Pathologie 2020 · 41:271–280
<https://doi.org/10.1007/s00292-020-00768-x>
Online publiziert: 25. März 2020
© Der/die Autor(en) 2020

Redaktion

K. W. Schmid, Essen
H. A. Baba, Essen

Christoph Brochhausen^{1,2} · David Grevenstein³ · Andreas Mamilos¹ · Maximilian Babel² · Peer Eysel³

¹ Institut für Pathologie, Universität Regensburg, Regensburg, Deutschland

² Zentrum für Rheumapathologie GmbH, Mainz, Deutschland

³ Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie, Uniklinik Köln, Köln, Deutschland

Histologische Diagnostik in der Gelenkpathologie in Zeiten rekonstruktiver Therapieverfahren – besondere Berücksichtigung der Knorpelschäden

Hintergrund

Die operativen Verfahren der modernen Orthopädie und Unfallchirurgie unterliegen einem raschen Wandel. Die Gründe hierfür liegen im immer wichtiger werdenden Einsatz minimalinvasiver Techniken und in wechselnden Schädigungsmustern bei traumatischen Läsionen, insbesondere in der Sport- und Alterstraumatologie. Außerdem gelangen immer mehr Strategien der Regenerativen Medizin und des Tissue Engineering in die klinische Anwendung. So werden verschiedene Verfahren der autologen Chondrozytentransplantation (ACT), der biomaterialbasierten Osteosyntheseverfahren, der biomaterialbasierten Meniskustransplantation und Verfahren zur Sehnen- und Bandrekonstruktion eingesetzt. Auch der klassische Bereich der Endoprothetik unterliegt einem Wandel mit neuen Materialkonzepten, dem Einsatz von Teilprothesen und minimalinvasiven Techniken. Um der längeren Lebenserwartung und der Möglichkeit zur Mobilität bis ins hohe Alter hinein gerecht zu werden, sind Verfahren zur Prävention von Arthrose in den Fokus der therapeutischen Be-

mühungen gerückt. Traumatische Verletzungen der Gelenkbinnenstrukturen stellen einen wichtigen pathogenetischen Mechanismus für die Arthrose dar [12, 20]. Ein Ziel ist es, mit Tissue Engineering die Gelenkfunktion frühzeitig wiederherzustellen, um die Entwicklung der Arthrose möglichst lange hinauszuzögern und damit die Notwendigkeit einer endoprothetischen Versorgung. In diesem Zusammenhang werden die Gelenkstrukturen als ein holistisches System angesehen, die durch ihr Zusammenwirken die Gelenkfunktion sicherstellen. Daher ist die Beurteilung der verschiedenen anatomischen Strukturen für die Beurteilung der Gelenkfunktion von Bedeutung. Darüber hinaus spielen die Biokompatibilität implantierter Materialien und der Einfluss von Abriebmaterial und Degradationsprodukten auf das umgebende Gewebe eine Rolle.

Aus diesen Gründen ergeben sich neue Anforderungen an die histopathologische Diagnostik. Neben der Beurteilung der Material-Gewebe-Interaktion spielen die der regenerativen Fähigkeit unterschiedlich geschädigter Gewebe und verschiedener Regenerate eine Rolle. Die hieraus notwendigen Modifikationen bestehender und Etablierung neuer histopathologischer Klassifizierungssysteme eröffnen nicht nur eine vertiefte

Zusammenarbeit der Pathologie mit der Orthopädie und Unfallchirurgie in der Routinediagnostik, sondern auch in der Forschung.

Pathologie der Endoprothetik

Der Einsatz von Gelenkendoprothesen bleibt eine häufige Operation in der Orthopädie. Mit insgesamt mehr als 240.000 Endoprotheseneingriffen am Hüft- und Kniegelenk im Jahr 2016 bleibt die untere Extremität die häufigste anatomische Lokalisation für endoprothetische Eingriffe. Bis heute ist die Prothesenlockerung eine klinische Herausforderung, bei deren Abklärung die histopathologische Diagnostik eine wesentliche Rolle spielt. In diesem Zusammenhang ist die Anwendung der Konsensusklassifikation der periprotektischen Membran gelockerter Hüft- und Knieendoprothesen entscheidend. Die Einordnung einer Interfacemembran in die 4 Typen „abriebinduziert“ (Typ I), „infektiös“ (Typ II), „abriebinduziert und infektiös“ (Typ III) sowie in den „Indifferenztyp“ (Typ IV) sind für den Kliniker bedeutend [24]. Eine Revision der Konsensusklassifikation zur Implantatpathologie berücksichtigt darüber hinaus die mit Endoprothesen assoziierte Arthrofibrose sowie partikelinduzierte

