

Die homologe reine Gelenkknorpeltransplantation im Tierexperiment

Vorläufige experimentelle Studien am Schaf

R. Passl¹, H. Plenk, jr.³, G. Sauer¹, H. P. Spängler, jr.², T. Radaszkiewicz⁴ und
J. Holle²

Homologous Articular Cartilage Transplantation in Animal Experiments

Preliminary Studies on Sheep

Summary. Homologous articular cartilage without subchondral bone instead of the usual osteochondral grafts was transplanted in sheep. The transplants were fixed to the host by a biological tissue adhesive based on fibrinogen clotting. Light- and electronmicroscopic studies showed viable transplants up to 7 months and a stable bony union with the host through endochondral bone formation.

A additional external fixation of the joint after transplantation or the use of a conventional cyanoacrylate tissue adhesive failed to achieve positive results.

The relations of these preliminary findings for restorative techniques of articular cartilage defects are discussed.

Zusammenfassung. Anstelle der üblicherweise verwendeten Knorpel-Knochen-Transplantate wurde bei Schafen homologer Gelenkknorpel ohne subchondrale Knochenplatte verpflanzt. Die Knorpelscheibchen wurden im Transplantatbett mit einem biologischen Gewebeklebeverfahren, das auf der Fibringerinnung basiert, eingeklebt. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen ergaben, daß die Transplantate bis 7 Monate nach der Implantation noch vital sind und durch enchondrale Knochenneubildung an der Basis fest mit der knöchernen Unterlage verwachsen.

Die gleiche Versuchsanordnung mit Verwendung eines gebräuchlichen Gewebeklebers auf Zyanoacrylatbasis hat wesentlich schlechtere Resultate hin-

¹ Lehrkanzel für Unfallchirurgie II (Vorstand: Prof. Dr. H. Spängler), Spitalgasse 23, A-1090 Wien

² II. Chirurgische Universitätsklinik Wien (Vorstand: Prof. Dr. J. Navratil, Dr. Sc.)

³ Histologisch-Embryologisches Institut der Universität Wien (Vorstand: Prof. Dr. H. G. Schwarzacher)

⁴ Pathologisch-Anatomisches Institut der Universität Wien (Vorstand: Prof. Dr. J. H. Holzner)

sichtlich der Einheilung der Transplantate ergeben. Weitere Voraussetzung für eine erfolgreiche Knorpelimplantation ist die Vermeidung einer postoperativen Ruhigstellung.

Technik und mögliche therapeutische Konsequenzen zur Wiederherstellung von Gelenkknorpeldefekten werden diskutiert.

Einleitung

Im Gegensatz zum Knochengewebe zeigt der hyaline Gelenkknorpel klinisch und experimentell nur eine mangelhafte Regenerationsfähigkeit. Ein durch Trauma, Infektion oder andere Ursachen zerstörter Gelenkknorpel wird immer durch minderwertigeres Gewebe ersetzt, das die normale Beanspruchung eines Gelenkes nicht mehr gewährleisten kann (Cotta; Fiala u. Bartos; Ghadially et al.; Otte; Puhl et al.).

Schon im vorigen Jahrhundert wurde daher versucht, den zerstörten Gelenkknorpel zu ersetzen (Bert). Die Ganz- oder Halbgelenkstransplantation wurde sowohl experimentell als auch klinisch untersucht (Lexer; Bürkle de la Camp; Burwell; Fiala u. Herout; Herndon u. Chase; Imamaliyev; Reeves; Volkov) und scheiterte letztlich immer an Ernährungs- bzw. immunologischen Problemen, wenn auch von einem Überleben des Gelenkknorpels selbst berichtet wird (Hellinger et al.; Herron u. Harris). Die Transplantation von Gelenkknorpel mit einer dünnen subchondralen Knochenschicht zeitigte bisher die besten Erfolge, und es scheint keinen wesentlichen Unterschied zu machen, ob es sich um autologes oder homologes Gewebe handelt (Campbell et al.; Ehalt; Hepp; Lemperg; Pap u. Krompecher; Profitos; Störig; Wagner). Dies scheint für die Gewinnung größerer Areale zur Deckung von Defekten von Bedeutung, da autologes Gewebe nur in geringem Ausmaß zur Verfügung steht.

Die Verpflanzung von reinem Gelenkknorpel, also ohne die subchondrale Knochenschicht, wurde ebenfalls schon versucht, allerdings bisher ohne Erfolg (Judet), und dies ist nach Otte darauf zurückzuführen, daß eine primäre Knorpelfusion nicht stattfindet und ein festes Einwachsen des Transplantates nur durch die Einheilung der subchondralen Knochenschicht in einem knöchernen Bett erfolgen kann. Die Voraussetzung für den Einheilungsvorgang ist vor allem die Eröffnung der subchondralen Gefäße.

Aus folgenden Überlegungen schien uns die reine Gelenkknorpeltransplantation dennoch einer neuerlichen experimentellen Überprüfung wert zu sein:

1. Nimmt man die autologe Transplantation aus, so bringt homologes Knorpelgewebe im Vergleich zum Knochengewebe wesentlich günstigere immunologische Voraussetzungen (Chesterman). Die üblicherweise mitverpflanzte subchondrale Knochenschicht wird darüber hinaus immer abgebaut und ersetzt.

2. Da der Gelenkknorpel vorwiegend von der Synovialflüssigkeit ernährt wird, ist er vor allem nach Abschluß des Wachstums von einer basalen Gefäßversorgung praktisch unabhängig (Beneke u. Deuschle; Chesterman u. Smith; Otte).

3. Das Problem der Fixierung des Transplantates könnte durch die heute bekannten Methoden der Gewebeklebung gelöst werden.

Material und Methodik

Die Untersuchungen wurden an 30 Schafen beiderlei Geschlechts durchgeführt, deren Körpergewicht im Durchschnitt 35 kg betrug. So schwere Tiere sind mindestens 2 Jahre alt und gelten als ausgewachsen. Wie aber aus den noch offenen Wachstumsfugen am distalen Femur und proximalen Tibiaenden geschlossen werden kann (s. lichtmikroskopische Befunde), waren die Tiere noch nicht 3 Jahre alt, da die Epiphysenfugen ab diesem Zeitpunkt verknöchert sind.

