei 3,0.

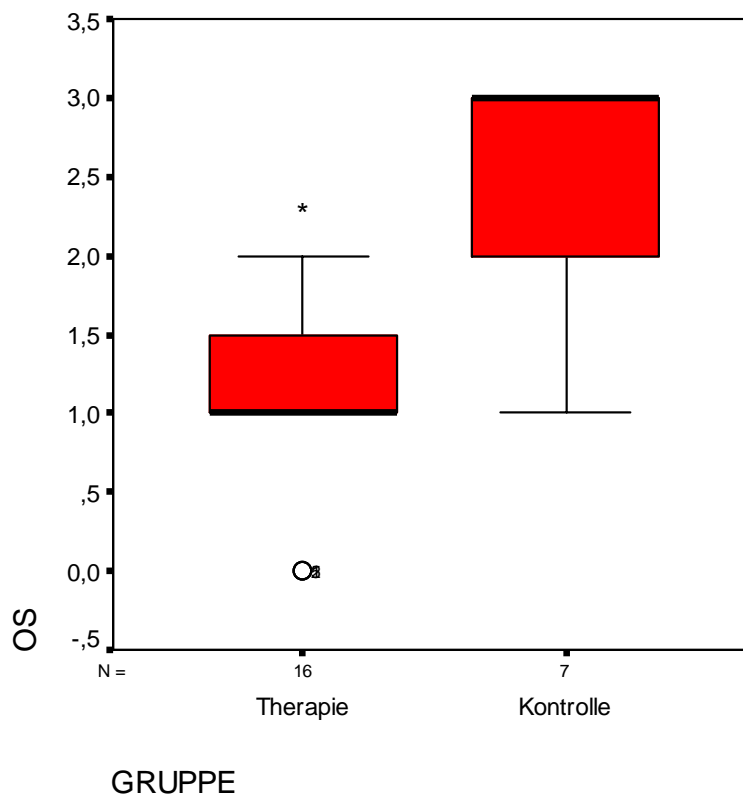


Abb. 22: Osteophyten; (* = $p < 0,05$)

Osteophyten	
Mann-Whitney-U	12,500
Wilcoxon-W	148,500
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,002

Tab. 6: Signifikanzniveau (Os)

3.1.3 Erguss

Die makroskopische Untersuchung bezüglich der Bildung einzelner Kniegelenks-ergüsse ergab, dass drei Knie ergussfrei waren und vier Gelenke mit großen Ergüssen vorgefunden wurden. Weitere 16 Knie wiesen gering- bis mittelgradige Flüssigkeitsansammlungen auf. Bei diesem gemessenen Parameter liegt der Median für die Therapiegruppe bei 1,0 und für die Kontrollgruppe bei 2,0.

Die Therapiegruppe zeigt, nach statistischer Auswertung, ein signifikant niedrigeres Ergebnis, als die Kontrollgruppe des Versuches ($p < 0,05$).

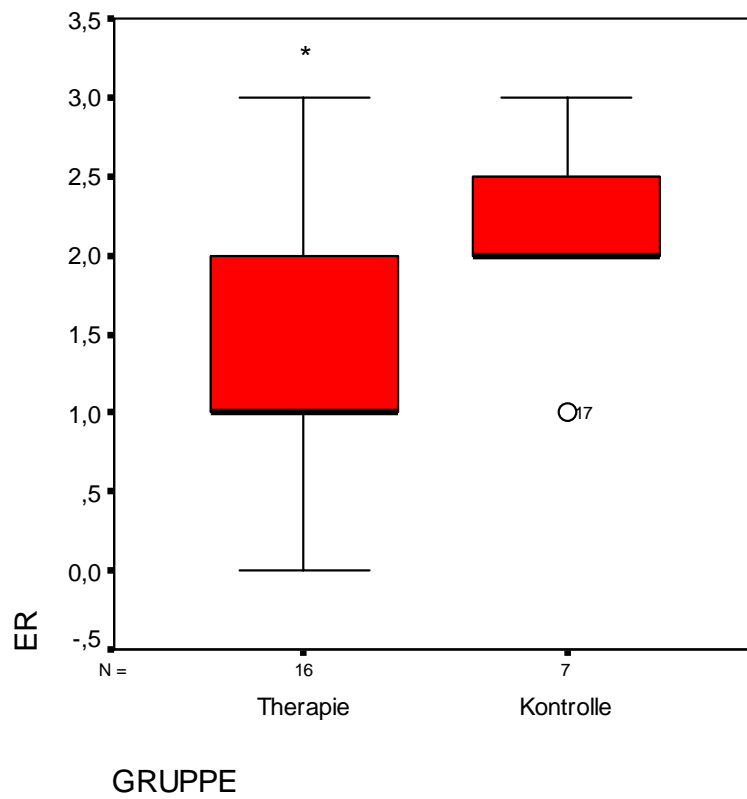


Abb. 23: Erguss; (* = p < 0,05)

Kniegelenkserguss	
Mann-Whitney-U	27,500
Wilcoxon-W	163,500
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,046

Tab. 7: Signifikanzniveau (Er)

3.1.4 Ulzerationen

Die Auswertung aller 23 Knie ergab zehn Knie ohne makroskopisch nachweisbare Ulzerationen. Zwölf Knie mit klein- und ein Knie mit großflächigen Ulzerationen. Es ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden untersuchten Gruppen.

Der Median der Therapiegruppe liegt bei 0,5 und in der Kontrollgruppe bei 1,0.

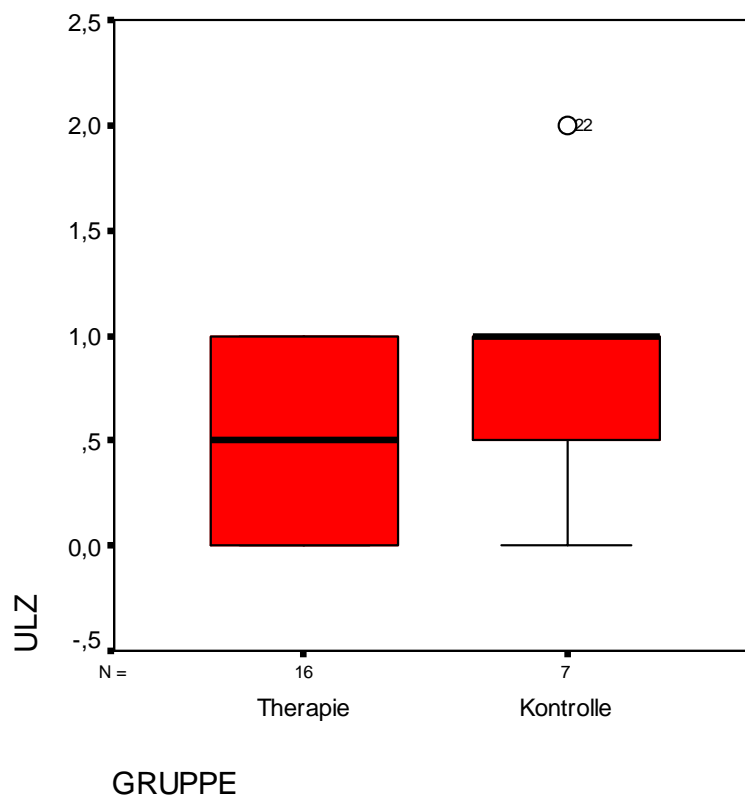


Abb. 24: Ulzerationen; ($p > 0,05$)

Ulzerationen	
Mann-Whitney-U	40,000
Wilcoxon-W	176,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,225

Tab. 8: Signifikanzniveau (Ulz)

3.1.5 Gesamtergebnis Makroskopie

Die Werte, aus denen sich das Gesamtergebnis für die Makroskopie erstellen, ergeben sich aus der Addition der einzelnen Bewertungskriterien jedes Kniegelenkes.

Für das Gesamtergebnis muss der Median in der Therapiegruppe mit 4,0 und in der Kontrollgruppe mit 8,0 angegeben werden.

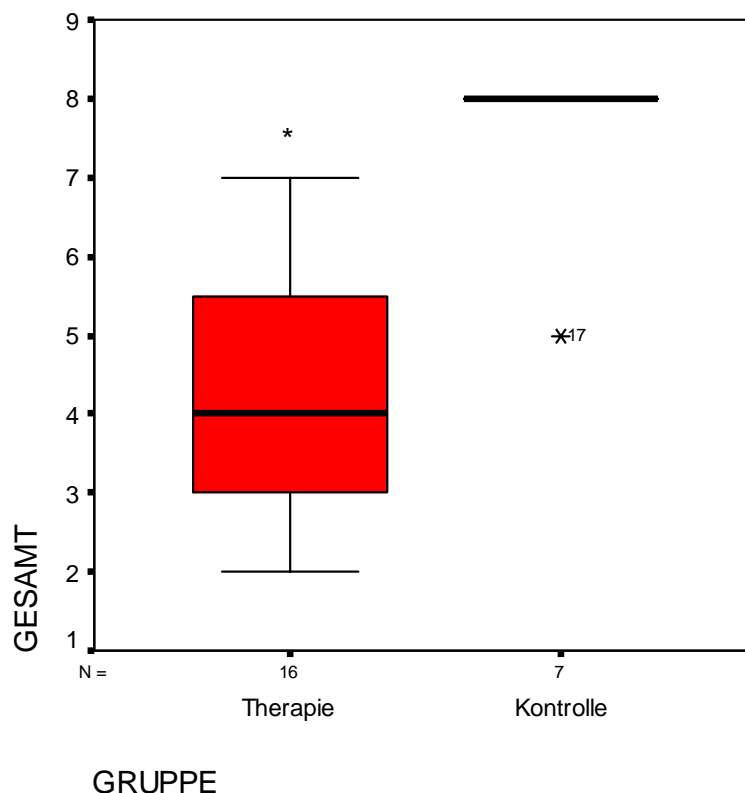


Abb. 25: Gesamt-Makroskopie; (* = $p < 0,05$)

Gesamt-Makroskopie	
Mann-Whitney-U	4,500
Wilcoxon-W	140,500
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,000

Tab. 9: Signifikanzniveau (Gesamt-Makroskopie)

Das Gesamtergebnis der Makroskopie liegt unter dem Signifikanzwert $p < 0,05$ und ist somit als signifikant niedriges Ergebnis zu werten.

3.1.6 Ergebnisübersicht Makroskopie

Nach der Analyse aller makroskopisch erhaltenen Werte, finden sich unter den vier bewerteten Parametern, drei mit signifikanten Ergebnissen. Ein Parameter ist als nicht signifikant anzusehen.

In den anschließenden zwei Tabellen und der folgenden Abbildung, werden alle Werte in einer Übersicht dargestellt.