C. Brochhausen und D. Grevenstein sind gleichberechtigte Erstautoren.

Abb. 1 ▲ Sphäroidbasierte autologe Chondrozytentransplantation. Die Sphäroide haften durch Adhäsionskräfte am Defektgrund (intraarthroskopischer Befund, a). Die Sphäroide selbst haben eine glatte, runde Oberfläche (Rasterelektronenmikroskopie, b) und bestehen aus zahlreichen runden bis ovalären chondroiden Zellen (c, HE-Färbung, Vergr. 200×)

immunologische, inflammatorische und toxische Effekte [15]. Für die klinische Beurteilung der Performance einer Endoprothese ist die histopathologische Beurteilung auch dieser Parameter von Relevanz. Mit dem vermehrten Einsatz von Endoprothesen in kleinen Gelenken ergibt sich die Frage nach der Übertragbarkeit des Scoringssystems auf entsprechende anatomische Besonderheiten und die nach möglichen prädiktiven Faktoren für die Standzeit bzw. für die Revisionsrate, die insbesondere bei Sprunggelenkendoprothesen deutlich höher ausfällt als bei Knie- und Hüftendoprothesen. So konnten beim Prothesenversagen des oberen Sprunggelenkes überdurchschnittlich häufig pseudozystische Läsionen gefunden werden [25]. Bei der prothetischen Versorgung von Fingergelenken erscheint die Komplikationsrate hoch, obwohl klinisch gute Ergebnisse erzielt werden [30].

Hinsichtlich der Revisionsendoprothetik macht eine aktuelle Metaanalyse auf den möglichen Nutzen der intraoperativen Schnellschnittuntersuchung bei der Unterscheidung zwischen einer infektiösen und einer nichtinfektiösen Prothesenlockerung aufmerksam, wobei der Grenzwert der Anzahl an neutrophilen Granulozyten in den Studien variiert [31]. In diesem Zusammenhang sollten zukünftige Analysen den Nutzen dieser Untersuchung im klinischen Kontext weiter analysieren, insbesondere hinsichtlich der Quantifizierung von Granulozyten unter Schnellschnitt-

bedingungen und die Methode ihrer Quantifizierung.

Pathologie der Gelenkbinnenstrukturen

Heute gilt als gesichert, dass traumatische oder degenerative Schäden an den Gelenkbinnenstrukturen relevante Faktoren für die Entstehung einer Arthrose darstellen. Insbesondere nach Schäden des vorderen Kreuzbandes und der Menisken konnte der pro-arthrotische Effekt in klinischen Untersuchungen belegt werden [10]. Daraus leitet sich die Prämisse ab, dass der Erhalt der Menisken und der Kreuzbänder relevante Parameter für den Knorpelerhalt darstellen [12]. Rekonstruktive Therapien nach Meniskusschäden und nach Bandläsionen erhalten vor allem bei jungen Patienten wachsende Bedeutung. Aus den neuen Ansätzen der rekonstruktiven bzw. regenerativen Verfahren leiten sich neue Anforderungen an die pathologische Diagnostik ab.

Die klassische Beurteilung degenerativer bzw. traumatischer Läsionen von Menisken und Bändern bleiben vor allem aus versicherungsmedizinischer Sicht aktuell [11, 14]. Für Bänder und Sehnen existieren aktuell keine breit angewendeten histopathologischen Scores mit Blick auf traumatische, degenerative und regenerative Veränderungen. Insbesondere für die histopathologische Beurteilung reparativer und degenerativer Veränderungen von Sehnen macht eine aktuelle Metaanalyse deutlich, dass unterschiedli-

che histologische Scores existieren, diese aber nicht ausreichend für den Gebrauch in der histopathologischen Diagnostik validiert sind [19]. Dies wäre nicht nur für die gutachterliche Bearbeitung hilfreich, sondern auch für die Optimierung rekonstruktiver bzw. reparativer Therapieansätze.

Insbesondere aufgrund der versicherungsmedizinischen Begutachtung von Gelenkbinnenschäden ist seitens der Klinik eine langfristige Archivierung von entsprechendem Schnitt- und Paraffinmaterial wünschenswert, welche über die Dokumentationspflicht hinausreichen. Hier wäre entweder eine Langzeitar Archivierung des Untersuchungsmaterials oder aber eine digitale Archivierung der Schnittpräparate mittels „whole slide imaging“ sinnvoll, um auch nach längeren Zeiträumen die histopathologischen Veränderungen vor dem aktuellen klinischen Kontext und der gutachterlichen Fragestellung neu bewerten zu können.