Die Operation erfolgte unter sterilen Kautelen in Intubationsnarkose mit Pentothal, Lachgas, Sauerstoff und Fluothan. Nach Eröffnung des Kniegelenkes an der medialen Seite wurde die Patella nach lateral luxiert. Als „spezielle“ Instrumente für die Gewinnung der Knorpeltransplantate und die Vorbereitung des Transplantatbettes wurden ein Schaber, ein Hohlmeißel und eine Rundstanze (Innendurchmesser 6 mm) verwendet, die für diesen Zweck etwas umgeschliffen worden waren. Mit der Rundstanze wurde ein Knorpelareal entweder an der Patellagleitfläche des medialen Femurcondylus (unbelastete Zone) oder nach Meniscektomie am medialen Tibiaplateau (belastete Zone) oder an beiden Stellen angezeichnet. Diese Areale wurden mit dem Hohlmeißel exakt entknorpelt und dabei darauf geachtet, daß möglichst keine Blutung aus dem subchondralen Gewebe auftrat. Von Spendertieren (bei fremden Versuchen oder eigenen Nachuntersuchungen getötete Tiere sowie vice versa als Spender und Empfänger dienende Tiere) wurde an korrespondierenden Stellen mit dem Schaber eine Knorpelplatte an der Knorpel-Knochen-Grenze entnommen und mit der Rundstanze exakt dem Knorpeldefekt des Empfängertieres angepaßt.

Die reinen Gelenkknorpeltransplantate wurden

A. bei 10 Tieren mit einem Zyanoacrylatkleber (Histoacryl, Fa. Braun, Melsungen) in den Defekt eingeklebt;

B. bei 10 Tieren mit heterologem Fibrinogen (Kaninchen oder Mensch, Fa. Immuno, Wien) wie von Matras et al. angegeben und von Spängler et al. modifiziert eingeklebt und das Kniegelenk mit einer AO-Platte in Funktionsstellung für 2 bis 3 Wochen ruhiggestellt;

C. bei 10 Tieren wurde das Transplantat mit demselben Fibrinkleber eingeklebt und auf eine postoperative Ruhigstellung verzichtet.

Nach der Wundheilung wurden die Schafe auf das Hochschulgut der Veterinärmedizinischen Universität Wien gebracht, wo sie die Zeit bis zur Nachuntersuchung ohne spezielle Behandlung und Pflege verbrachten. Ein Teil der Tiere erhielt zur Markierung der Knochenneubildungsvorgänge mehrmals 25 mg/kg Körpergewicht Tetrazyklin (Terravenös, Fa. Pfizer) intravenös verabreicht.

Die Nachuntersuchung erfolgte nach 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 und 28 Wochen. Nach Tötung der Tiere wurden die Transplantationsareale makroskopisch beurteilt, dann entnommen und in 40%igem Alkohol fixiert. Nach dem von Schenk angegebenen Verfahren angefertigte und gefärbte unentkalkte Hartmikrotomschnitte wurden lichtmikroskopisch und zugleich hergestellte Dünnschliffe auch fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Bei der Gruppe C wurden Proben aus den Transplantationsarealen auch für eine elektronenmikroskopische Untersuchung entnommen.

Ergebnisse

1. Makroskopische Befunde

In der Gruppe A verstarb 1 Tier intraoperativ, 1 Tier wurde wegen eines Pyarthros aus der Bewertung genommen. Von den restlichen Tieren zeigten nur 2 makroskopisch befriedigende Resultate: 12 bzw. 20 Wochen nach der Verpflanzung waren die Transplantationsareale retropatellar und/oder im Tibiaplateau nicht oder nur geringfügig eingesunken und nicht von Bindegewebe überwachsen. In 5 Fällen fanden sich 2 bis 24 Wochen nach der Transplantation leere Transplantatbetten vor. In den restlichen 3 Fällen waren die Transplantate überwachsen und vor allem Verwachsungen zwischen Femur und Patella entstanden. Der umgebende Knorpel zeigte mehr oder weniger ausgeprägte Degenerationserscheinungen.

In der Gruppe B konnten ebenfalls 1 Tier wegen eines Narkosezwischenfalles und 1 Tier wegen einer Infektion nach der Plattenentfernung nicht gewertet werden. Von den restlichen 8 Tieren erbrachten 2 ein positives Ergebnis, bei den übrigen waren die Transplantationsareale schon nach 2 Wochen von zarten Binde-

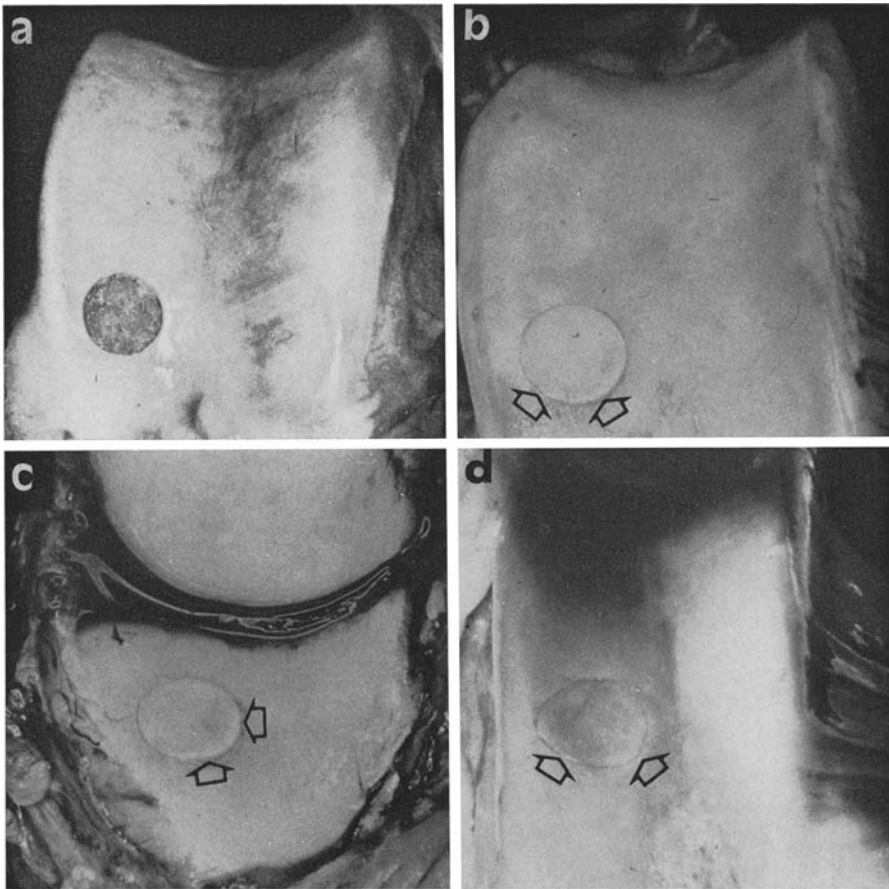


Abb. 1 a. Transplantationsbett an der Patellagleitfläche des Femurs makroskopisch ohne Eröffnung subchondraler Gefäßräume. **b.** Eingeklebtes Transplantat. **c.** Transplantat im Tibiaplateau nach 8 Wochen. **d.** Eingeheltes Transplantat nach 16 Wochen

gewebshäuten überwachsen. Diese Verwachsungen lösten sich offensichtlich nach der Remobilisierung und einem klinisch unauffälligen Gangbild der Tiere nicht mehr, denn sie fanden sich auch noch 28 Wochen nach der Transplantation. Die Transplantate selbst schienen mehr oder weniger vollständig aufgelöst, der übrige Gelenkknorpel war stets schwer degenerativ verändert.