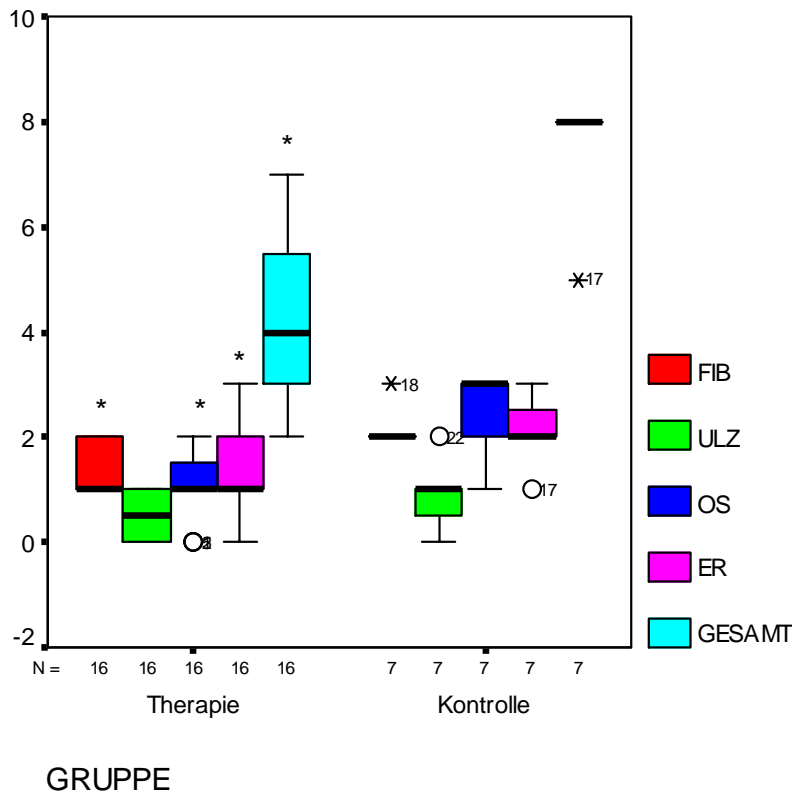


Abb. 26: Fehlerbalkendiagramm (Übersicht); (* = $p < 0,05$)

	Fib	Ulz	Os	Er	Gesamt
Mann-Whitney-U	15,000	40,000	12,500	27,500	4,500
Wilcoxon-W	151,000	176,000	148,500	163,500	140,500
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,002	,225	,002	,046	,000

Tab. 10: Signifikanzniveaus (Übersicht)

	FIB	ULZ	OS	ER	GESAMT
Therapie	1,0000	,5000	1,0000	1,0000	4,0000
Kontrolle	2,0000	1,0000	3,0000	2,0000	8,0000
Insgesamt	2,0000	1,0000	1,0000	2,0000	5,0000

Tab. 11: Median (Makroskopie)

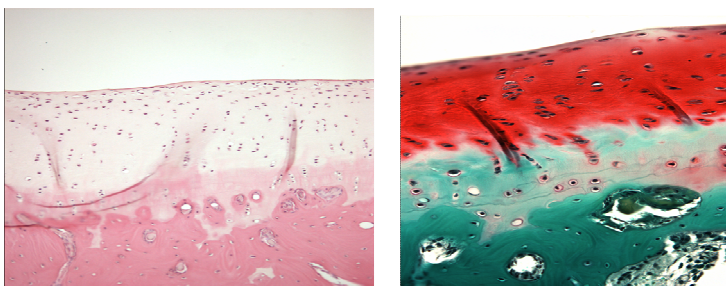
3.2 Histologische Ergebnisse

Die histologischen Ergebnisse werden als Signifikanzniveaus der nach Mankin et al. (48) bewerteten vier Kriterien dargestellt:

- Struktur
- Zellverteilung und -dichte
- Anfärbung durch Safranin-O
- Gefäßverteilung in der Knorpel-Knochen-Grenze

Für die Analyse wurden alle medialen und lateralen Seiten jedes Tibiaplateaus ausgewertet. Von insgesamt 24 Proben des Tibiaplateaus, konnten für die endgültige Auswertung 20 Proben herangezogen werden.

Die in Abbildungen 25 und 26 dargestellten histologischen Bilder sollen einen möglichen Ausgangszustand einer physiologisch intakten Knorpeloberfläche aufzeigen, um die im Folgenden gezeigten pathologischen Bilder eines bestehenden Arthrostadiums besser einordnen zu können.

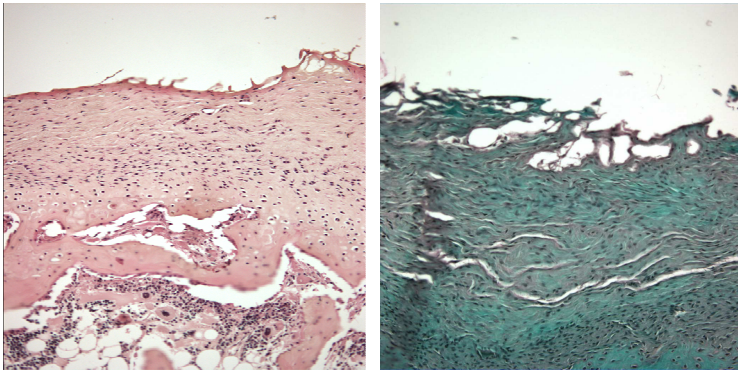


**Abb. 27 und Abb. 28: Darstellung einer intakten Knorpeloberfläche
(Links: HE; Rechts: MG)**

3.2.1 Struktur

Die Struktur des Knorpelgewebes wurde in erster Linie auf Unregelmäßigkeiten und Risse in den verschiedenen Knorpelzonen untersucht.

Der errechnete Median liegt in der Therapiegruppe bei 2,0 und in der Kontrollgruppe bei 1,0.



**Abb. 29 und Abb. 30: Strukturelle Veränderungen des Knorpels.
(Zustand: 6 Wochen nach Durchtrennung des VKBs.)**

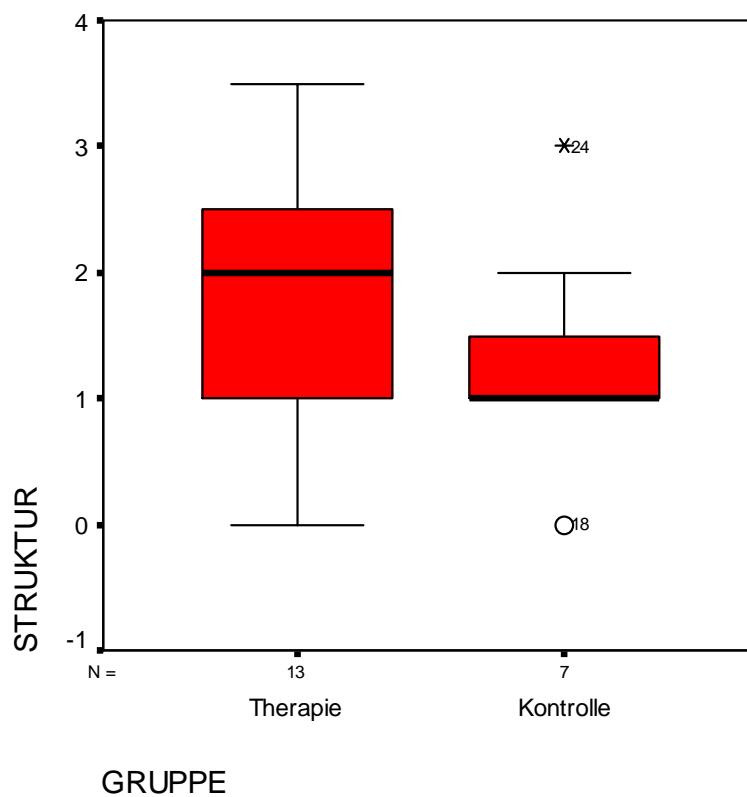


Abb. 31: Struktur; ($p > 0,05$)

Struktur	
Mann-Whitney-U	33,000
Wilcoxon-W	61,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,309

Tab. 12: Signifikanzniveau (Strukt).

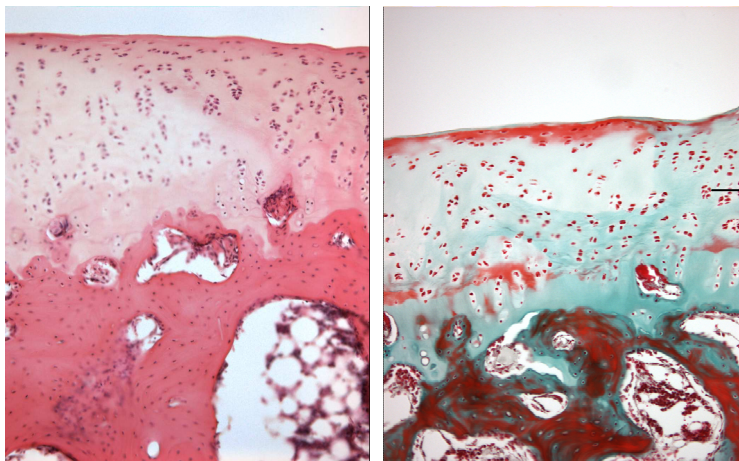
Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der strukturellen Veränderungen, unter den verglichenen Gruppen.

3.2.2 Zellverteilung und –dichte

Alle Proben wurden auf besondere Zellverteilungsmuster hin untersucht.

Bezüglich der Zellverteilung und –dichte konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden verglichenen Gruppen herausgestellt werden.

Für diesen Parameter ergibt sich ein Median von 1,0 in den beiden untersuchten Gruppen.



Cloning/ Hyperzellulärität

**Abb.32 und Abb. 33: Veränderung der Zellverteilung und –dichte.
(Zustand: 6 Wochen nach Durchtrennung des VKBs.)**

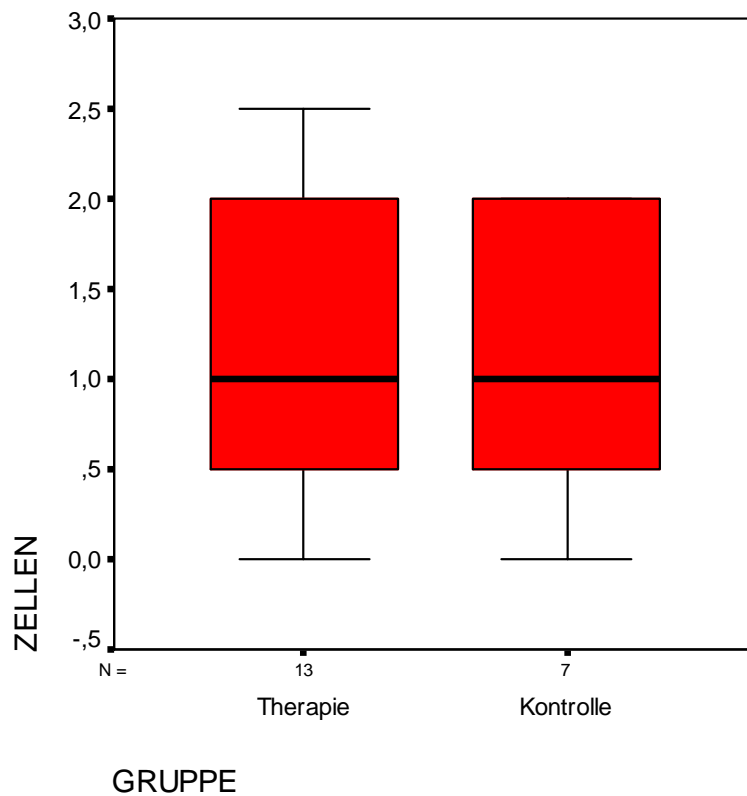


Abb. 34: Zellen; ($p > 0,05$)

Zellen	
Mann-Whitney-U	44,000
Wilcoxon-W	72,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,904

Tab. 13: Signifikanzniveau (Zellen).