Eine zentrale Struktur der Gelenke stellt die Synovialis dar, welche nicht nur bei unterschiedlichsten Schädigungsmustern der Gelenkbinnenstrukturen eine Reaktion zeigt, sondern auch wesentlich in die Pathophysiologie der Arthritis involviert ist [33]. Für die Beurteilung der entzündlichen Veränderungen und zur Abgrenzung einer rheumatoiden Arthritis wird ein Score in der pathologischen Diagnostik angewendet. Dessen Autoren weisen zu Recht darauf hin, dass einerseits durch neue Therapeutika, insbesondere durch Biologika, das bekannte Reaktionsmus-

ter der Synovialis relevant modifiziert wird und dass andererseits moderne Therapeutika neue Reaktionsmuster der Synovialis induzieren können [16]. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass nicht nur neue Therapeutika das Reaktionsmuster der Synovialmembran modifizieren können und damit unter Umständen einer Neubewertung angewandter Scores bedürfen, sondern dass auch relativ neu beschriebene Entitäten, wie zum Beispiel das sog. Medial-Shelf-Syndrom, zu charakteristischen Veränderungen in der Synovialmembran führen, die vom klassischen Schädigungsmuster der Synovialmembran unterschieden werden müssen [7].

Pathologie der rekonstruktiven und regenerativen Verfahren mittels Tissue Engineering

Beim Tissue Engineering werden in einem interdisziplinären Ansatz aus Medizin, den Lebens- und Materialwissenschaften innovative Therapieansätze für die Behandlung kritischer Gewebedefekte nach Traumata, Gewebedegeneration oder Tumorresektionen entwickelt [4]. Dabei werden Materialien oder Material-Zell-Konstrukte mit dem Ziel implantiert, das körpereigene Zellen nach In-vitro-Expansion und Implantation zu funktionsfähigem Gewebe ausreifen, dass ortsständige Zellen stimuliert werden in das Implantat areal einzuwandern, um so eine gute Integration zu ermöglichen, und schließlich dass ein Langzeiterhalt des Implantates gewährleistet wird.

Knorpelchirurgie

In der interventionellen Orthopädie und Unfallchirurgie erlangen regenerative Therapieansätze immer größere Bedeutung. Im Vordergrund stehen hier Therapien zur Regeneration von Knorpel- und Knochengewebe.

Die autologe Chondrozytentransplantation stellt eine tissue-engineering-basierte Behandlungsmethode dar. In einem arthroskopischen Eingriff wird eine geringe Menge gesunden Knorpelgewebes aus einer wenig belasteten Knorpelregion entnommen. In einem spezia-

Pathologe 2020 · 41:271–280 <https://doi.org/10.1007/s00292-020-00768-x>
© Der/die Autor(en) 2020

C. Brochhausen · D. Grevenstein · A. Mamilos · M. Babel · P. Eysel

Histologische Diagnostik in der Gelenkpathologie in Zeiten rekonstruktiver Therapieverfahren – besondere Berücksichtigung der Knorpelschäden

Zusammenfassung

Die operative Orthopädie und Unfallchirurgie durchläuft aktuell einen deutlichen Wandel mit Blick auf die interventionellen Therapieverfahren, insbesondere in der Kniechirurgie. Minimalinvasive Techniken und rekonstruktive Verfahren verschieben nicht nur das Spektrum operativer Verfahren, sondern auch das der Fragestellungen an die histopathologische Diagnostik. Neben den klassischen Fragestellungen in der Kniechirurgie und der Endoprothetik hinsichtlich traumatischer, degenerativer und infektiöser Läsionen rücken Fragen nach dem Regenerationsgrad und der Integration von Zell-Material-Konstrukten in den Vordergrund. Außerdem gewinnen Fragestellungen bezüglich der regenerativen Fähigkeit eines potenziellen Implantatbettes und der Güte einer Entnahmestelle zur autologen Zellgewinnung an Bedeutung. Es wird deutlich, dass für spezifische

Fragestellungen neue Scoringssysteme in die pathologische Routinediagnostik aufgenommen werden sollten. Am Beispiel der autologen Chondrozytentransplantation wird demonstriert, wie wichtig die histopathologische Beurteilung des Regeneratgewebes für das pathophysiologische Verständnis rekonstruktiver Verfahren in der Kniechirurgie ist. Der vorliegende Beitrag gibt einen Überblick darüber, wie sich aus der raschen Entwicklung regenerativer Therapieverfahren in der Orthopädie und Unfallchirurgie neue Anforderungen an die histopathologische Diagnostik ergeben, erhebt dabei jedoch keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Schlüsselwörter

Endoprothese · Meniskus · Kreuzband · Synovialis · Tissue Engineering · Autologe Chondrozytentransplantation

Histological diagnostics in joint pathology due to increasing regenerative therapeutic strategies – special consideration for cartilage damage

