

Jens Tuischer

Dr. med.

## **Die Behandlung osteochondraler Defekte mit einer Growth-Differentiation-Factor-5 beschichteten Kollagen-Hyaluronsäure-Matrix am Modell des Göttinger Minipigs.**

Geboren am 30.01.1975 in Eppingen

Staatsexamen am 07.05.2003 an der Humboldt Universität zu Berlin

Promotionsfach: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. M. Lukoschek

In der vorliegenden Studie wurde bei 24 Göttinger Minipigs der Einfluss von GDF-5 beschichteten Kollagen/Hyaluronsäure (K/H) Matrices auf die Heilung osteochondraler Defekte untersucht. Allen Tieren wurde in einer Operation an der medialen Femurkondyle beider Hinterläufe ein osteochondraler Defekt mit einem Durchmesser von 6,3 mm und einer Tiefe von 10 mm gesetzt. Bei 20 Tieren wurden makroskopische, biomechanische und histologische Untersuchungen durchgeführt. In dieser Gruppe wurde eine Seite mit einer K/H Matrix behandelt, wobei die Hälfte der Matrices den Wachstumsfaktor GDF-5 enthielt; die Gegenseite verblieb als intraindividuelle Kontrolle unbehandelt. Bei vier Tieren wurde die Expression verschiedener knorpelspezifischer Gene untersucht; hier wurden beide Seiten mit einer K/H Matrix behandelt, je eine Seite mit oder ohne GDF-5. Die Auswertung erfolgte in allen Gruppen je zur Hälfte nach drei, bzw. zwölf Monaten.

Die makroskopische Bewertung erfolgte mittels einer selbst erstellten semiquantitativen Bewertungsskala. Zur Beurteilung der biomechanischen Eigenschaften wurde ein *in situ* Indentation Test nach dem Stress-Relaxationsprotokoll im Defekt und einem korrespondierenden Areal auf dem lateralen Femurkondylus durchgeführt. Die Bewertungsparameter Maximaldruck, Äquilibriumdruck und Kraft-Flächenintegral wurden zu den Ergebnissen des ungeschädigten Knorpels in Beziehung gesetzt. Zur Bewertung des histologischen Ergebnisses wurde der O'Driscoll Score verwendet. Die molekularbiologische Untersuchung erfolgte mittels quantitativer PCR. Als statistische Tests wurden nonparametrische Verfahren eingesetzt: der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben und der Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben.

Zwei Tiere erreichten die Endpunkte der Studie nicht, ein Tier konnte nachoperiert werden. Bei zwei Tieren fanden sich ausgeprägte Ossifikationen der Gelenkkapsel, beide Knie waren mit GDF-5 behandelt worden.

Bei der makroskopischen Untersuchung zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen, weder zwischen Matrix behandelten Defekten und Kontrollen noch zwischen Matrix behandelten Defekten mit und ohne GDF-5. Die Bestimmung der biomechanischen Eigenschaften nach der gewählten Methode war nach drei Monaten Beobachtungszeitraum nicht möglich, somit lagen nur Ergebnisse nach zwölf Monaten vor. Hier fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen K/H-Matrix behandelten Defekten bei den relativen Maximaldrücken ( $p = 0,043$ ), nicht jedoch für die anderen gemessenen Parameter. Die biomechanischen Eigenschaften des Regeneratknorpels differierten bei allen Behandlungsgruppen deutlich von intaktem Knorpel (Maximaldruck 58,3 %, Äquilibriumdruck 3,6 %, Kraftflächenintegral 10,1 %). Bei den histologischen Ergebnissen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsoptionen. Nach zwölf Monaten fanden sich bei 80 % aller Defekte große subchondrale Zysten, unabhängig von der Behandlungsart.

Die extrahierte RNA-Menge war bei den GDF-5 behandelten Defekten nach drei Monaten zu gering, um eine Analyse durchzuführen. Nach zwölf Monaten zeigten sich erhöhte Werte für Aggrekan und Kollagen-1 in der Gruppe ohne GDF-5 sowie für COMP bei den GDF-5 behandelten Defekten.

Ob die artikulären Ossifikationen durch GDF-5 verursacht wurden, lässt sich anhand von zwei Fällen nicht abschließend beurteilen, sollte aber bei zukünftigen Studien berücksichtigt werden. Die identischen Mediane bei den makroskopischen und mikroskopischen Skalen könnten Hinweise dafür sein, dass GDF-5 in der gewählten Applikationsform keinen Einfluss auf die Heilung osteochondraler Defekte hat. Die durch die Ausfälle reduzierte Fallzahl der vorliegenden Studie könnte jedoch zu gering sein, um einen Unterschied festzustellen.

Der signifikante Unterschied bei den Druckmaxima könnte durch eine Wirkung der K/H-Matrix auf die Defektheilung bedingt sein, jedoch muss der Effekt des multiplen Testens berücksichtigt werden.

Die gefundenen Unterschiede auf RNA-Ebene bedürfen einer Bestätigung, möglichst mit gepooltem Material mehrerer Individuen, bevor die Veränderungen der Expression durch K/H-Matrizes mit GDF-5 interpretiert werden können.

Die deutlich besseren Ergebnisse im O'Driscoll-Score nach 12 Monaten unterstreichen, dass bei der Beurteilung von Knorpeldefekten bei Großtieren die Langzeitbeobachtung von großer

Bedeutung ist. In der Untersuchung zeigte sich, dass auch histomorphologisch gut bewertete Defekte biomechanische Eigenschaften besitzen, die gesundem Knorpel nicht entsprechen. Die Beurteilung der Defektheilung nach ausschließlich morphologischen Gesichtspunkten scheint nicht ausreichend.

Die großen intraossären zystischen Läsionen scheinen durch keine der Behandlungsoptionen verhindert werden zu können. Eventuell könnte eine modifizierte Matrix zur Verbesserung der Defektregeneration beitragen.

Da die komplexen Interaktionen von Wachstumsfaktoren mit einer Vielzahl möglicher Zielzellen nicht ausreichend bekannt sind, stellt die Therapie von Gelenkknorpeldefekten mit einer GDF-5 beschichteten Kollagen-Hyaluronsäure-Matrix zum jetzigen Zeitpunkt eine unzureichende und unsichere Technik dar.