Es errechnet sich ein nicht signifikanter Wert bezüglich der jeweiligen Zellverteilung ($p > 0,05$).

3.2.3 Färbeverhalten unter Safranin-O

Die Safranin-O Färbung dient der Darstellung von Proteoglykanen und Zytoplasma. Die Untersuchung zeigt, in Hinsicht auf die Safranin-O Färbung ebenfalls ein nicht signifikantes Ergebnis ($p > 0,05$).

Der Median der Therapiegruppe liegt bei 2,0 in der Therapiegruppe und bei 1,0 in der Kontrollgruppe.

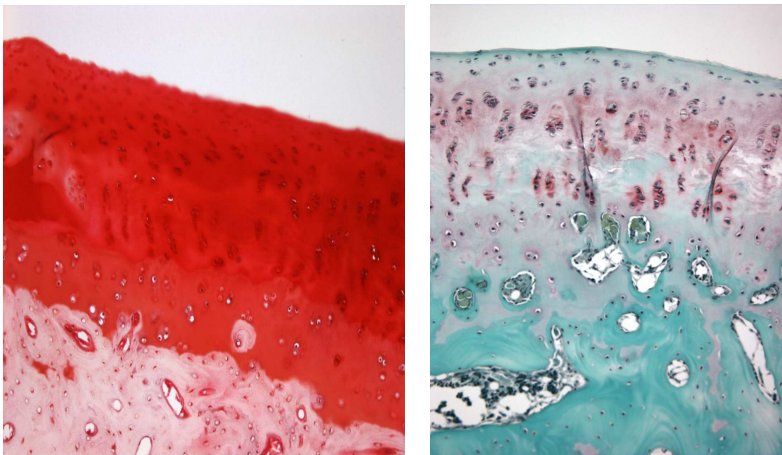


Abb. 35 und Abb. 36: Färbeverhalten unter Safranin-O.

(Links: Geringer Arthrosegrad; gut erkennbare Rotfärbung der Knorpelschicht.

Rechts: Hoher Arthrosegrad; schwach erkennbare Rotfärbung der Knorpelschicht.)

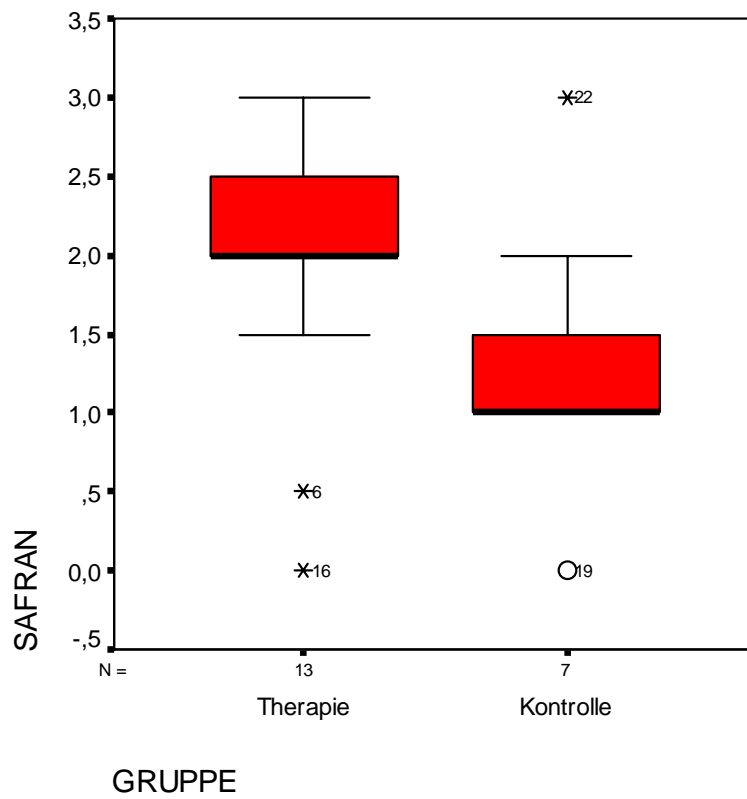


Abb. 37: Safranin-O; ($p > 0,05$)

Safran	
Mann-Whitney-U	26,000
Wilcoxon-W	54,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,115

Tab. 14: Signifikanzniveau (Safran).

3.2.4 Gefäßverteilung im Bereich der Knorpel-Knochen-Grenze

Von besonderem Interesse ist ebenfalls der Bereich der Knorpel-Knochen-Grenze. In Folge eines arthrotischen Prozesses kommt es hier zu entscheidenden Umbauvorgängen. Durch eingewachsene Gefäße gelangen Blut sowie undifferenzierte Zellen in die Knorpelmatrix. Diese besitzen u. a. die Fähigkeit sich im Laufe einer kurzen Zeit zu Fibroblasten umzuwandeln.

Der Median liegt bei 0,5 in der Therapiegruppe und bei 1,0 in der Kontrollgruppe.

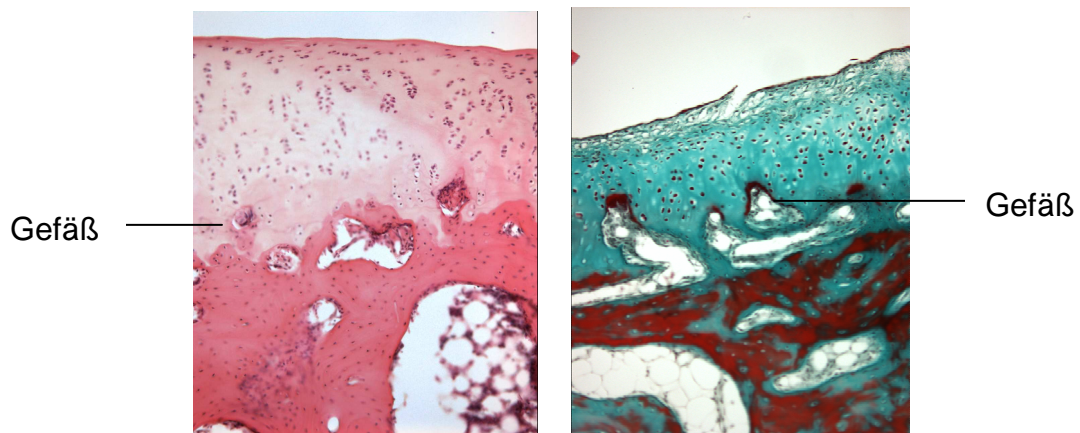


Abb. 38 und Abb. 39: (Links: HE-; Rechts: Masson Goldner-Präparat mit Darstellung kleinerer Gefäße, die in die Knorpelmatrix eingewachsen sind.)

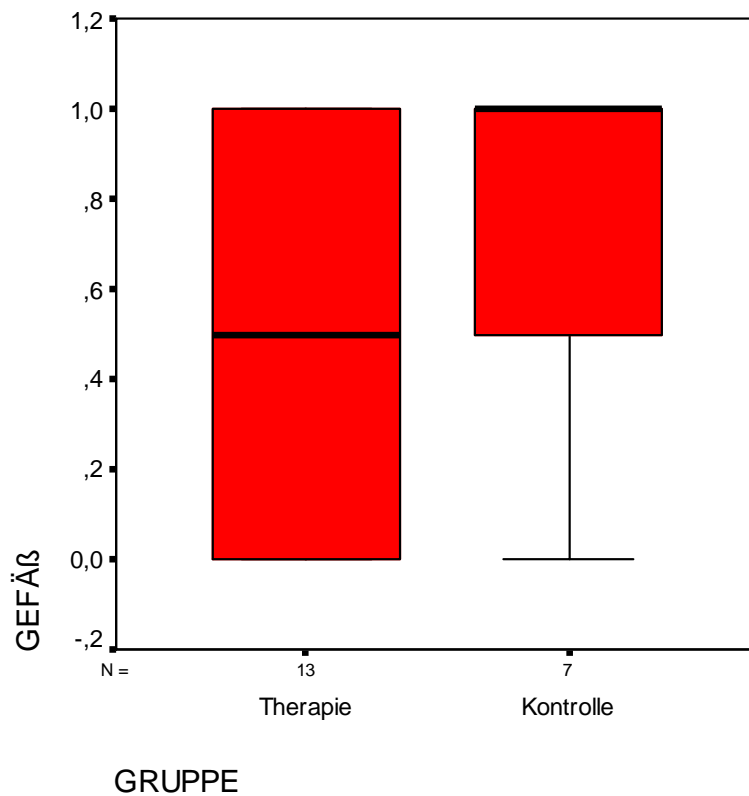


Abb. 40: Gefäße; ($p > 0,05$)

Gefäßverteilung	
Mann-Whitney-U	35,000
Wilcoxon-W	126,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,372

Tab. 15: Signifikanzniveau (Gefäß).

Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verglichenen Gruppen.

3.2.5 Gesamtergebnis Histologie

Die Werte, aus denen sich das Gesamtergebnis für die Histologie erstellt, ergeben sich aus der Addition der einzelnen Bewertungskriterien jedes Kniegelenkteiles.

Das Gesamtergebnis ist als nicht signifikant zu werten.

Der Median für das Gesamtkollektiv liegt in beiden untersuchten Gruppen bei 5,0.

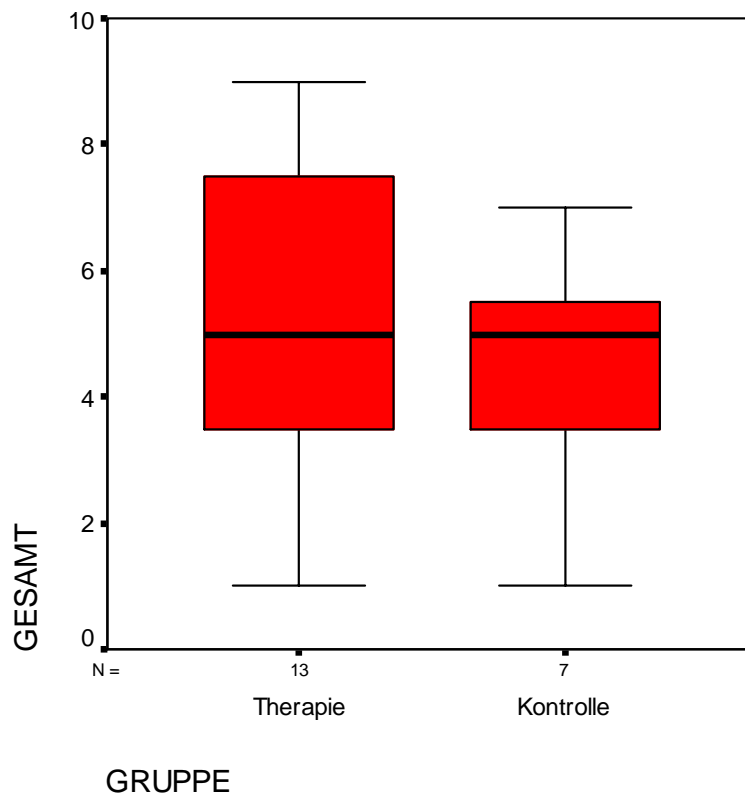


Abb. 41: Gesamt-Histologie; ($p > 0,05$)

Gesamt-Histologie	
Mann-Whitney-U	34,000
Wilcoxon-W	62,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,359

Tab. 16: Signifikanzniveau (Gesamt-Histologie).