Abstract

Orthopedic and trauma surgery are currently confronted with significant changes in their interventional and therapeutic strategies, especially in knee surgery. Minimally invasive and reconstructive techniques lead not only to modifications of the repertoire of interventional methods but also of the indications and questions for histopathological diagnostics. The classical problems in knee surgery remain important issues, which are traumatic, degenerative, and infectious lesions. In addition, questions regarding regeneration and integration of cell-material constructs will become more and more important in the future. Furthermore, questions regarding the regenerative potential of an implantation site for such constructs and the morphological quality of harvested tissue for the in vitro cell expansion of autologous cells are becoming increasingly important. The autologous chondrocyte transplantation is a good example of the relevance of

the histopathological re-evaluation of the regenerated tissue for a better understanding of the pathophysiology of reconstructive therapies. It becomes clear that for specific aims based on reconstructive therapies, new scoring systems should be established for the histopathological routine diagnostic service. Furthermore, there is need for the definition of further histopathological criteria, which will help to optimize the differential application of reconstructive strategies via tissue engineering. The present report gives a short overview of the modifying requirements on the histopathological diagnostics in specimens from knee-surgery but does not claim to be exhaustive.

Keywords

Endoprosthesis · Meniscus · Crucial ligament · Synovial membrane · Tissue engineering · Autologous chondrocyte transplantation

Tab. 1 Kriterien des ICRS-II-Scores zu Knorpelregeneraten gemäß Mainil-Varlet et al. [21]

Histologische Parameter	Score
Gewebemorphologie (unter Polarisation)	0 %: Einzelnachweis Kollagenfasern 100 %: Normale Knorpel-Doppelbrechung
Matrixfärbung (Metachromasie)	0 %: Keine Färbung 100 %: Volle Metachromasie
Zellmorphologie	0 %: Keine runden/ovalen Zellen 100 %: Vor allem runde/ovale Zellen
Chondrozytencluster (4 oder mehr Zellen)	0 %: Vorhanden 100 %: Nicht vorhanden
Oberflächenarchitektur	0 %: Delaminierung/größere Unregelmäßigkeiten 100 %: Glatte Oberfläche
Basale Integration	0 %: Keine Integration 100 %: Vollständige Integration
Formation einer Tidelinie	0 %: Keine Kalzifikationslinie 100 %: Tidelinie
Subchondraler Knochen/ Markraumfibrose	0 %: Abnormal 100 %: Normales Mark
Entzündung	0 %: Vorhanden 100 %: Nicht vorhanden
Abnormale Kalzifikation/Ossifikation	0 %: Vorhanden 100 %: Nicht vorhanden
Vaskularisierung im Regenerat	0 %: Vorhanden 100 %: Nicht vorhanden
Oberflächenbeschaffenheit	0 %: Verlust oder komplette Zerstörung 100 %: Entspricht normalem Knorpel
Beschaffenheit der mittleren/tiefen Zone	0 %: Fibröses Gewebe 100 %: Normaler hyaliner Knorpel
Gesamtbeurteilung	0 %: Schlecht (fibröses Gewebe) 100 %: Gut (hyaliner Knorpel)

lisierten Labor werden die Zellen isoliert und anschließend abhängig von der Defektgröße in gewünschter Menge innerhalb eines Zeitraumes von 3–6 Wochen expandiert [2, 3]. In einem zweiten Eingriff wird das Transplantat eingesetzt. Heute liegen Transplantate meist als eine mit autologen Zellen besiedelte Biomaterialmembran vor. Alternative Techniken basieren auf Sphäroiden aus kultivierten Chondrozyten und kommen so ohne ein Biomaterial aus (■ Abb. 1).

Diese Verfahren bringen neue Anforderungen an die histopathologische Diagnostik mit sich. Zum einen ist bei Rearthroskopien der Regenerationsgrad und die Gewebequalität entscheidend für ein weiteres klinisches Vorgehen, zum anderen lassen sich durch die histopathologische Beurteilung des Knorpelschadens Rückschlüsse auf die Integrationsfähigkeit des Implantates in das Implantatbett ziehen. Die bildgebende Beurteilung dieser Fragen erscheint problematisch, auch wenn Bewertungen wie der MOCART-

Score für Knorpelregenerate existieren [23]. Obwohl für eine pathologische Diagnostik invasive Untersuchungen notwendig sind, werden hierdurch Informationen über den zellulären und extrazellulären Gewebenaufbau gewonnen, die mit keiner anderen Untersuchungsmethode erreicht werden können. Daher häufen sich Fragestellungen aus der Klinik zur Beurteilung der Regeneratqualität und zum Status des Defektareals [13].