In der Gruppe C konnten alle 10 Tiere gewertet werden. Zweimal war das Ergebnis negativ: einmal war das Transplantat abgelöst und fand sich als freier Gelenkskörper, einmal mußte infolge einer Patellareluxation nachoperiert werden, und in der Folge kam es zu Verwachsungen und zur Resorption des Transplantates. Bei den restlichen Tieren waren nach 2 und 8 Wochen die Grenzen des Transplantates noch deutlich zu erkennen, während bis zu 28 Wochen nach der Transplantation die eingepflanzten Knorpelscheibchen eingeheltes erschienen. In 2 von diesen Fällen waren die Transplantate geringfügig eingesunken und hatten eine runzelige Oberfläche (Abb. 1).

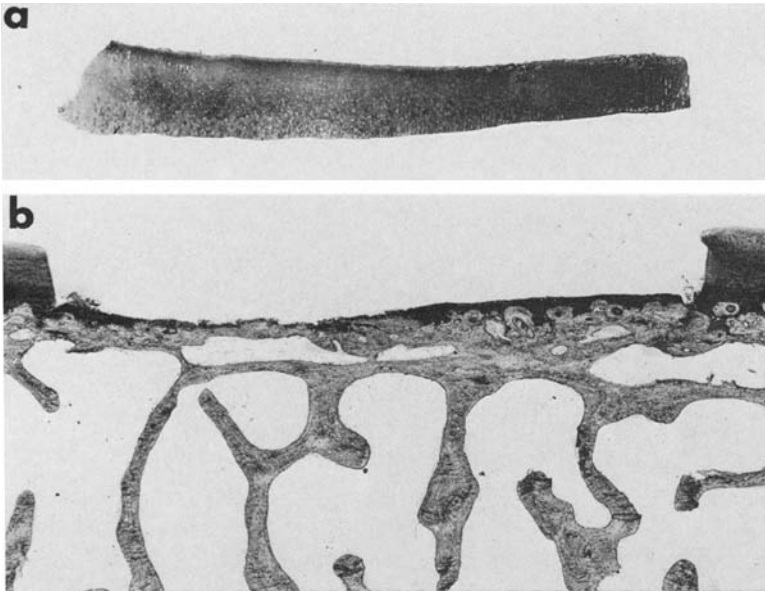


Abb. 2 a u. b. Vorbereitetes, reines Gelenkknorpeltransplantat **a.** und Transplantatbett **b.** Färbung: Toluidinblau. Vergrößerung: 25fach. Die Knorpelplatte ist frei von verkalktem Knorpelgewebe an der Basis. Am Boden des Bettes sind Reste der verkalkten Knorpelschicht zu erkennen

2. Lichtmikroskopische Befunde

Die Untersuchungen von vorbereiteten Transplantaten und Transplantatbetten ergaben, daß das Abheben der Knorpelplatten in allen Fällen ziemlich exakt in der Verkalkungszone des Gelenkknorpels erfolgt war. Die Transplantate wiesen dementsprechend an ihrer Basis nur geringe oder keine Reste verkalkten Knorpelgewebes auf (Abb. 2a). Während im retropatellaren Bereich das vorbereitete Bett meist eine glatte Bodenfläche besaß (Abb. 2b), die in einzelnen Fällen allerdings Gefäß- und Markräume in der subchondralen Knochenschicht eröffnete, war der Boden des Bettes im Tibiaplateau stets buckelig; die dicke subchondrale Knochenschicht jedoch immer intakt. Allerdings waren manchmal auch Inseln von basalem Knorpelgewebe stehengeblieben, vor allem in den Randzonen (Abb. 3).

Bei den Transplantationsarealen wurden lichtmikroskopisch die Vitalität des Transplantates sowie Veränderungen an Zellen, Matrix und Oberfläche beurteilt, weiters die Verkalkungs- und Verknöcherungsvorgänge an der Basis, die Verbindung mit dem Gelenkknorpel des Transplantatbettes und schließlich der Zustand desselben in der Umgebung der Transplantationsareale.

Nach 2 Wochen Verweildauer unterschieden sich die makroskopisch positiv beurteilten Transplantate weder bezüglich ihres Zellgehaltes noch der Struktur ihrer Matrix und des histochemischen Verhaltens der Polysaccharide von dem umgebenden Gelenkknorpel. Sowohl im retropatellaren Bereich als auch im Tibiaplateau fand sich unterhalb der Transplantate ein gefäßreiches Bindegewebe, in

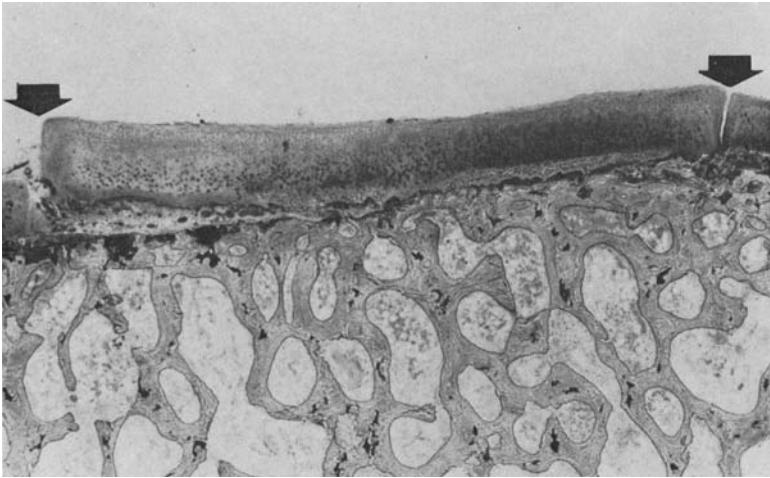


Abb. 3. Transplantationsareal, 2 Wochen nach der Transplantation. Färbung: Toluidinblau. Vergrößerung: 25fach. Das Transplantat ist auf der linken Seite nicht optimal eingepaßt, da Knorpelreste am Bettrand stehengeblieben sind