3.2.6 Ergebnisübersicht Histologie

Die histologische Auswertung aller vier Parameter zeigt ein jeweils nicht signifikantes Ergebnis. In den anschließenden Tabellen und der folgenden Abbildung, werden alle Werte in einer Übersicht dargestellt.

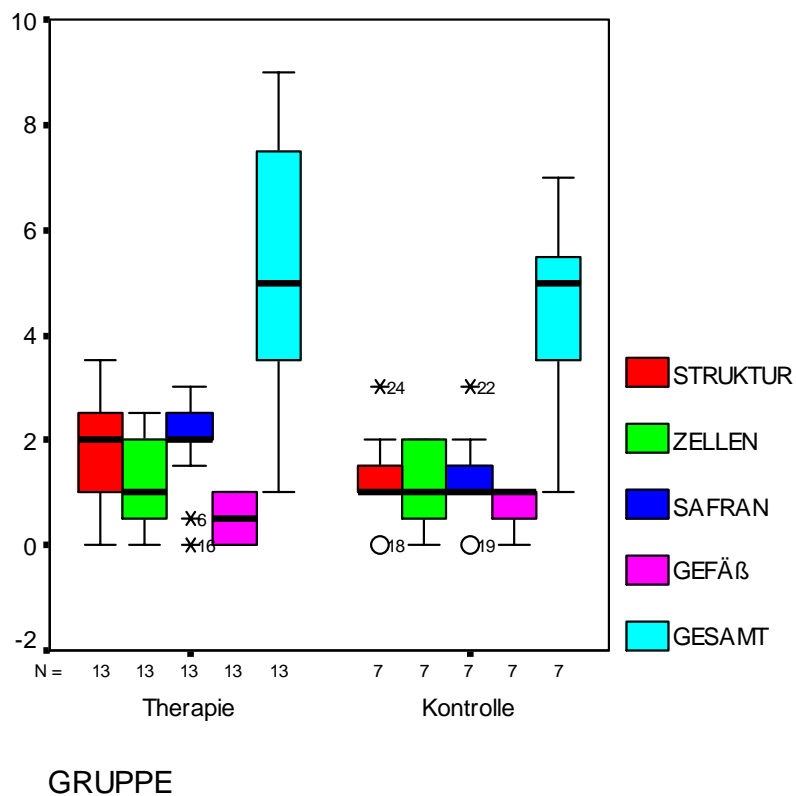


Abb. 42: Übersicht

	Strukt	Zellen	Safran	Gefäß	Gesamt
Mann-Whitney-U	33,000	44,000	26,000	35,000	34,000
Wilcoxon-W	61,000	72,000	54,000	126,000	62,000
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,309	,904	,115	,372	,359

Tab. 17: Signifikanzniveaus (Übersicht).

	Strukt	Zellen	Safran	Gefäß	Gesamt
Therapie	2,0000	1,0000	2,0000	,5000	5,0000
Kontrolle	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	5,0000
Insgesamt	2,0000	1,0000	2,0000	,5000	5,0000

Tab. 18: Median (Histologie)

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Methodik

4.1.1 Tiermodellauswahl

Die Grundlage eines jeden Tierexperimentes sollte, aus wissenschaftlicher Sicht, die Auswahl eines geeigneten Tiermodells sein.

Mit der Absicht, die pathologischen Mechanismen einer Gonarthrose genauer zu verstehen, wurden in den 80er und 90er Jahren vermehrt Versuche an Tieren unternommen. In erster Linie wurden Hunde (55), Mäuse (7), Schweine (5) und Kaninchen (9) untersucht. Dabei hat sich herausgestellt, dass das Neuseelandkaninchen sehr gut für die Untersuchung der Arthrose geeignet ist.

Es bietet, bezogen auf den anatomischen Aufbau und die physiologischen Eigenschaften des Kniegelenkes, Parallelen zum Menschen. Hinzu kommt, dass das gewonnene Probenmaterial mengenmäßig über dem von anderen Tieren liegt (z.B. Mäuse, Ratten) und Kaninchen kostengünstig in der Haltung sind.

Eine Arthrose lässt sich auf verschiedene Art und Weise am Kniegelenk eines Kaninchens induzieren. Generell unterscheidet man

- chemisch induzierte
- und
- mechanisch induzierte Formen einer Arthrose.

Eine chemisch induzierte Arthrose kann durch die Injektion von Papain, Zymokin, Monoiodoacetat oder Interleukin-1 β (52, 30, 41) im Gelenk ausgelöst werden.

Nachteil dieser Methodik ist die fehlende Kontrolle über den entstehenden Knorpel bzw. Gelenkschaden. Es kann zu einer signifikanten Reduktion an Proteoglycanen und Kollagenen innerhalb von 24 Stunden kommen (64). Die dabei entstehende Arthrose ist nicht mit der menschlichen Arthrose vergleichbar.

Mechanisch lässt sich eine Arthrose mit verschiedensten Methoden induzieren. Wichtig ist dabei die Fragestellung, in wie weit diese Form der entstehenden Arthrose mit der beim Menschen entstehenden Arthrose vergleichbar ist. Die drei Methoden, die am häufigsten genutzt werden, um eine Arthrose mechanisch zu verursachen sind:

1. Immobilisation (nach Evans et al. (16) und Palmoski et al. (54))
2. Denervierung (nach O'Connor et al. (53))
3. Destabilisierung (nach Hulth et al. (30) und Moskowitz et al. (50))

Eine Immobilisation oder auch eine Denervierung kann eine Arthrose verursachen, die u.a. Fibrillationen und einen Untergang der Chondrozyten deutlich zeigen. Jedoch kann häufig der Nachweis eines Reparationsprozesses, mit einer Chondrozyten oder Proteoglycan Synthese nicht erbracht werden (80).

Die Destabilisierung gehört zu den Induktionsformen, deren Prozess und Ergebnis der Kniegelenksarthrose des Menschen am ehesten entspricht.

Eine Destabilisierung kann auf verschiedene Weise erreicht werden.

Hulth et al. begannen 1970 mit einem Modell *der partiellen und kompletten Entfernung des medialen Meniskus*. Die entstehende Arthrose ist vergleichbar mit der menschlichen, allerdings entwickelt sich die Arthrose nur sehr langsam. Shapiro et al. (65) konnten nachweisen, dass die entstehende Arthrose sehr fokal limitiert blieb und sich nur auf den medialen Anteil des Gelenkes konzentrierte.

Ehrlich et al. (14) begannen ein Modell zu entwickeln, in dem zu erst *beide Kreuzbänder sowie das mediale Kollateralband* des Versuchstieres durchtrennt wurden. Sechs Monate nach dem Eingriff konnte eine Arthrose festgestellt werden, die der des Menschen ähnlich war.

Yoshioko et al. (80) etablierten ein Modell, das eine *isolierte Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes* vorsieht. Dieses Modell wird momentan als Standardmodell der post-traumatischen Arthrose eingesetzt.

Da dieses Modell leicht durchführbar ist und Komplikationen (Blutungen, Schmerzen, etc.) für das operierte Tier als minimal einzustufen sind, fand dieses Modell in dieser Arbeit, sowie in zahlreichen Arbeiten in der Arthroseforschung, Anwendung (72, 76, 80).

Ein Nachteil ist jedoch, dass über die gesamte Dauer des Versuches, eine permanente Arthroseinduktion besteht, da die Instabilität (VKB-Durchtrennung) über die gesamte Zeit hinweg vorhanden ist.

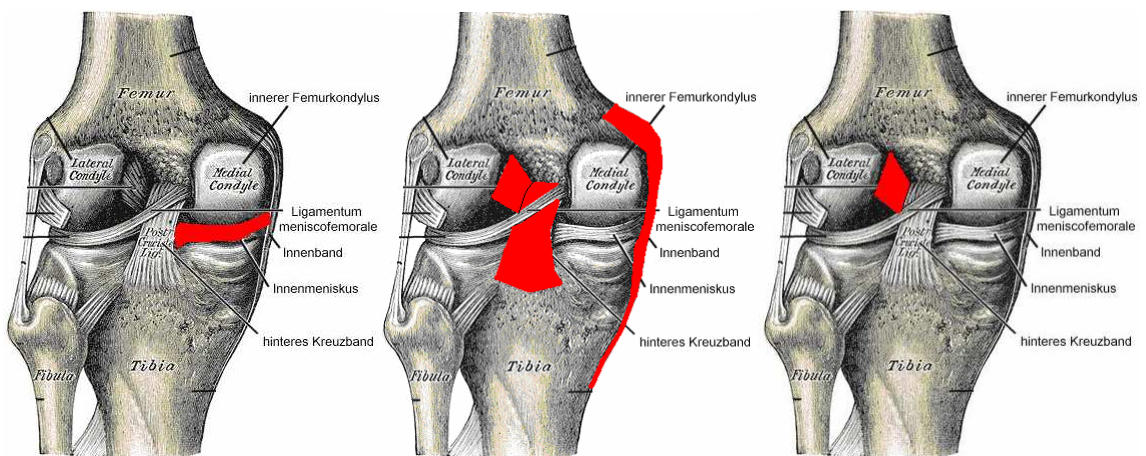


Abb. 43: nach Hulth et al.: Partielle/ Komplette Entfernung des medialen Meniskus.

Abb. 44: nach Ehrlich et al.: Entfernung beider Kreuzbänder und des medialen Kollateralbandes.

Abb. 45: nach Yoshioko et al.: Isolierte Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes.

Ebenfalls entscheidend für die Auswahl eines geeigneten Tiermodells ist die Festlegung eines Arthrosegrades. Dieser ist meist abhängig von dem Zeitraum, über den eine induzierte Arthrose besteht.

Generell teilt man diese in 1. geringgradige 2. mittelgradige oder 3. schwergradige Formen ein. In vielen Studien, die eine Korrelation zwischen dem Zeitraum und dem Grad der Arthrose festgestellt hatten, wird eine Arthrose nach 4 Wochen als geringgradig, nach 8 Wochen als mittel bis schwergradig und nach 12 Wochen als schwergradig eingestuft (80). Nach dem von uns bevorzugten Zeitraum von 6 Wochen, gilt die Ausprägung einer geringgradigen Arthrose als sehr wahrscheinlich. Dies ist in Bezug auf die durchgeführte MBST[®]-Therapie von entscheidender Bedeutung.

4.1.2 Gewinnung und Auswertung der Proben

4.1.2.1 „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, sowie der Stellung der Gelenkachse ab.

Mankin et al. (48) untersuchten auf 13 Femurköpfen 31 Areale auf histologische und biochemische Zeichen von Arthrose. Sie wiesen nach, dass es abhängig von dem Zeitraum über den die Arthrose bestand, Unterschiede im Ausmaß der arthrotischen Veränderung des Knorpels gibt.