Zur histologischen Beurteilung von Knorpelregeneraten anhand von Knorpel-Knochen-Stanzbiopsien wurde der sog. ICRS-II-Score etabliert, bei dem 14 Variablen semiquantitativ zur Beurteilung der Regeneratqualität anhand einer visuellen Analogskala ausgewertet werden (■ Tab. 1; [21]). Bisher hat dieser Score nach unserer Erfahrung selten Eingang in die klinische Routinediagnostik gefunden, sondern wird vornehmlich für wissenschaftliche Fragestellungen verwendet. Erste Ergebnisse aus histopathologischen Analysen von Biopsien

nach ACT im klinischen Kontext zeigen, dass die häufigste klinische Indikation zur Biopsie aus einem Regenerat die Fragestellung nach einer möglichen Knorpelhypertrophie bzw. Hypertrophie des subchondralen Knochens darstellt [13].

Histopathologische Beurteilung gemäß ICRS-II-Score

Entscheidend für die morphologische und funktionelle Beurteilung von Knorpelregeneraten ist das Ausmaß der Bildung von hyalinem Knorpelgewebe. Dieses wird anhand der Analyse der Gewebezusammensetzung, also dem Gehalt an Kollagenen und nichtfibrillärer Extrazellulärmatrixbestandteile beurteilt. Im ICRS-II-Score wird dies mit den Parametern „Gewebemorphologie“ und „Matrixfärbung“ ermittelt. In der täglichen Praxis kann dies orientierend mittels HE-Färbung und der Alcianblau-Färbung gut beurteilt werden (■ Abb. 2a). Insbesondere eine Narbenbildung kann hierbei gut von der Ausbildung von kartilaginärem Gewebe abgegrenzt werden. Für spezielle Fragestellungen kommt zusätzlich eine immunhistologische Färbung für Kollagen Typ 2 infrage.

Für die Beurteilung der Histogenese ist die Zellmorphologie ein wichtiger Faktor. Der Parameter „Zellmorphologie“ im ICRS-II-Score beschreibt das Ausmaß der Bildung chondroider, also runder oder ovalärer Zellen. In vitro expandierte Chondrozyten, so wie sie für die ACT genutzt werden, neigen zur phänotypischen Dedifferenzierung mit Ausbildung eines fibroblastären Phänotyps. Das Ausmaß an chondroiden Zellen wird als ein Maß für die phänotypische Redifferenzierung angesehen. Ein weiteres Charakteristikum des hyalinen Knorpels ist die Ausbildung von Zellclustern. Hierbei wird die Anzahl von Chondrozytenclustern ermittelt, welche aus mehr als 4 Zellen bestehen.

Für den Erfolg einer ACT ist die basale Integration des Transplantates entscheidend, weswegen auch dieser Parameter für den ICRS-II-Score ermittelt wird. Außerdem wird eine mögliche Reaktion des subchondralen Knochens in Form einer Sklerose oder Markraumfibrose erfasst.

Abb. 2 ◀ Biopsie mit mäßig guter Regeneratqualität nach autologer Chondrozytentransplantation. **a, b** Das Regenerat zeigt eine breite Knorpelschicht mit alcianophiler Extrazellulärmatrix. Vergr. 100x. **c** Die Oberfläche zeigt deutliche Fissuren und das Fehlen einer zellulären Abgrenzung. Vergr. 400x. **d, e** In der mittleren und tiefen Zone sind überwiegend runde bis ovale Zellen erkennbar, die jedoch alle einzeln liegen und keine Zellcluster bilden. Vergr. 400x. **e** In der Zone der basalen Integration zeigt sich eine sich ausbildende Tidelinie und eine gute Integration des Transplantates. Vergr. 400x. **f** Der subchondrale Knochen ist deutlich verdickt. Vergr. 400x

Um das Ausmaß der Ähnlichkeit des Regenerates mit normalem hyalinen Knorpelgewebe einschätzen zu können, werden analog zu den Zonen des hyalinen Gelenkknorpels die Zonen des Regenerates beurteilt. Bei der Oberflächenbeschaffenheit ist von Bedeutung, ob sich eine physiologische Superficialzellschicht aus abgeflachten Chondrozyten ausgebildet hat oder ob keine apikale Zellbegrenzung des Regenerates existiert. Bei der Beurteilung der mittleren Zone wird das Ausmaß der Bildung von hyalinem Knorpel ermittelt. Bei der Beurteilung der basalen Zone ist neben der Integration des Regenerates die Ausbildung einer Tidelinie relevant. Unabhängig von der Lokalisation in der Zone wird eine mögliche Vaskularisierung innerhalb des Regenerates ermittelt. Schließlich wird eine Gesamtbeurteilung

des Regenerates im Hinblick auf die Ausbildung fibrösen Gewebes bzw. hyalinen Knorpels gegeben.