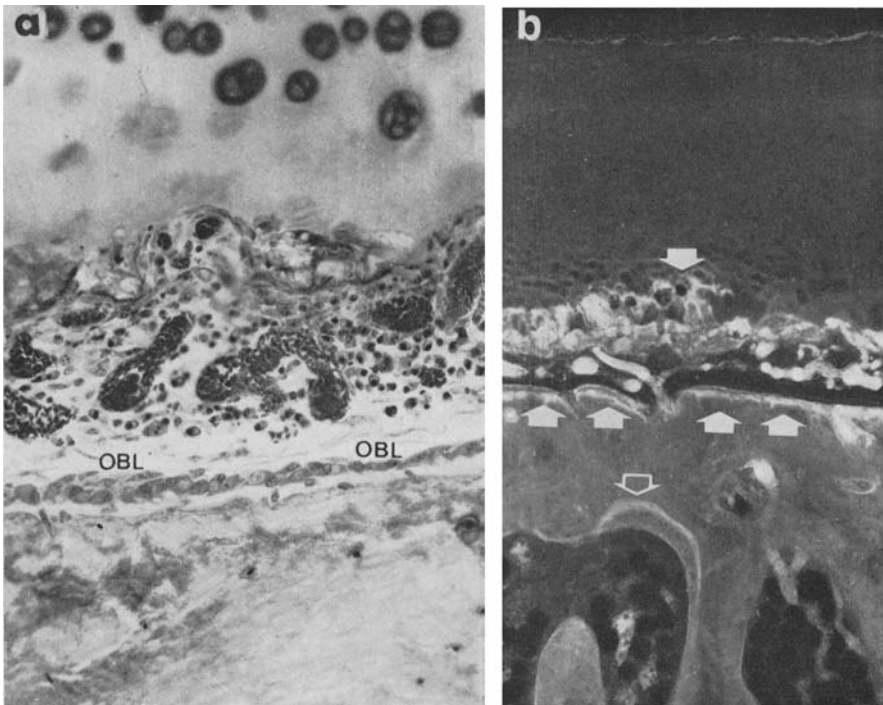


Abb. 4 a. Ausschnitt aus der Abbildung 3. Färbung: Toluidinblau. Vergrößerung: 170fach. An der Basis des verpflanzten Knorpelstückes liegt ein gefäßreiches Bindegewebe mit eingelagerten Plasmazellen und lymphoiden Zellen. An der Oberfläche des Knochengewebes des Lagers eine Anbauzone mit Osteoblasten (*OBL*). **b.** Korrespondierender Schliff zu dem Schnitt in Abbildung 3. Tetrazyklinfluoreszenz. Vergrößerung: 100fach. Tetrazyklinmarkierte Anbauzonen an der Oberfläche (Pfeile) des Lagerknochengewebes. Ebenso Tetrazyklinmarkierung der basalen Knorpelschicht

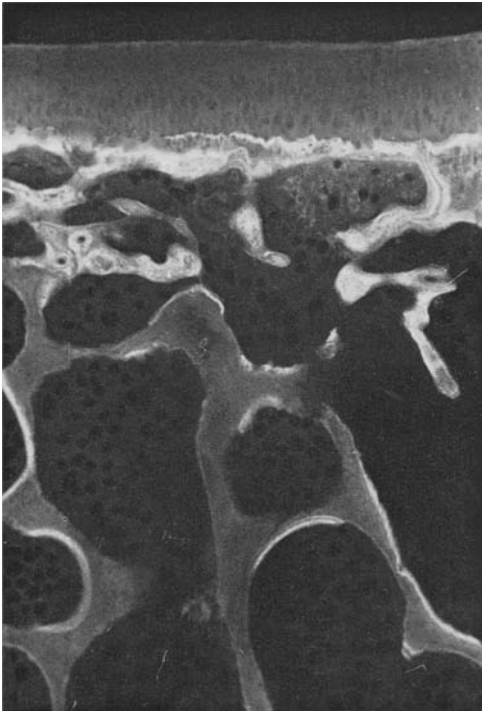


Abb. 5. Transplantationsareal, 4 Wochen nach Transplantation. Schliff; Tetrazyklinfluoreszenz. Vergrößerung: 25fach. Unterhalb des verpflanzten Knorpelstückes findet sich diffus tetrazyklinmarkiertes, neugebildetes Knochengewebe

dem reichlich lymphoide Rundzellen und Plasmazellen nachweisbar waren (Abb. 4a). Zwischen dem Transplantat und dem Gelenkknorpel des Bettes bestand in einem Teil der Fälle nur ein etwa 10—30 μ breiter Spalt, während beim anderen Teil Niveauunterschiede und breitere Spalten gefunden wurden, in denen sich ebenfalls Bindegewebe befand. Fluoreszenzmikroskopisch konnte eine Tetrazyklinmarkierung sowohl in den basalen Knorpelschichten der Transplantate als auch an der Oberfläche des knöchernen Bettes nachgewiesen werden (Abb. 4b). In Dünnschnitten waren entsprechend Knochenanbauzonen mit osteoblastenbedeckten Osteoidsäumen zu sehen.

Nach 4 Wochen war bereits stellenweise eine neugebildete knöcherne Vereinigung der Basis des Transplantates mit dem Knochengewebe des Bettes zu erkennen (Abb. 5). Die mehrmalige Tetrazyklinmarkierung hinterließ auch gelb-fluoreszierende Linien in den basalen Schichten des transplantierten und des umgebenden Gelenkknorpels. Der transplantierte Knorpel erschien im Vergleich unverändert. Am Rand des Bettes und des Transplantates fanden sich charakteristische, kugelförmige Knorpelzellgruppen. In 1 Fall wurde neben der nur mehr spärlichen Rundzellinfiltration unterhalb des Transplantates ein regelrechter Lymphfollikel mit Reaktionszentrum in den subchondralen Markräumen beobachtet, die normalerweise vorwiegend Fettmark enthalten.

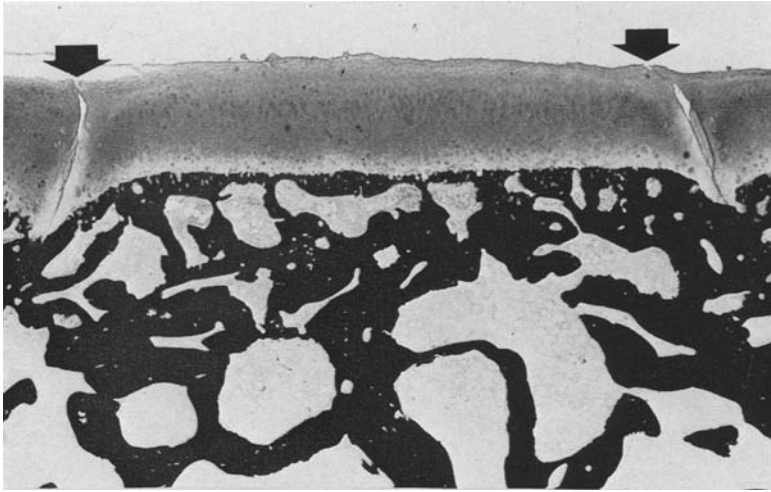


Abb. 6. Transplantationsareal, 16 Wochen nach der Transplantation. Färbung: modifizierter Kalknachweis nach Kruttsay, Methylgrün-Pyronin. Vergrößerung: 25fach. An der Basis des transplantierten Knorpels hat sich eine durchgehende Verkalkungszone und eine knöcherne Vereinigung mit Lagerknochengewebe gebildet