Um die Vergleichbarkeit der histologischen Beurteilung der Kaninchenelenke untereinander zu gewährleisten, sollten die Proben somit aus jeweils derselben, dieser Spezies entsprechenden Belastungszone stammen. Von besonderem Interesse sind zum einen der mediale Kondylus, da er am häufigsten und ausgeprägtesten arthrotische Veränderungen aufweist (8), sowie der laterale Kondylus (48).

Korrespondierend dazu finden sich arthrotische Veränderungen am Tibiaplateau, welches aufgrund der Morphologie eine ebene Schnittfläche zulässt und daher in dieser Arbeit Verwendung fand.

4.1.2.2 Makroskopie

Es gibt viele Arbeitsgruppen, die sich mit der induzierten Gonarthrose in einem Kaninchenmodell beschäftigt haben. Ziel einiger Arbeiten ist die Untersuchung spezifischer Parameter der Gonarthrose gewesen:

Yoshioko et al. (80) stellten ein Modell am Kaninchen auf, in dem sie drei Gruppen von Kaninchen mit einem jeweils unterschiedlichen Arthrosegrad (4 Wochen, 8 Wochen 12 Wochen) untersuchten. Im Vordergrund stand die Messung des Durchmessers der Knorpelschicht, die oberflächen Beschaffenheit sowie die Zelldichte der Knorpelschicht des Tibiaplateaus.

Hashimoto et al. (27) versuchten die Entwicklung und Regulation der osteophytären Strukturen in einem Modell der induzierten Arthrose nachzuvollziehen.

Tibesku et al. (74) beschrieben einen Score mit dem es gelingt, die Gonarthrose im Kaninchenmodell umfassend zu bewerten.

Dieser Score findet in unserer Arbeit Anwendung. Es ist somit möglich, nicht nur einzelne, sehr spezielle Parameter zu untersuchen, sondern die vier charakterisierenden Merkmale einer Arthrose zu bewerten.

Sowohl Fibrillationen und Ulzerationen, als auch Osteophyten und das Ausmaß eines Ergusses fließen in die Bewertung mit ein.

Vorteile an dieser Auswertung sind u.a., eine schnelle und kostengünstige Erhebung aussagekräftiger Ergebnisse.

Ein Nachteil liegt in der Subjektivität. Auch wenn es klar definierte Punktwerte gibt, die für jeden Parameter vergeben wurden und die Blindung aller Proben jederzeit gegeben war, so ist eine individuelle Bewertung von Seiten erfahrener Untersucher trotzdem präsent.

4.1.2.3 Histologie

Ein weiterer, wesentlicher Bestandteil der Auswertung der Proben, sind die histologischen Präparate. Ähnlich, wie in der Makroskopie, gibt es auch hier verschiedene Möglichkeiten, eine Probe auszuwerten.

Das in den 70er Jahren von Mankin et al. (48) entwickelte Verfahren, zur Auswertung histologischer Schnitte einer Arthrose, wurde im Laufe der letzten Jahrzehnte immer wieder für diese Art der Ergebniserhebung genutzt.

Im Vergleich zu der eben beschriebenen Problematik der makroskopischen Auswertung, gibt es auch hierbei die gleichen Nachteile und Vorteile, die die Anwendung des nach Mankin et al. etablierten Scores verdeutlichen.

Hinzu kommt die Verarbeitung der Proben. Während es in der Makroskopie keinerlei Schwierigkeiten bereitet, die Proben so weit zu präparieren, dass eine Auswertung erfolgen kann, muss man bei der Herstellung der einzelnen histologischen Schnitte stets versuchen, die für unsere Zwecke wichtige „zone of interest“ direkt im Zentrum anzuschneiden. Schneidet man die Proben in verschiedenen Ebenen zu, so kann es zu einem Unterschied der Ergebnisse bei der Bewertung der Proben kommen. Um dies zu vermeiden versuchten wir, die Proben immer gleich in den Paraffinblock einzubetten und die Stärke der einzelnen Schnitte möglichst gleich zu halten.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Die im Folgenden diskutierten Ergebnisse beziehen sich auf Anfangs 12 Kaninchen. 8 wurden der Therapiegruppe zugeordnet, 4 der Kontrollgruppe.

Da bei jedem Tier jeweils 2 Kniegelenke operiert wurden, hätten schließlich 24 Knie für die Auswertung zur Verfügung gestanden. Während der eigentlichen Arbeit an den Tieren, kam es zu einem relativ geringen Verlust an Probenmaterial.

In die makroskopische Auswertung konnte ein Kniegelenk nicht mit eingerechnet werden. Histologisch fielen insgesamt 4 Knie aus der Wertung heraus, da sie für eine statistische Ausarbeitung nicht geeignet waren. Die Drop-out Rate liegt, im Bezug auf die Gesamtheit der Proben, für die makroskopische Auswertung somit bei 4,2% und für die mikroskopische Auswertung bei 16,7%. Der verwendete Mann-Whitney-Wilcoxon Test ist gegen Abweichungen von der Normalverteilung resistent, so dass eine Poweranalyse in diesem Fall nicht sinnvoll erscheint.

Hinzu kommt, dass in dem Tiermodell von einer Normalverteilung, aufgrund der sehr hohen Homogenität der Zuchtkaninchen, ausgegangen werden kann.

Bei den makroskopischen Werten fällt auf, dass drei der vier Parameter als signifikant gelten und einer im nicht signifikanten Bereich liegt.

Nachweislich gibt es signifikant weniger Fibrillationen ($p= 0,02$), weniger Osteophyten ($p= 0,02$) und weniger stark ausgeprägte Ergüsse ($p= 0,046$). Wohingegen es einen nicht signifikanten Unterschied bezüglich des Auftretens von Ulzerationen ($p= 0,225$) gibt. Die Gesamtheit der Ergebnisse ergeben, dass das Signifikanzniveau bei $p < 0,01$ liegt.

Sieht man von einem nicht bekannten äußerem Faktor ab, der auf die Kaninchen im Laufe der Versuchszeit Einfluss genommen haben könnte (z.B. Infekt, Entzündung), so kann man davon ausgehen, dass es zu einem Effekt, verursacht durch den Einsatz der MBST[®]-Therapie gekommen ist.

In der Histologie wurden alle vier Parameter als nicht signifikant berechnet. Sowohl im Hinblick auf die Struktur ($p= 0,309$), die Zellverteilung ($p= 0,904$), das Einwachsen von Gefäßen ($p= 0,372$) und unter der Färbung mit Safranin-O ($p= 0,115$) lag kein Ergebnis unter dem Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Auch in Bezug auf die histologischen Ergebnisse, muss man von der gleichen Homogenität der Kaninchen ausgehen, wie dies bereits in der Makroskopie getan wurde. Die Wahrscheinlichkeit, dass zusätzlich weitere Faktoren Einfluss auf die entstandenen Ergebnisse genommen haben könnten, ist im Verhältnis zu den Ergebnissen der Makroskopie als größer anzusehen. Dies hängt vor allem mit den zahlreichen labortechnischen Verarbeitungsmethoden zusammen, bei denen Fehler aufgetreten sein können.

Sollten diese Faktoren das Ergebnis der Arbeit, wie beabsichtigt, nicht beeinflusst haben, so zeigt sich ein Effekt der auch in diesem Fall von der MBST[®]-Therapie ausgehen könnte.

Der Vergleich zwischen der Makroskopie und der Histologie zeigt Unterschiede auf. Wie bereits beschrieben, finden sich in der makroskopischen Auswertung drei von vier signifikant niedrigere Ergebnisse. Dies bedeutet, dass es in der Therapiegruppe einen im Durchschnitt niedrigeren Arthrosegrad gibt, als in der Kontrollgruppe.

Die Histologie bestätigt dieses Ergebnis in keinem Fall. Obwohl die gemessenen Parameter der Histologie den bestehenden Grad einer Arthrose angeben können und sich als sehr gutes „Mess-Instrument“ bewährt haben, kann man nicht unbedingt von einer Korrelation der histologischen und der makroskopischen Werte ausgehen. Einen makroskopisch bewerteten Osteophyten mit Hilfe des genutzten histologischen Scores einzuordnen ist aus zweierlei Gründen nicht möglich. Zum einen lagen Osteophyten nicht immer in der für die histologische Auswertung verwendeten „zone of interest“ und zum anderen wird in dem Mankin-Score kein Punktwert für einen direkt vorliegenden Osteophyten angegeben.

Ähnliches gilt für die anderen Parameter beider Tests.

Wenn man sich nun das hypothetische Wirkprinzip der MBST[®]-Therapie noch einmal verdeutlicht, würde man einen einsetzenden Effekt erwarten, der sich ausgehend von einer biochemischen und biophysikalischen Zellebene heraus, über histologisch und schließlich makroskopisch messbare Stadien entwickelt. Andererseits könnte auch ein bis heute noch nicht beschriebener Effekt, wie z.B. eine Beeinflussung der extrazellulären Matrix, direkt Einfluss auf das makroskopische und histologische Erscheinungsbild haben.

Denkbar wären in diesem Fall weitere Untersuchungen, die gezielt versuchen Unterschiede auf immunhistochemischer Ebene herauszuarbeiten. Hierbei eröffnet sich ein weiteres, großes Forschungsgebiet. Ein besonderes Interesse könnte in diesem Fall zum Beispiel der qualitative und quantitative Nachweis von Matrixmetalloproteinasen (MMPs), Interleukinen (IL) oder verschiedener Wachstumsfaktoren (TGF β) sein.

Diese Überlegung stützt sich auf die vorhandenen tierexperimentellen Studien, bei denen der Einfluss gepulster elektromagnetischer Felder auf die extrazelluläre Matrix untersucht wurde. Ciombor et al. (10) konnten am spontanen Arthrosemodell an Meerschweinchen, die mit gepulsten elektromagnetischen Feldern behandelt wurden, eine signifikante Verbesserung der Arthrose und ein geringeres Vorkommen des Entzündungsmarkers IL-1 nachweisen. Ebenso konnten Chang et al. (8) in einem tierexperimentellen Projekt einen Rückgang verschiedener Faktoren, zu denen IL-1 und IL-6 sowie TNF-alpha gehörten, nachweisen.

In Bezug auf diese und andere Erkenntnisse, wäre die Testung der MBST[®]-Therapie auf verschiedene, oben genannte Faktoren, neben der Darstellung der histologischen und makroskopischen Ergebnisse, sicherlich eine weitere Möglichkeit.

Ein weiterer Ansatzpunkt ist die Variation der systemtechnischen und therapeutischen Faktoren. Ausgehend von dem eingesetzten Therapiegerät zählen unter anderem die Frequenz (Hz) und die Feldstärke (Tz) zu Parametern, die sich kontrollieren und somit verändern ließen. Zusätzlich ist die Häufigkeit und Dauer der MBST[®]-Therapie auf verschiedenste Art und Weise änderbar.

Das heißt, dass es ein vielleicht auch individuelles Therapieintervall für verschiedene Problemstellungen geben könnte. Unter der Anwendung von gepulsten elektromagnetischen Feldern untersuchten Ahmadian et al. (2) im Rattenmodell, bei sechs Gruppen mit jeweils acht Tieren, den Einfluss verschiedener Frequenzbereiche. Sie fanden heraus, dass bei einer Feldstärke von 2 mT und einer Therapiedauer von 8 Tagen (jeweils 2,5 Stunden pro Tag) eine Frequenz von 25 Hz den größten Effekt auf das Kollagenwachstum ergab.