Aus der histopathologischen Diagnostik ist es zunächst ungewohnt, dass bei der Beurteilung nach dem ICRS-II-Score kein synoptischer Wert aus allen Parametern ermittelt wird, der eine zusammenfassende Beurteilung zur Regeneratqualität ergibt. Ein Grund hierfür liegt darin, dass die unterschiedlichen Parameter innerhalb eines Regenerates sehr unterschiedliche Bewertungen und damit klinische Konsequenzen ergeben können, wie 2 Beispiele aus der Praxis aufzeigen:

Ein Beispiel eines Knorpelregenerates nach ACT zeigt **Abb. 2**. In der Übersicht und der Alcianblau-Färbung im Parameter „Gesamtbeurteilung“ ergibt sich eine mäßig gute Qualität mit einem ICRS-II-Score von 70 % (**Abb. 2a, b**). Bei der

Beurteilung der Zellmorphologie ergeben sich fast ausschließlich runde bzw. ovaläre Zellen (ICRS-II-Score 100 %), allerdings werden in der Stanzbiopsie so gut wie keine Zellcluster mit mehr als 4 Zellen gefunden (ICRS-II-Score 0 %). Die Oberflächenarchitektur ist im gesamten Biopsat delaminiert und zeigt Fissuren und Unregelmäßigkeiten. Eine zelluläre Begrenzung durch abgeflachte Zellen liegt nicht vor, sodass die Oberflächenbeschaffenheit ebenfalls einen ICRS-II-Score von 0 % ergibt (**Abb. 2c**). Mittlere und tiefe Zone zeigen ein chondroides Gewebe entsprechend einem ICRS-II-Score von 70 % (**Abb. 2d, e**). Außerdem ist eine sich ausbildende Tidelinie zu erkennen (ICRS-II-Score 80 %, **Abb. 2e**). Die basale Integration ist gut (ICRS-II-Score 100 %, **Abb. 2e**). In keiner Zone wurden abnormale Kalzifikationen oder Ossifikationen

Abb. 3 ◀ Biopsie mit schlechter Regeneratqualität nach autologer Chondrozytentransplantation. **a** Das Regenerat zeigt eine hochaufgebaute Narbe. Vergr. 100x. **b** Die Oberfläche ist allerdings glatt und von einer Schicht flacher Zellen überkleidet. Vergr. 400x. **c** In der mittleren Zone und am Übergang zur Superficialzone sind zahlreiche dünnwandige Blutgefäße erkennbar. Vergr. 400x. **d, e** In der mittleren und tiefen Zone sind überwiegend fibroblastäre Zellen erkennbar. Vergr. 400x. **e** In der Zone der basalen Integration zeigt sich zwar keine Kalzifizierungslinie (Tidelinie), aber eine gute Integration des Transplantates. Vergr. 400x. **f** Der subchondrale Knochen ist normal. Vergr. 400x

tionen identifiziert (ICRS-II-Score 0 %). Der subchondrale Knochen ist deutlich verdickt (ICRS-II-Score 30 %, **Abb. 2f**). Im Regenerat konnte keine Vaskularisierung nachgewiesen werden (ICRS-II-Score 100 %). Eine Entzündung lag nicht vor (ICRS-II-Score 100 %).

Ein hiervon sehr unterschiedliches Bild ergibt die **Abb. 3**. Im Parameter Gesamtbeurteilung zeigt sich ein hochaufgebautes Narbengewebe ohne Ausbildung von Kollagen Typ 2 oder Proteoglykane (ICRS-II-Score 0 %, **Abb. 3a**). In diesem Fall ergibt die Beurteilung der Zellmorphologie überwiegend fibroblastäre Zellen (ICRS-II-Score 20 %, **Abb. 3b–d**) ohne Ausbildung von Zellclustern (ICRS-II-Score 0 %). Die Oberflächenarchitektur allerdings zeichnet sich im gesamten Biopsat durch eine glatte Oberfläche ohne nennenswerte Unregelmäßigkeiten oder Fis-

suren aus. Außerdem liegt eine zelluläre Begrenzung durch eine durchgängige Schicht abgeflachter Zellen vor, sodass sich in diesen beiden Parametern jeweils ein ICRS-II-Score von 100 % ergibt (**Abb. 3b**). Mittlere und tiefe Zone zeigen überwiegend fibröses Gewebe (ICRS-II-Score 0 %, **Abb. 3c, d**). Eine Tidelinie ist nicht zu erkennen (ICRS-II-Score 0 %, **Abb. 3e**). Die basale Integration ist allerdings gut (ICRS-II-Score 90 %, **Abb. 3e**). Auch in diesem Fall wurden in keiner Zone abnormale Kalzifikationen oder Ossifikationen identifiziert (ICRS-II-Score 0 %). Der subchondrale Knochen ist normal (ICRS-II-Score 100 %, **Abb. 3f**). Eine Entzündung liegt nicht vor (ICRS-II-Score 100 %). Allerdings sind die mittlere und tiefe Zone von zahlreichen kleinkalibrigen Blutgefäßen durchsetzt (ICRS-II-Score 0 %, **Abb. 3c, d**).