Bis 12 Wochen nach der Transplantation hatte sich in allen positiven Fällen wieder eine durchgehend verknöcherte subchondrale Verbindung ausgebildet, die in den meisten Fällen im selben Niveau verlief wie die subchondrale Knochen-schicht des präexistenten Gelenkknorpels (Abb. 6). In 1 Fall erschien der transplantierte Gelenkknorpel allerdings dünner und die Verknöcherung im Transplantatbereich daher oberflächennäher, in anderen Fällen wurden Wucherungen des Knorpelgewebes in tiefere Schichten der subchondralen Spongiosa beobachtet. Während in den Fällen, in denen mit Fibrinogen geklebt worden war, keine cellu-läre Reaktion mehr gesehen wurde, fanden sich Reste des Zyanoacrylatklebers als von Fremdkörpergranulationsgewebe umgebene Klumpen in der subchondralen Knochen-schicht. Das transplantierte Knorpelgewebe selbst verhielt sich zum um-gebenden Knorpel in zweierlei Weise: entweder war der Spalt zwischen beiden noch zu erkennen, und beiderseits fanden sich die schon beschriebenen Knorpel-zellgruppen (Abb. 7 a); oder es war eine ungeordnete Zellvermehrung und ein Hervortreten der Faserstrukturen in den Transplantaten zu beobachten. In diesen Fällen war es stets zu einem nahtlosen Verschmelzen zwischen den Knorpel-platten des Transplantates und des Bettes gekommen (Abb. 7 b). Polarisationsoptisch lie-ßen sich kontinuierliche Kollagenfaserzüge darstellen.

Bis zu einer Verweildauer von 28 Wochen konnten Resultate beobachtet wer-den, die mit den bisher beschriebenen übereinstimmten. Makroskopisch etwas ein-gesunkene und runzelige Transplantate erwiesen sich lichtmikroskopisch als vital, zeigten aber wiederum eine Zellvermehrung und eine Degradation der Knorpel-grundsubstanz. Histochemisch ließen sich auch um die Knorpelzellen in den ba-salen Schichten der Transplantate saure Mucopolysaccharidverbindungen darstel-len.

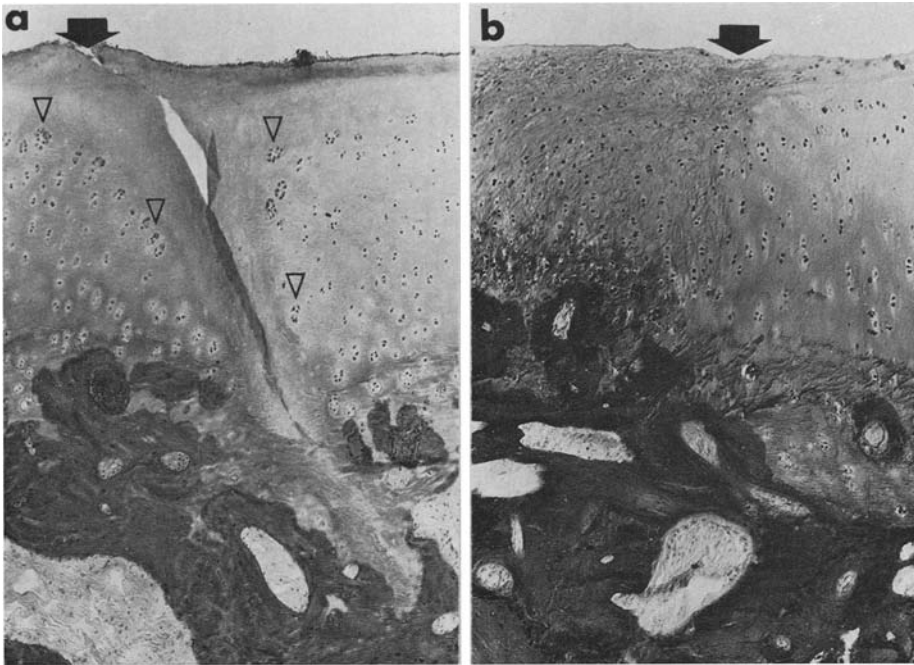


Abb. 7 a. Rechte Randzone des Transplantates aus Abbildung 6. Färbung: Trichrom-Goldner. Vergrößerung: 50fach. Transplantat- (links) und Lagerknorpel (rechts) liegen nur dicht aneinander. In beiden Randzonen Knorpelzell-Cluster (▽). **b.** Randzone eines Transplantates, 28 Wochen nach der Transplantation. Färbung: Trichrom-Goldner. Vergrößerung: 50fach. Transplantat- (links) und Lagerknorpel (rechts) scheinen nahtlos verschmolzen. Zu beachten ist die Zell- und Faserstruktur im Transplantat

Bei den negativen Resultaten waren zwei Formen zu unterscheiden: 11111111

1. Die eine zeigte nach dem Ablösen des Transplantates eine Knochenwunde mit Knochenneubildung und war gefüllt mit reparativem Granulationsgewebe, in dem sich in den Fällen der Gruppe A Reste des Zyanoacrylatklebers fanden. Nach 12—16 Wochen waren in diesem Granulationsgewebe stellenweise vermehrt saure Polysaccharidverbindungen und knorpelähnliche Zellen nachweisbar.

2. Bei der anderen Form überdeckte das Granulationsgewebe auch die noch in situ befindlichen Transplantate und füllte die meist sehr breiten Spalträume zwischen dem umgebenden Knorpelgewebe. In den Transplantaten waren zellfreie Areale mit nur blaß anfärbbarer Grundsubstanz neben Gefäßeinsprossungen zu sehen, die entweder von basal her oder von der überdeckenden Gewebsschicht eingedrungen waren. Der das Transplantat umgebende Gelenkknorpel zeigte ebenfalls Degenerationserscheinungen und Resorption durch Gefäßinvasion sowie einen Überzug aus Granulationsgewebe.