Ebenso beschrieben Lee et al. (42) in einem Versuch, bei dem sie die Wirkung gepulster Magnetfelder auf eine im Rattenmodell induzierte Achillessehnenentzündung untersuchten, dass es zu einer intensiveren Entzündungsreduktion bei der Anwendung eines Frequenzbereiches von 17 Hz kommt.

In Anlehnung an diese und andere Studien kann man davon ausgehen, dass es ähnliche Unterschiede ebenfalls bei der Behandlung mit dem MBST®-Therapie-Gerät gibt. Studien, die sich mit dieser Fragestellung beschäftigen sind derzeit noch in Arbeit.

Die MBST®-Kernspin-Resonanz bietet in Zukunft noch viele Möglichkeiten, einzelne Wirkmechanismen und Wirkungen zu detektieren und zu beeinflussen. Somit könnte zum einen die Analytik noch weiter ausgearbeitet werden, um eventuelle Änderungen im Knorpelgewebe oder der Zellmatrix zu erfassen. Zum anderen ließe sich das Studiendesign mit verschiedenen radiologischen Untersuchungsverfahren (Röntgen, CT etc.) ergänzen und man könnte ebenfalls auf genetisch vorbehandelte Tiere zurückgreifen (Knock-out-Maus), um einzelne Parameter in größerer Zahl gezielter zu erfassen.

4.2.1 Klinischer Stellenwert der MBST[®]-Kernspin-Resonanz-Therapie bezogen auf die Osteoarthrose

Die MBST[®]-Therapie ist eine noch recht neue Methode, um eine bestehende Osteoarthrose zu behandeln. Basierend auf den Grundzügen der Technik eines Magnet-Resonanz-Tomographens soll sie helfen, die Lebensqualität eines an Arthrose erkrankten Patienten, zu steigern.

Nachdem sichergestellt wurde, dass es bei der Anwendung des Therapiegerätes zu keinen negativen Effekten kommt (73) und es einige klinische Studien gibt, die nachweisen, dass die Anwendung der Therapie dem Wohlbefinden vieler Patienten dient (38, 39, 40), könnte die MBST[®]-Therapie eine weitere Option in der Behandlung der Osteoarthrose darstellen. Neben anderen Methoden einer physikalischen Therapie, sollte man auch gerade in Bezug auf, zum Teil invasive Therapieoptionen, dem Patienten die Möglichkeit geben, weitere schonende Verfahren zu nutzen.

4.3 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Hat die MBST[®]-Kernspin-Resonanz-Therapie einen Einfluss auf die post-traumatische Gonarthrose im Kaninchenmodell? In dieser Arbeit wurde ein Modell angewandt, um möglichst viele aussagekräftige Daten über die Knorpelmorphologie zu erheben. Angefangen bei der Auswahl des Tierversuchs, über eine Anwendung des Therapiegerätes, bis hin zur Ausarbeitung und Darstellung der Proben gab es unterschiedliche Wege, die für die Durchführung in Frage kommen. Letztendlich haben wir uns weitestgehend versucht, an bestehenden, etablierten Methodiken zu orientieren. Somit wurde die Auswertung der Proben nur mit Scores gemacht, die bereits vielfach und erfolgreich Anwendung gefunden haben. Die labortechnischen Verfahren waren ebenfalls standardisiert.

Auf bestehende Daten, die Aufschluss über die genaue zeitliche Anwendung und somit auch über die Intensität des MBST[®]-Therapiegerätes geben, konnten wir nicht zurückgreifen, da es diese noch nicht gab. Die Orientierung an therapeutischen Zeiträumen, wie sie in der klinischen Anwendung zu finden sind, konnte nur hinweisend sein. Es galt somit ein Modell zu etablieren, das für sich selbst und für weitere Studien als Grundlage dienen kann.

Beantwortet man die oben gestellte Frage mit den vorliegenden Ergebnissen dieser Arbeit, so kann man aufgrund des Unterschiedes der Ergebnisse von einer Beeinflussung ausgehen, die im Rahmen dieser Studie erfolgt ist.

Der in der Makroskopie nachgewiesene Effekt konnte auf Ebene der Histologie nicht bestätigt werden.

Letztendlich bieten diese Daten eine gute Grundlage, um in Zukunft noch weitere Ergebnisse über das Therapiegerät zu sammeln, mit der Absicht, die best möglichen Bedingungen für das optimale Einsatzgebiet des Kernspin-Resonanz-Therapiegerätes, zu finden.

5 Literaturverzeichnis

1. Aaron RK, Boyan BD, Ciombor DM, Schwartz Z, Simon BJ. Stimulation of growth factor synthesis by electric and electromagnetic fields. *Clin Orthop Relat Res* (419): 30-7, 2004.
2. Ahmadian S, Zarchi SR, Bolouri B. Effects of extremely-low-frequency pulsed electromagnetic fields on collagen synthesis in rat skin. *Biotechnol Appl Biochem* 43 (Pt 2): 71-5, 2006.
3. Artmann. Proteom- Level- Effekt der MBST Anwendung im Hautzellmodell in Kultur. Studienbericht (beauftragte Studie: MedTec Medizintechnik GmbH, Wetzlar), 2006.
4. Balcavage WX, Alvager T, Swez J, Goff CW, Fox MT, Abdullyava S, King MW. A mechanism for action of extremely low frequency electromagnetic fields on biological systems. *Biochem Biophys Res Commun* 222 (2): 374-8, 1996.
5. Bendele AM. Progressive chronic osteoarthritis in femorotibial joints of partial medial meniscectomized guinea pigs. *Vet Pathol* 24 (5): 444-8, 1987.
6. Benninghoff. Anatomie Vol. 1. 14 ed: Urban Schwarzenberg 1994.
7. Brackertz D, Mitchell GF, Mackay IR. Antigen-induced arthritis in mice. I. Induction of arthritis in various strains of mice. *Arthritis Rheum* 20 (3): 841-50, 1977.
8. Chang DG, Iverson EP, Schinagl RM, Sonoda M, Amiel D, Coutts RD, Sah RL. Quantitation and localization of cartilage degeneration following the induction of osteoarthritis in the rabbit knee. *Osteoarthritis Cartilage* 5 (5): 357-72, 1997.
9. Chang K, Hong-Shong Chang W, Yu YH, Shih C. Pulsed electromagnetic field stimulation of bone marrow cells derived from ovariectomized rats affects osteoclast formation and local factor production. *Bioelectromagnetics* 25 (2): 134-41, 2004.
10. 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.
11. Ciombor DM, Lester G, Aaron RK, Neame P, Caterson B. Low frequency EMF regulates chondrocyte differentiation and expression of matrix proteins. *J Orthop Res* 20 (1): 40-50, 2002.

12. Collins DH. The value of histological biopsy in the diagnosis of arthritis and rheumatic disease. *Bras Med* 67 (27-52): 559-64, 1953.
13. De Mattei M, Caruso A, Pezzetti F, Pellati A, Stabellini G, Sollazzo V, Traina GC. Effects of pulsed electromagnetic fields on human articular chondrocyte proliferation. *Connect Tissue Res* 42 (4): 269-79, 2001.
14. Ehrlich MG, Mankin HJ, Jones H, Grossman A, Crispin C, Ancona D. Biochemical confirmation of an experimental osteoarthritis model. *J Bone Joint Surg Am* 57 (3): 392-6, 1975.
15. Erggelet C SM. Gelenknorpeldefekte. Steinkopfverlag, Darmstadt: 167-181, 2001.
16. Evans EB EG, Butler JK, Blumel J. Experimental immobilization and remobilization of rat knee joints. *J Bone Joint Surg Am* 42A: 737- 58 1960.
17. Eyre DR, Wu JJ. Collagen structure and cartilage matrix integrity. *J Rheumatol Suppl* 43: 82-5, 1995.
18. Felson DT. Epidemiology of hip and knee osteoarthritis. *Epidemiol Rev* 10: 1-28, 1988.
19. Felson DT, Anderson JJ, Naimark A, Walker AM, Meenan RF. Obesity and knee osteoarthritis. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 109 (1): 18-24, 1988.
20. Fergusson CM. The aetiology of osteoarthritis. *Postgrad Med J* 63 (740): 439-45, 1987.
21. Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology* 39 (1-2): 237-46, 2002.
22. Franz T, Hasler EM, Hagg R, Weiler C, Jakob RP, Mainil-Varlet P. In situ compressive stiffness, biochemical composition, and structural integrity of articular cartilage of the human knee joint. *Osteoarthritis Cartilage* 9 (6): 582-92, 2001.
23. Froböse I EU, Reiser M, Glaser C, Engelmeier F, Assheuer J, Breitgraf G. Evaluation der Effektivität dreidimensionaler pulsierender elektromagnetischer Felder der MultiBioSignalTherapie (MBST®) auf die Regeneration von Knorpel-strukturen. *Orthop Praxis* 36: 510- 15.
24. 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.

25. Furman BD, Olson SA, Guilak F. The Development of Posttraumatic Arthritis After Articular Fracture. *J Orthop Trauma* 20 (10): 719-725, 2006.
26. Guilak F, Ratcliffe A, Lane N, Rosenwasser MP, Mow VC. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis. *J Orthop Res* 12 (4): 474-84, 1994.
27. 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.
28. Hawkey C, Laine L, Simon T, Beaulieu A, Maldonado-Cocco J, Acevedo E, Shahane A, Quan H, Bolognese J, Mortensen E. Comparison of the effect of rofecoxib (a cyclooxygenase 2 inhibitor), ibuprofen, and placebo on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The Rofecoxib Osteoarthritis Endoscopy Multinational Study Group. *Arthritis Rheum* 43 (2): 370-7, 2000.
29. Hellwig N, Plant TD, Janson W, Schafer M, Schultz G, Schaefer M. TRPV1 acts as proton channel to induce acidification in nociceptive neurons. *J Biol Chem* 279 (33): 34553-61, 2004.
30. Hulth A, Lindberg L, Telhag H. Experimental osteoarthritis in rabbits. Preliminary report. *Acta Orthop Scand* 41 (5): 522-30, 1970.
31. Indouraine A, Petersen JP, Pforringer W. [Effects of low-frequency pulsed electromagnetic fields on the proliferation of chondrocytes]. *Sportverletz Sportschaden* 15 (1): 22-7, 2001.
32. 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.
33. Jäger M. *Praxis der Orthopädie*. Vol. 1: Thieme, Stuttgart, New York, p. 980, 1986.
34. 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.
35. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 16 (4): 494-502, 1957.
36. Kikuchi T, Sakuta T, Yamaguchi T. Intra-articular injection of collagenase induces experimental osteoarthritis in mature rabbits. *Osteoarthritis Cartilage* 6 (3): 177-86, 1998.