Insgesamt muss hinsichtlich der histopathologischen Beurteilung von Regeneraten festgehalten werden, dass ein Großteil der Daten hierzu und auch die Entwicklung des Scores überwiegend ohne eine Korrelation mit den klinischen Langzeitergebnissen entwickelt wurden [21].

Auch für die Beurteilung von Knorpelschäden vor einer ACT existieren mehrere Scores, von welchen überwiegend der ICRS-Score erhoben wird (**Tab. 2**). Dieser Score dient zur Erfassung der Defekttiefe und hilft das Defektausmaß und die Menge an notwendigen autologen Zellen abzuschätzen. Der Mankin-Score und der neuere OARSI-Score evaluieren darüber hinaus morphologische und pathophysiologische Parameter und dienen der Beurteilung einer Osteoarthritis [22, 28]. Der Mankin-Score zeigt insbesondere bei der

Tab. 2 ICRS-Score zur Beurteilung eines Knorpelschadens

Bewertung	Kriterien	Schweregrad
Normal	Normal	Grad 0
Annähernd normal	Oberflächliche Läsion/Erweichung	Grad 1a
	Wie 1a, aber mit oberflächlichen Fissuren/Rissen	Grad 1b
Abnormal	Ausprägung unter 50 % der Gesamtdicke	Grad 2
Schwere Läsion	Ausprägung über 50 % der Gesamtdicke	Grad 3a
	Ausprägung bis zur Kalzifikationsschicht	Grad 3b
	Ausprägung bis zur Oberfläche des subchondralen Knochens ohne Penetration	Grad 3c
	Beinhaltet Hervorwölben des Knorpels um die Läsion	Grad 3d
Sehr schwere Läsion	Penetration des subchondralen Knochens, aber nicht in der ganzen Ausdehnung des Defektes	Grad 4a
	Penetration des Knochens über die gesamte Ausdehnung des Defektes	Grad 4b

Detektion früher Arthrostadien Limitierungen, welche durch den OARSI-Score überwunden werden konnten [32]. Nach histologischen Kriterien klassifiziert der OARSI-Score Knorpelschäden in Grade und Stadien, woraus durch Multiplikation ein Scorewert errechnet werden kann [28]. Der Grad gibt die Tiefe der Progression des Knorpelschadens an, das Stadium die horizontale Ausbreitung. Diese Scores werden allerdings in der klinischen Praxis selten genutzt, sodass ihre Anwendbarkeit besonders hinsichtlich der Frage nach der Repräsentativität von Biopsien für den Gesamtschaden noch nicht abschließend beurteilt werden kann. Darüber hinaus existieren aktuell noch keine prospektiven klinisch-pathologischen Studien, welche systematisch den Grad der Schädigung mittels ICRS-, Mankin- oder OARSI-Score vor ACT mit dem Outcome nach ACT gemäß ICRS-II-Score vergleichen. Größere Studien zum Vergleich unterschiedlicher Methoden der ACT in Verbindung mit dem ursprünglichen Schädigungsgrad oder dem histologischen Outcome fehlen ebenfalls, wären aber für die differenzielle Beurteilung unterschiedlicher ACT-Methoden wichtig.

Meniskus chirurgie

Neben der Knorpelchirurgie nimmt insbesondere die Meniskus- und Kreuzbandchirurgie eine wichtige Rolle ein. In der Meniskus chirurgie werden biomaterialbasierte Implantate auf Basis von Kollagenen (CMI®, Ivy Sports Medicine GmbH, Gräfelfing, Deutschland) oder

Polymeren (Actifit®, Orteq Sports Medicine Limited, London, Großbritannien) verwendet (Abb. 4; [26]). Während gute klinische und zufriedenstellende radiologische Ergebnisse beschrieben werden, existieren nur vereinzelt histologische Untersuchungen [8, 34]. Zwar konnte demonstriert werden, dass Zellen das Scaffold besiedeln, jedoch imponieren diese vorwiegend fibroblastär mit Vaskularisierung, was nicht dem physiologischen Aufbau des Meniskus entspricht [29]. Zu den polymerbasierten Implantaten existieren Studien mit uneinheitlichen Ergebnissen. So werden gute klinische und radiologische Resultate beschrieben, jedoch ist die Revisionsrate hoch, und nach mittellangen Nachbeobachtungszeiträumen lassen sich die Transplantate in der Magnetresonanztomographie gehäuft nicht mehr nachweisen [17]. Eine systematische Analyse der Implantate bei Revisionen würde eine optimierte Beurteilung erlauben, die eine vergleichbare Einschätzung der Regeneratqualität erleichtert. In diesem Zusammenhang existieren Scoringssysteme zur Evaluierung experimenteller In-vitro- und In-situ-Studien, welche nicht nur die Qualität des regenerierten Gewebes beurteilen, sondern auch die Integration an der Nahtstelle [18]. In diesem Zusammenhang zeigt eine aktuelle Pilotstudie zur Untersuchung von Meniskusresektaten, dass die histopathologische Einschätzung degenerativer und traumatischer Meniskusschäden von der Aufarbeitungsmethode abhängt und die histologische Einschätzung hilfreich sein kann für die Einschätzung bei der Wahl einer rekonstruktiven Therapie [5].