3. Elektronenmikroskopische Befunde

Die nur bei den erfolgreichen Transplantationen der Gruppe C durchgeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen bestätigten die lichtmikroskopischen

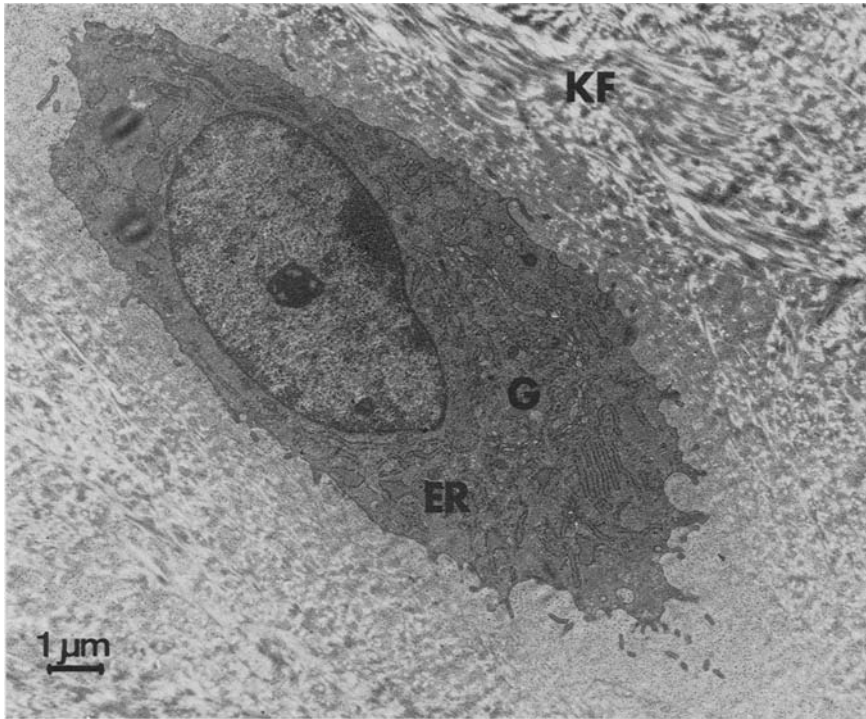


Abb. 8. Knorpelzelle aus dem Transplantat nach 28 Wochen (aus Abbildung 7b). Kontrastierung: Uranylacetat-Bleicitrat. Vergrößerung: 7500fach. Ergastoplasma (*ER*) und Golgifeld (*G*) sind wohl entwickelt, doch sind die Kollagenfibrillen (*KF*) in der Matrix deutlich sichtbar

Ergebnisse. Im Vergleich mit den Knorpelzellen des Transplantatbettes waren die Zellen im Transplantat nicht wesentlich verändert. In der Matrix waren in Fällen, die lichtmikroskopisch ein Hervortreten der Faserstrukturen gezeigt hatten, die Kollagenfibrillen ebenfalls deutlich sichtbar (Abb. 8). Hierzu ist jedoch zu bemerken, daß auch im Gelenkknorpel des Tibiaplateaus neben den Transplantationsarealen sowie in aus nicht operierten Gelenken entnommenen Proben dieses Bereiches verstärkte Fibrillenstrukturen beobachtet werden konnten.

Diskussion

Die negativen Erfahrungen anderer Autoren mit der isolierten Gelenkknorpeltransplantation können durch die allgemein angenommene fehlende Einheilung reiner Gelenkknorpeltransplantate allein nicht befriedigend erklärt werden, da neuere Erkenntnisse der Knorpelbiologie gerade dieses Gewebe als besonders geeignet für eine Verpflanzung erscheinen lassen. Das hyaline Knorpelgewebe wird nach Wachstumsabschluß hauptsächlich von der Synovia her ernährt und scheint vom subchondralen Gefäßanschluß unabhängig zu sein. Daher sollten Ernährungsprobleme als Ursache für Degenerationserscheinungen am transplantierten Knorpel-

pel keine entscheidende Bedeutung haben. Eine immunologische Abstoßung kann nicht angenommen werden, da die Knorpelgrundsubstanz nur gering antigen wirksam ist und die Chondrocyten als Hauptträger antigener Eigenschaften durch die Knorpelmatrix, die wie eine natürliche Diffusionskammer wirkt, gegen celluläre wie humorale Abwehr geschützt sind (Campbell et al.; Chesterman). Eine wirksame immunologische Abwehrreaktion ist vielmehr bei der üblichen Knorpel-Knochen-Transplantation zu erwarten, da homologer Knochen eine wesentlich größere antigene Wirkung aufweist (Burwell et al.; Curtis u. Herndon) und zusätzlich wegen des fehlenden Gefäßanschlusses meist resorbiert werden muß. Die dadurch provozierte Bindegewebsbildung könnte die Resorption des gesamten Transplantates einleiten. Die Gründe für die Ablehnung reiner Knorpeltransplantation müssen daher in der Schwierigkeit der Transplantatentnahme und der mangelnden Fixationsmöglichkeit im Empfängergewebe gesucht werden.

Durch die Entwicklung eines relativ einfachen Instrumentariums konnten wir eine Knorpelentnahme ohne subchondrale Knochenschicht erreichen. Wir sind uns jedoch bewußt, daß diese Technik trotz befriedigender Ergebnisse eine mechanische Schädigung des entnommenen Knorpelgewebes im mikroskopischen Bereich bringt und einer wesentlichen Verfeinerung bedarf, um auch größere Knorpelareale verpflanzen zu können, was in Hinblick auf die Verwendung beim Menschen von entscheidender Bedeutung wäre.

Die angeführte Gruppeneinteilung unserer Versuchsreihe ergab sich aus den zur Zeit bekannten Methoden der Gewebeklebung. Die in Gruppe A angewendete Transplantatfixation mit Zyanoacrylat brachte keine brauchbaren Erfolge, so daß einerseits doch eine Schädigung der basalen Schichten des Transplantates durch den Klebstoff angenommen werden mußte (Kulkari et al.), andererseits durch das an der Basis entstehende Fremdkörpergranulationsgewebe eine regelrechte bindegewebige und in der Folge knöcherne Einheilung hintangehalten wird. Nach eigenen Untersuchungen am Katzenmyokard ist Histoacryl auch nach 10 Wochen in der Menge unverändert nachweisbar und von Fremdkörperbindegewebe umscheidet (Weissenhofer u. Passl). Retrospektiv ist daher die große Anzahl der abgelösten Transplantate bei dieser Klebemethode nicht überraschend. Die Ablösung erfolgte in den überprüften Fällen ziemlich genau zum Zeitpunkt der geringsten Festigkeit der Klebung (Rathert u. Poser) nach 1 Woche. Ähnliche negative Erfahrungen führten zur Entwicklung eines Gewebeklebers auf biologischer Basis (Matras et al.). Da die mechanische Belastbarkeit einer derartigen Klebung und der Einfluß der Gelenksflüssigkeit darauf nicht bekannt war, wurde in Gruppe B das Kniegelenk durch stabiles Osteosynthesematerial ruhiggestellt. In fast allen Fällen kam es dadurch zu trophischen Störungen im Gelenkknorpel und einer Bindegewebsreaktion, deren Ausmaß nach nur 3wöchiger Ruhigstellung unsere Erwartungen weit übertraf. Die Zerstörung war beträchtlicher als die bei anderen Autoren beschriebenen Reaktionen, bedingt durch das Fehlen der wechselnden Druckbelastung des Knorpels und der Synoviumwülzung (Fiala u. Bartos; Salter u. Field; Walcher u. Stürz). Diese Veränderungen im gesamten Kniegelenksbereich waren irreversibel und wiesen trotz erfolgter Remobilisation eine Tendenz zur Verschlechterung auf, was bei Untersuchungen bis zu 28 Wochen nach Transplantation festgestellt werden konnte. Die aus unseren in der Einleitung angeführten theoretischen Überlegungen erwarteten positiven Ergebnisse reiner homologer