37. Kim HK, Moran ME, Salter RB. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subchondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. *J Bone Joint Surg Am* 73 (9): 1301-15, 1991.
38. Klapsch. MBST- Kernspin- Resonanz- Therapie. Therapieoption bei degenerativen und traumatischen Gelenksveränderungen. 27 ÖGO- Tagung, Graz Vortrag, 126: Abstractband Seite 124
39. Krösche M BG. Langzeitkontrolle der MultiBioSignal- Therapie. Bericht. Studie des Zentrums ReAgil Köln 1998.
40. Kullich W SH, Machreich K, Ausserwinkler M. Additional outcome improvement in the rehabilitation of chronic low back pain after nuclear resonance therapy. *J Rheumatologia* 20: in press.
41. Kuwata K, Sato S, Era S, Sogami M, Kida K, Iwama T, Kato K, Matsunaga T, Watari H. Cross-relaxation times of normal and biochemically induced osteoarthritic rabbit knee cartilages. *Jpn J Physiol* 47 (3): 291-7, 1997.
42. Lee EW, Maffulli N, Li CK, Chan KM. Pulsed magnetic and electromagnetic fields in experimental achilles tendonitis in the rat: a prospective randomized study. *Arch Phys Med Rehabil* 78 (4): 399-404, 1997.
43. Liu H, Lees P, Abbott J, Bee JA. Pulsed electromagnetic fields preserve proteoglycan composition of extracellular matrix in embryonic chick sternal cartilage. *Biochim Biophys Acta* 1336 (2): 303-14, 1997.
44. Madry H, Kohn D. [Conservative treatment of knee osteoarthritis]. *Unfallchirurg* 107 (8): 689-99; quiz 700, 2004.
45. Mankin HJ. Localisation of tritiated thymidine in articular cartilage of rabbits. II. Repair in immature cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 44: 688- 698, 1962.
46. Mankin HJ. The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis (first of two parts). *N Engl J Med* 291 (24): 1285-92, 1974.
47. Mankin HJ BC. The acute effects of lacerative injury on DNA and protein synthesis in articular cartilage, *Cartilage Degradation and Repair*. National Academy of Sciences- National Re-search Council: 188-200, 1967.
48. 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.
49. March LM, Bachmeier CJ. Economics of osteoarthritis: a global perspective. *Baillieres Clin Rheumatol* 11 (4): 817-34, 1997.

50. 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.
51. Murphy WA, Jr., Altman RD. Updated osteoarthritis reference standard. *J Rheumatol Suppl* 43: 56-9, 1995.
52. Murray DG. Experimentally Induced Arthritis Using Intra-Articular Papain. *Arthritis Rheum* 7: 211-9, 1964.
53. O'Connor VD, Brandt K. The development of experimental osteoarthritis in dogs with extensively deafferented knee joints. *Arthritis Rheum* 32: 106, 1989.
54. Pamoski 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.
55. Pond MJ, Nuki G. Experimentally-induced osteoarthritis in the dog. *Ann Rheum Dis* 32 (4): 387-8, 1973.
56. Pschyrembel. *Klinisches Wörterbuch*. de Gruyter Auflage 258, 1998
57. Puhl W, Scharf P. Intra-articular hyaluronan treatment for osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 56 (7): 441, 1997.
58. Ray A, Kuroki K, Cook JL, Bal BS, Kenter K, Aust G, Ray BK. Induction of matrix metalloproteinase 1 gene expression is regulated by inflammation-responsive transcription factor SAF-1 in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 48 (1): 134-45, 2003.
59. Roos H, Adalberth T, Dahlberg L, Lohmander LS. Osteoarthritis of the knee after injury to the anterior cruciate ligament or meniscus: the influence of time and age. *Osteoarthritis Cartilage* 3 (4): 261-7, 1995.
60. Rosc D, Powierza W, Zastawna E, Drewniak W, Michalski A, Kotschy M. Post-traumatic plasminogenesis in intraarticular exudate in the knee joint. *Med Sci Monit* 8 (5): CR371-8, 2002.
61. Rosenberg. The reaction of articular cartilage to injury and osteoarthritis. *New Engl Journal of Medicine* 12 (24): 1285- 92 1974.
62. Rudert M, Wirth CJ. [Cartilage cell transplantation. Experimental principles and clinical applications]. *Orthopade* 26 (8): 741-7, 1997.

63. Salter DM, Godolphin JL, Gourlay MS, Lawson MF, Hughes DE, Dunne E. Analysis of human articular chondrocyte CD44 isoform expression and function in health and disease. *J Pathol* 179 (4): 396-402, 1996.
64. Schwartz ER. Animal models: a means to study the pathogenesis of osteoarthritis. *J Rheumatol* 14 Spec No: 101-3, 1987.
65. Shapiro F, Glimcher MJ. Induction of osteoarthrosis in the rabbit knee joint. *Clin Orthop Relat Res* (147): 287-95, 1980.
66. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 75 (4): 532-53, 1993.
67. Sharma L, Kapoor D, Issa S. Epidemiology of osteoarthritis: an update. *Curr Opin Rheumatol* 18 (2): 147-56, 2006.
68. Sokoloff. *The Biology of Degenerative Joint Disease*. University of Chicago Press, 1969
69. Sokoloff. Some highlights in the emergence of modern concepts of osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* Okt 31(2): 71- 107, 2001.
70. Statistisches Bundesamt GfD, Verlag Metzler –Poeschel Stuttgart. 1998.
71. Steinbrück. *Der Orthopäde*. Springer Verlag 27: 865- 868, 1998.
72. 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.
73. Temiz- Artmann A LP, Kayser, Digel I, Artmann GM, Lücker P. NMR in vitro effects on proliferation, apoptosis and viability of human chondrocytes and osteoblasts. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 27: 391- 4 2004.
74. 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.
75. van de Wijngaert FP, Schipper CA, Tas MC, Burger EH. Role of mineralizing cartilage in osteoclast and osteoblast recruitment. *Bone* 9 (2): 81-8, 1988.

76. 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.
77. Weinberger A, Nyska A, Giler S. Treatment of experimental inflammatory synovitis with continuous magnetic field. *Isr J Med Sci* 32 (12): 1197-201, 1996.
78. Westacott CI, Sharif M. Cytokines in osteoarthritis: mediators or markers of joint destruction? *Semin Arthritis Rheum* 25 (4): 254-72, 1996.
79. Wolsko PM, Eisenberg DM, Simon LS, Davis RB, Walleczek J, Mayo-Smith M, Kaptchuk TJ, Phillips RS. Double-blind placebo-controlled trial of static magnets for the treatment of osteoarthritis of the knee: results of a pilot study. *Altern Ther Health Med* 10 (2): 36-43, 2004.
80. 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.
81. Zeidler Z, Hiepe. *Interdisziplinäre klinische Rheumatologie*. Springer Verlag.

6 Anhang

6.1 Makroskopische Befunde

Probe	Fibrillationen	Ulzerationen	Osteophyten	Erguss	Kreuzband
T1 r	gering	kleinflächig	keine	gering	durchtrennt
T1 l	gering	kleinflächig	keine	gering	durchtrennt
T2 r	mittelgradig	kleinflächig	gering	groß	durchtrennt
T2 l	mittelgradig	kleinflächig	gering	groß	durchtrennt
T3 r	gering	kleinflächig	keine	gering	durchtrennt
T3 l	mittelgradig	keine	gering	kein	durchtrennt
T4 r	gering	kleinflächig	mittelgradig	kein	durchtrennt
T4 l	mittelgradig	keine	gering	gering	durchtrennt
T5 r	gering	keine	gering	kein	durchtrennt
T5 l	gering	keine	gering	gering	durchtrennt
T6 r	gering	keine	gering	mittelgradig	durchtrennt
T6 l	mittelgradig	kleinflächig	gering	mittelgradig	durchtrennt
T7 r	gering	keine	gering	gering	durchtrennt
T7 l	gering	keine	mittelgradig	mittelgradig	durchtrennt
T8 r	gering	keine	mittelgradig	gering	durchtrennt
T8 l	gering	kleinflächig	mittelgradig	mittelgradig	durchtrennt
K1 r	mittelgradig	kleinflächig	gering	gering	durchtrennt
K1 l	ausgeprägt	kleinflächig	mittelgradig	mittelgradig	durchtrennt
K2 r	mittelgradig	keine	ausgeprägt	groß	durchtrennt
K2 l	mittelgradig	kleinflächig	ausgeprägt	mittelgradig	durchtrennt
K3 r	xxx	xxx	xxx	xxx	erhalten
K3 l	mittelgradig	großflächig	mittelgradig	mittelgradig	durchtrennt
K4 r	mittelgradig	keine	ausgeprägt	groß	durchtrennt
K4 l	mittelgradig	kleinflächig	ausgeprägt	mittelgradig	durchtrennt

6.2 Mikroskopische Befunde

Probe Rechts	Struktur (0-6)	Zellen (0-3)	Safranin-O (0-4)	Gefäße (0-1)
T1 m	2/3/2/2/3/2	2/2/0/2/2/0	2/1/1/2/1/1	1/1/1/1/1/1
T1 l	2/3/1/2/3/0	2/2/1/2/3/1	2/3/4/2/3/4	1/1/0/1/1/0
T2 m	2/2/4/2/3/4	3/2/3/3/2/3	2/2/1/2/2/1	1/1/1/1/1/1
T2 l	2/3/3/2/3/3	2/2/3/2/2/3	0/4/4/0/4/4	1/0/0/1/0/0
T3 m	xxx	xxx	xxx	xxx
T3 l	xxx	xxx	xxx	xxx
T4 m	4/4/4/4/4/4	2/3/1/3/3/1	0/0/1/1/0/1	1/1/1/1/1/1
T4 l	0/0/0/0/0/0	0/0/0/0/0/0	3/3/4/3/3/4	0/0/0/0/0/0
T5 m	xxx	xxx	xxx	xxx
T5 l	4/4/4/4/4/4	2/2/0/2/2/0	2/2/4/3/2/4	1/1/1/1/1/1
T6 m	2/0/3/2/0/3	0/0/0/0/0/0	2/1/3/2/1/3	1/0/0/1/0/0
T6 l	0/0/0/0/0/0	0/1/1/0/1/1	2/1/3/2/1/3	0/1/1/0/1/1
T7 m	0/1/1/0/1/1	2/1/0/2/1/1	2/1/2/2/1/2	1/1/1/1/1/1
T7 l	1/1/1/1/1/1	1/1/1/1/1/1	3/3/3/3/3/4	0/0/0/0/0/0
T8 m	0/1/2/1/1/2	1/2/0/1/3/0	1/3/2/2/3/2	1/1/1/1/1/1
T8 l	2/3/2/2/3/2	2/2/2/2/2/2	4/3/2/4/3/3	0/1/0/0/1/0
K1 m	0/0/0/1/0/0	0/0/1/0/0/1	0/0/0/1/1/0	1/0/0/1/0/0
K1 l	3/3/1/3/3/1	0/0/0/0/0/0	1/1/3/1/1/3	1/1/0/1/1/0
K2 m	2/2/3/2/2/3	2/1/3/2/1/3	0/0/0/0/0/0	1/1/1/1/1/1
K2 l	1/3/1/1/3/2	0/3/2/0/3/2	0/2/4/1/2/4	0/0/1/0/0/1
K3 m	xxx	xxx	xxx	xxx
K3 l	xxx	xxx	xxx	xxx
K4 m	2/1/1/2/1/1	1/1/1/0/1/0	1/0/0/1/0/0	1/1/0/1/1/0
K4 l	2/0/1/2/0/1	1/0/2/1/0/2	3/4/4/3/4/4	0/0/1/0/1/1

Probe Links	Struktur (0-6)	Zellen (0-3)	Safranin-O (0-4)	Gefäße (0-1)
T1 m	0/1/2/0/1/2	1/3/1/1/3/2	4/3/3/4/3/4	1/1/1/1/1/1
T1 l	3/4/3/4/4/3	1/0/2/2/0/2	4/1/3/4/1/3	0/0/0/0/0/0
T2 m	xxx	xxx	xxx	xxx
T2 l	2/3/3/2/3/3	2/2/1/2/2/1	3/4/1/3/4/1	0/1/1/0/1/1
T3 m	1/0/0/2/0/0	0/3/1/0/3/2	0/0/0/0/0/0	0/1/0/0/1/0
T3 l	0/0/1/0/0/1	0/0/3/0/0/3	2/1/2/3/1/2	0/0/0/0/0/0
T4 m	3/3/3/3/3/3	3/3/1/3/3/2	2/3/2/3/3/2	0/0/0/0/0/0
T4 l	1/1/1/1/1/1	0/0/0/0/0/0	1/1/1/1/1/1	0/0/0/0/0/0
T5 m	0/0/0/0/0/0	0/0/0/0/0/0	4/2/3/4/2/3	0/0/0/0/0/0
T5 l	1/0/3/1/1/3	2/0/2/2/1/2	3/1/1/3/1/2	1/0/1/1/0/1
T6 m	3/3/1/3/3/1	1/2/3/1/2/3	1/0/2/2/0/2	0/1/1/1/1/1
T6 l	1/3/4/1/3/4	1/3/3/1/3/3	4/3/3/4/3/4	0/0/1/0/0/1
T7 m	3/4/4/3/4/4	0/1/1/0/1/1	2/2/3/2/2/3	1/1/1/1/1/1
T7 l	4/3/3/4/3/3	1/1/3/1/1/3	2/1/1/2/1/0	1/1/0/1/1/0
T8 m	2/1/2/2/1/2	2/2/1/2/2/1	0/0/1/0/0/1	0/0/0/0/0/0
T8 l	3/2/1/3/2/1	2/1/0/2/1/0	1/0/0/1/0/1	0/0/0/0/0/0
K1 m	1/0/0/1/0/0	0/0/0/0/1/0	0/1/0/0/1/0	0/1/1/0/1/1
K1 l	0/0/0/0/0/0	2/0/0/2/0/0	1/2/2/1/2/2	0/0/0/0/0/0
K2 m	1/2/1/1/2/2	3/2/2/3/2/2	1/1/1/1/1/1	1/0/1/1/0/1
K2 l	0/1/2/1/1/3	0/0/2/0/0/2	0/0/1/0/0/1	0/0/1/0/0/1
K3 m	0/1/0/0/2/0	1/1/1/1/1/1	4/2/3/4/2/3	1/1/1/1/1/1
K3 l	2/1/4/2/1/5	1/0/3/1/0/3	1/3/3/1/3/3	0/1/1/0/1/1
K4 m	2/1/2/2/1/2	2/2/3/2/2/3	0/1/2/0/2/2	1/1/1/1/1/1
K4 l	4/4/4/4/4/4	3/2/1/3/3/1	0/1/1/1/1/1	1/0/0/1/0/0

6.3 Median (Makroskopie)

Probe	Fibrillationen	Ulzerationen	Osteophyten	Erguss	Gesamt
T1 r	1	1	0	1	3
T1 l	1	1	0	1	3
T2 r	2	1	1	3	7
T2 l	2	1	1	3	7
T3 r	1	1	0	1	3
T3 l	2	0	1	0	3
T4 r	1	1	2	0	4
T4 l	2	0	1	1	4
T5 r	1	0	1	0	2
T5 l	1	0	1	1	3
T6 r	1	0	1	2	4
T6 l	2	1	1	2	6
T7 r	1	0	1	1	3
T7 l	1	0	2	2	5
T8 r	1	0	2	1	4
T8 l	1	1	2	2	6
K1 r	2	1	1	1	5
K1 l	3	1	2	2	8
K2 r	2	0	3	3	8
K2 l	2	1	3	2	8
K3 r	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
K3 l	2	2	2	2	8
K4 r	2	0	3	3	8
K4 l	2	1	3	2	8

6.4 Median (Histologie)

Probe	Struktur	Zellen	Safranin-O	Gefäß	Gesamt
T1 r	2	2	2	1	7
T1 l	2,5	1,5	3	0,5	7,5
T2 r	3	2,5	2	1	8,5
T2 l	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
T3 r	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
T3 l	0	0,5	0,5	0	1
T4 r	2	0,5	2	0,5	5
T4 l	2	0,5	1,5	0	4
T5 r	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
T5 l	0	0	2,5	0	2,5
T6 r	0	0	2	0,5	2,5
T6 l	3	2,5	2,5	1	9
T7 r	1	1	2,5	0,5	5
T7 l	3,5	1	2	1	7,5
T8 r	2	2	3	1	8
T8 l	2	1,5	0	0	3,5
K1 r	1	0	1	0,5	2,5
K1 l	0	0	1	0	1
K2 r	2	2	0	1	5
K2 l	1	2	1	0,5	4,5
K3 r	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
K3 l	1	1	3	1	6
K4 r	1	1	2	1	5
K4 l	3	2	1	1	7

6.5 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Verschmälerung des medialen Kniegelenkspaltes.	1
Abb. 2: Knorpelgewebe mit Clusterbildung	7
Abb. 3: Osteophytäre Anbauten; Fibrillationen; Ulzerationen.....	8
Abb. 4 und Abb. 5: Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes intraoperativ.	13
Abb. 6: Übersicht über eine konservative Therapiemöglichkeit.....	15
Abb. 7: Schematische Darstellung eines Atoms unter Magnetfeldeinfluss.....	17
Abb. 8 und Abb. 9: Ansicht der Therapiespulen mit angebaute Liegefläche für die zu therapierenden Tiere.	20
Abb. 10: Darstellung des Zeitplans	23
Abb. 11 und Abb. 12: Intraoperativer Lachmann-Test.....	24
Abb. 13: Ansicht auf zwei funktionsbereite MBST [®] Spulen	26
Abb. 14 und Abb. 15: Front- und Seitenansicht von in einer Therapiespule gelagerten Versuchstieren.	27
Abb. 16: Darstellung der Schnittführung für die histologische Auswertung	29
Abb. 17: Schnittmikrotom der Firma Leica	30
Abb. 18: Histologisches Präparat; H.E. Färbung.....	31
Abb. 19: Histologisches Präparat; Masson-Goldner Färbekitt.....	32
Abb. 20: Histologisches Präparat; Safranin-O Färbung	33
Abb. 21: Fibrillatoinen	37
Abb. 22: Osteophyten	38
Abb. 23: Erguss.....	40
Abb. 24: Ulzerationen.....	41
Abb. 25: Gesamt- Makroskopie.....	42
Abb. 26: Fehlerbalkendiagramm (Übersicht).....	43
Abb. 29 und Abb. 30: Strukturelle Veränderungen des Knorpels.....	45
Abb. 31: Struktur	45
Abb. 32 und Abb. 33: Veränderung der Zellverteilung und –dichte.....	46
Abb. 34: Zellen	47
Abb. 35 und Abb. 36: Färbeverhalten unter Safranin-O.....	48
Abb. 37: Safranin-O	49

Abb. 38 und Abb. 39: Präparat mit Darstellung kleinerer Gefäße, die in die Knorpelmatrix eingewachsen sind.....	50
Abb. 40: Gefäße.....	51
Abb. 41: Gesamt- Histologie	52
Abb. 42: Übersicht.....	53
Abb. 43: nach Hulth et al.: Partielle/ Komplette Entfernung des medialen Meniskus.....	57
Abb. 44: nach Ehrlich et al.: Entfernung beider Kreuzbänder und des medialen Kollateralbandes.	57
Abb. 45: nach Yoshioko et al.: Isolierte Durchtrennung des vorderen Kreuzbandes.	57

6.6 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Klassifikation der Gonarthrose nach Jäger/ Wirth.....	6
Tab. 2: Versuchsgruppen.....	22
Tab. 3: Darstellung des makroskopischen Scores	28
Tab. 4: Histologische Beurteilung nach Mankin	34
Tab. 5: Signifikanzniveau (Fib).....	38
Tab. 6: Signifikanzniveau (Os).....	39
Tab. 7: Signifikanzniveau (Er)	40
Tab. 8: Signifikanzniveau (Ulz).....	41
Tab. 9: Signifikanzniveau (Gesamt-Makroskopie).....	42
Tab. 10: Signifikanzniveaus (Übersicht).....	43
Tab. 11: Median (Makroskopie).....	44
Tab. 12: Signifikanzniveau (Strukt).	46
Tab. 13: Signifikanzniveau (Zellen).	47
Tab. 14: Signifikanzniveau (Safran).	49
Tab. 15: Signifikanzniveau (Gefäß).....	51
Tab. 16: Signifikanzniveau (Gesamt-Histologie).	52
Tab. 17: Signifikanzniveaus (Übersicht).....	54
Tab. 18: Median (Histologie)	54

6.7 Abkürzungsverzeichnis

AKT	Autologe-Knorpel-Transplantation
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ER	Erguss
FIB	Fibrillation
GA	Gonarthrose
GEFÄß	Gefäßverteilung
HE	Hämatoxilin-Eosin
IL	Interleukine
K (1-4)	Kontrolltier (1-4)
KSR	Kernspinresonanz
L	Lateral
M	Medial
M1	Wechselfeld
M2	Statisches Magnetfeld
MG	Masson-Goldner
MMP	Matrix-Metallo-Proteinase
MBST	Magnet-Bio-Signal-Therapie
NSAP	Nicht-Steroidale Antiphlogistika
OA	Osteoarthrose
OS	Osteophyt
R	Rotationsachse
SAFRAN	Safraninfärbeverhalten
SO	Safranin-O
STRUKT	Struktur
T (1-8)	Therapietier (1-8)
TGF	Tumor-Growth-Factor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
ULZ	Ulzeration
VKB	Vorderes-Kreuz-Band
ZELLEN	Zellverteilung

6.8 Lebenslauf

6.9 Danksagungen

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

Einen herzlichen Dank auch an Dr. med. Hendrik Jansen, der es immer wieder geschafft hat, mich zu motivieren und der mir als Ansprechpartner und Mitwirker zur Seite stand.

Ohne die Mitarbeit der im Labor für Unfallchirurgie tätigen MTAs und Dr. rer. nat. Jürgen Paletta wäre mir die makroskopische und vor allem histologische Ausarbeitung der Proben nicht so erfolgreich gelungen. Vielen Dank für die gute Zusammenarbeit.

6.10 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).

Genehmigung der Bezirksregierung Münster: G 17/2004 AZ. 50.0835.1.0



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 mit 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. Piontkowski



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 Fuß (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	WELADE3M