Gelenkknorpeltransplantation traten erst in Gruppe C bei Fibrinklebung mit Verzicht auf eine postoperative Ruhigstellung ein.

Daher können wir die derzeit herrschende Meinung, daß reiner Gelenkknorpel zur festen Einheilung eine knöcherne Basis benötigt (Hesse et al.; Otte; Pap u. Krompecher), nicht bestätigen. Die bindegewebige Einheilung und nachfolgende Verknöcherung der Transplantatbasis geht offensichtlich so rasch vor sich, daß die passagere Fixierung mit dem Fibrinkleber genügt, wie wir schon in einer früheren Mitteilung (Passl et al.) betonen konnten. Nach Untersuchungen von Urist u. Adams bilden die tiefen Schichten eines transplantierten Gelenkknorpels Knochen, während bei Transplantation der germinativen Oberfläche fibröses Bindegewebe entsteht. Auf diese Weise könnten auch unsere Ergebnisse erklärt werden. Da die knöcherne Einheilung nur über eine enchondrale Knochenneubildung erfolgen kann und der Transplantatknorpel in der überwiegenden Anzahl der Fälle in gleicher Dicke erhalten blieb, scheint bestätigt, daß der Knorpel zur Basis hin wächst (Otte). Inwieweit dies von den noch offenen Epiphysenfugen abhängig ist, läßt sich aus den bisherigen Versuchen nicht beurteilen. Benum berichtete über annähernd vergleichbare Ergebnisse nach Verpflanzung von autologen apophysären Knorpel-Knochen-Transplantaten mit noch aktiver Wachstumszone.

Bei einigen Präparaten konnte lichtmikroskopisch eine bei der Bettpräparation entstandene Eröffnung von subchondralen Markräumen gesehen werden. Wir halten dies für eine knöcherne Einheilung jedoch nicht notwendig, da diese auch dann stattfand (zum Beispiel am Tibiaplateau), wenn die Eröffnung von Gefäßräumen nicht eingetreten war. Da wir nach erfolgloser Transplantation ähnliche Beobachtungen machen konnten wie Calandruccio u. Gilmer, die eine Störung der Knorpelregeneration durch überschießendes Bindegewebswachstum von der Basis eines bis in die Subchondralregion reichenden Knorpeldefektes fanden, war die Eröffnung subchondraler Gefäßräume von uns a priori nicht erwünscht. Bei exakter Einpassung des Transplantates konnten wir jedoch auch nach Eröffnung des subchondralen Knochens ein aggressives Bindegewebswachstums nie sehen.

Die Klebung mit hochkonzentriertem heterologen Fibrinogen kann eine celluläre Immunreaktion hervorrufen (Braun et al.), was in unseren Präparaten bis zu 6 Wochen nach Transplantation nachweisbar war. Da bei der Klebung mit Zyanoacrylat Plasmazellansammlungen an der Basis des Transplantates fehlten, kann dies nicht auf die Implantation homologen Knorpelgewebes zurückzuführen sein. Eine Schädigung des Transplantates durch diese Vorgänge erachten wir aber für unwahrscheinlicher als die von Lack u. Rogers beschriebene Plasminwirkung, die nach erfolgter Klebung eintreten könnte, wenn sie nicht durch den natürlichen Antiplasmingehalt der Synovialflüssigkeit bzw. durch Verabreichung eines Proteinaseinhibitors abgeblockt werden kann.

Bei unserer Versuchsreihe konnten wir die von Hesse et al. gefundene Differenz zwischen licht- und elektronenoptischen Befunden nicht bestätigt bekommen. Unsere lichtmikroskopischen Ergebnisse stimmten in bezug auf die Vitalität der Knorpelzellen und der vermehrten Faserstruktur der Grundsubstanz voll mit den im Elektronenmikroskop erhobenen Befunden überein. Fest eingehelter Knorpel zeigt sich auch nach 7 Monaten noch vital, obwohl gewisse Degenerationserscheinungen nicht zu übersehen sind. Unsere günstigen Ergebnisse bei homologer Knorpeltransplantation führen wir nicht nur auf die Vermeidung der Konservie-

rung, sondern vor allem auch auf die fehlende Mitverpflanzung von homologem Knochengewebe zurück.

Als Hauptergebnis unserer Untersuchungen betrachten wir aber den Nachweis, daß eine knöcherne Einheilung hyaliner Knorpelstücke auch ohne subchondrale Knochenschicht möglich ist, wenn eine exakte Transplantateinpassung erzielt werden kann und die Fixierung passager mit einem biologischen Kleber erfolgt.

Literatur

- Beneke, G., Deutsche, N.: Frühveränderungen in der proximalen Femurepiphyse nach experimenteller Blutkreislaufstörung. *Virchows Arch. Abt. A path. Anat.* **344**, 125 (1968)
- Benum, P.: Autogenous transplantation of apophysal cartilage to osteochondral defects of joints. *Acta orthop. scand., Suppl.* **156** (1974)
- Bert, P.: Sur la greffe animal. *C.R. Acad. Sci. (Paris)* **61**, 587 (1865)
- Bürkle de la Camp, H.: Die Untersuchungsbefunde von zwei homioplastisch verpflanzten Kniegelenken. *Zbl. Chir.* **57**, 1243 (1930)
- Braun, F., Holle, J., Knapp, W., Kovac, W., Passl, R., Spängler, H. P.: Immunologische und histologische Untersuchungen bei der Gewebeklebung mit heterologem, hochkonzentriertem Fibrinogen. *Wien. klin. Wschr.* **87** (24), 815 (1975)
- Burwell, R. G.: The fate of bone grafts. *Rec. Adv. Orthop.* **115** (1969)
- Burwell, R. G., Gowland, G., Dexter, F.: Studies in the transplantation of bone. VI. Further observations concerning the antigenicity of homologous cortical and cancellous bone. *J. Bone Jt Surg.* **45-B**, 597 (1963)
- Calandruccio, R. A., Gilmer, W. S.: Proliferation, regeneration and repair of articular cartilage of immature animals. *J. Bone Jt Surg.* **44-A**, 431 (1962)
- Campbell, C. J., Ishida, H., Takahashi, H., Kelly, F.: The transplantation of articular cartilage. *J. Bone Jt Surg.* **45-A**, 1579 (1963)
- Chesterman, J. P.: Cartilage as a homograft. *J. Bone Jt Surg.* **50-B**, 878 (1968)
- Chesterman, P. J., Smith, A. U.: Homotransplantation of articular cartilage and isolated chondrocytes. *J. Bone Jt Surg.* **50-B**, 184 (1968)
- Cotta, H.: Praearthrose und praearthrotische Deformität. *Z. Orthop.* **112**, 8 (1974)
- Curtiss, P. H., Jr., Herndon, C. H.: Immunological factors in homogenous bone transplantation. I. Serological studies. *J. Bone Jt Surg.* **38-A**, 103 (1956)
- Ehalt, W.: Gelenkknorpelplastiken. *Arch. orthop. Unfall-Chir.* **63**, 213 (1968)
- Fiala, O., Bartos, F.: Traumatic pannus. *Acta orthop. scand.* **44**, 194 (1973)
- Fiala, O., Herout, V.: Experimentelle homologe Transplantation von Gelenkteilen und ganzer Gelenke. *Z. Orthop.* **110**, 691 (1972)
- Ghadially, F. N., Fuller, J. A., Kirkaldy-Willis, W.: Ultrastructure of full-thickness defects in articular cartilage. *Arch. Path.* **92**, 356 (1971)
- Hellinger, J., Siegling, C. W., Brauckhoff, K. F., Schramm, G.: Vitale autologe und homologe Halbgelenkstransplantation im Tierexperiment. *Beitr. Orthop.* **21** (1974)
- Hepp, W. R.: Experimentelle Untersuchungen über die Transplantation von Gelenkknorpel. *Inauguraldiss., Med. Fak. Münster* 1965
- Herndon, C. H., Chase, S. W.: Experimental studies in transplantation of whole joints. *J. Bone Jt Surg.* **34-A**, 564 (1952)
- Herron, M. R., Harris, B.: Partial joint transplantation in the dog. *Transplant. Proc.* **VII**, 417 (1975)
- Hesse, W., Hesse, I., Zech, G.: Regressive und reparative Vorgänge nach experimenteller Transplantation von homologem Gelenkknorpel. *Arch. orthop. Unfall-Chir.* **81**, 89 (1975)
- Imamaliyev, A. S.: The preparation, preservation and transplantation of articular bone ends. *Rec. Adv. Orthop.* **209** (1969)
- Judet, H.: La greffe des articulations. *Rev. Chir.* **XL**, 1 (1909)
- Kulkari, R. K., Hanks, G. A., Pani, K. C., Leonard, F.: The in vivo metabolic degradation of poly (methyl cyanoacrylat) via thiocyanat. *J. biomed. Mater. Res.* **1**, 11 (1967)

- Lack, C. M., Rogers, H. J.: Action of plasmin on cartilage. *Nature (Lond.)* **182**, 948 (1958)
- Lempert, R. K.: Osteochondral grafts in growing rabbits. *Virchows Arch. Abt. A path. Anat.* **357**, 113 (1972)
- Lexer, E.: Joint transplantation and arthroplasty. *Surg. Gynec. Obstet.* **40**, 782 (1925)
- Matras, H., Dinges, H. P., Lassmann, H., Mamoli, B.: Zur nahtlosen interfaszikulären Nerven-
transplantation im Tierexperiment. *Wien. med. Wschr.* **37**, 517 (1972)
- Otte, P.: Über das Wachstum der Gelenkknorpel. Heidelberg: Dr. Alfred Hüthig Verlag 1965
- Otte, P.: Zur Problematik der Regeneration des Gelenkknorpels. *Z. ärztl. Fortbild.* **55** (1966)
- Otte, P.: Die Biologie des Gelenkknorpels im Hinblick auf die Transplantation. *Z. Orthop.* **110**, 677 (1972)
- Pap, K., Krompecher, St.: Arthroplasty of the knee. *J. Bone Jt Surg.* **43-A**, 523 (1961)
- Passl, R., Plenk, H., jr., Radaszkiewicz, T., Sauer, G., Holle, J., Spängler, H. P.: Zum Problem der reinen homologen Gelenkknorpeltransplantation. *Verh. anat. Ges. (Jena)* (im Druck)
- Profitos, T.: Indikation, Verwendung und Technik der Knochenknorpelplastik am Kniegelenk und die Ergebnisse aus 10 Jahren. *M Schr. Unfallheilk.* **67**, 52 (1964)
- Puhl, W., Dustmann, H. O., Quasdorf, U.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Regeneration des Gelenkknorpels. *Arch. orthop. Unfall-Chir.* **74**, 352 (1973)
- Rathert, P., Poser, W.: Gewebeklebstoffe in der Medizin. München: Goldmann Verlag 1972
- Reeves, B.: Orthotopic transplantation of vascularised whole knee joints in dogs. *Lancet* **1969 I**, 500
- Salter, R. B., Field, P.: The effects of continuous compression on living articular cartilage. *J. Bone Jt Surg.* **42-A**, 31 (1960)
- Schenk, R.: Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen. *Acta anat. (Basel)* **60**, 3 (1965)
- Spängler, H. P., Holle, J., Braun, F.: Gewebeklebung mit Fibrin. *Wien. klin. Wschr.* **85**, 827 (1973)
- Störig, E.: Knorpeltransplantation im Tierexperiment und Erfahrungen über ihre klinische Anwendung. *Z. Orthop.* **110**, 685 (1972)
- Urist, M. R., Adams, T.: Cartilage or bone induction by articular cartilage. *J. Bone Jt Surg.* **50-B**, 198 (1968)
- Volkov, M.: Allotransplantation of joints. *J. Bone Jt Surg.* **52-B**, 19 (1970)
- Wagner, H.: Operative Behandlung der Osteochondritis dissecans des Kniegelenkes. *Z. Orthop.* **98**, 333 (1964)
- Walcher, K., Stürz, H.: Weitere Beobachtungen zur Frage der Regenerationsfähigkeit hyalinen Knorpels. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **331**, 1 (1972)
- Weissenhofer, W., Passl, R.: Experimentelle Untersuchungen über die Reaktionen des Herzmuskels auf die Applikation von Histoacryl. *Symp. Kunststoffe in der Chirurgie Innsbruck* 1969

Eingegangen am 7. April 1976