Kreuzbandchirurgie

Der Goldstandard bei der Rekonstruktion des vorderen Kreuzbandes ist seine Rekonstruktion mittels autologer Sehnentransplantate. Aktuell gibt es Therapieansätze mit verschiedenen Nahttechniken zum Erhalt des Kreuzbandes, wie zum Beispiel die dynamische, intraligamentäre Stabilisierung (Ligamysplastik), bei der das frisch rupturierte Kreuzband mit einer Naht gesichert wird, welche tibial an einem Federmechanismus fixiert ist. Den guten klinischen Ergebnissen dieser Methode stehen teilweise hohe Komplikationsraten von bis zu 15 % gegenüber [1]. Für die Wahl des adäquaten Verfahrens und für dessen Langzeiterfolg ist das Verständnis des biologischen Verhaltens des Transplantates von enormer Wichtigkeit. Das Transplantat durchläuft den Prozess der sog. Ligamentisierung [9]. Dieser Umbauprozess kann zeitlich in eine frühe Phase, eine Remodellingphase und eine Ausreifungsphase gegliedert werden, wobei aufgrund der Variationen im zeitlichen Verlauf der Second-look-Biopsien noch keine einheitlichen Stadien für ein Scoringssystem definiert werden können [9]. Insgesamt kommt es zu einer Vaskularisierung, einem Einsprossen von Myofibroblasten und einem Umbau der Kollagenzusammensetzung. Um die noch wenig verstandenen Prozesse des nativen und rekonstruierten Kreuzbandes besser analysieren zu können, wurde eine valide Biopsietechnik etabliert, welche die strukturelle Integrität des Bandes respektiert [27]. Auch in der Kreuzbandchirurgie wird in Zukunft die

Abb. 4 ◀ Meniskusimplantat mit interkonnektierenden Poren (a, Rasterelektronenmikroskopie) und Meniskusimplantat mit spärlichem Fasernetzwerk innerhalb des stark eosinroten Biomaterials (b, HE-Färbung, Vergr. 200:1)

Transformation der wissenschaftlichen Ergebnisse in geeignete histopathologische Scoringssysteme einen wertvollen Beitrag für die Operations- und Revisionsindikationen zur Optimierung der Versorgung leisten [6].

Fazit für Praxis

- Rekonstruktive Operationsverfahren erhalten in der Orthopädie und Unfallchirurgie immer größeren klinischen Einfluss.
- Aus den neuen rekonstruktiven Verfahren ergeben sich histopathologische Fragestellungen in der orthopädischen Pathologie, für die nur teilweise adäquate Klassifikationen existieren.
- Für die Beurteilung von Regeneraten beim Zustand nach autologer Chondrozytentransplantation wird der IRCS-II-Score angewandt, der Bedeutung für die interdisziplinäre Behandlung der Patienten hat.
- Seitens der Unfallchirurgie und der operativen Orthopädie besteht der Wunsch zur Translation experimentell verwendeter Klassifikationen in den klinischen Kontext, wozu weitere klinisch-pathologische Studien unter Beteiligung der Pathologie notwendig sind.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Christoph Brochhausen
Institut für Pathologie, Universität Regensburg
Franz-Josef-Strauß-Allee 11, 93053 Regensburg, Deutschland
christoph.brochhausen@ukr.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. C. Brochhausen, D. Grevenstein, A. Mamilos, M. Babel und P. Eysel geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Für diesen Beitrag wurden von den Autoren keine Studien an Menschen oder Tieren durchgeführt. Für die aufgeführten Studien gelten die jeweils dort angegebenen ethischen Richtlinien.

Open Access. Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden.

Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen.

Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Literatur

1. Ateschrang A, Ahmad SS, Stöckle U et al (2018) Recovery of ACL function after dynamic intraligamentary stabilization is resultant to restoration of ACL integrity and scar tissue formation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 26:589–595
2. Brittberg M (2008) Autologous chondrocyte implantation—technique and long-term follow-up. *Injury* 39(Suppl 1):40–49
3. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A et al (1994) Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 331:889–895
4. Brochhausen-Delius C (2014) Prostaglandin E2 – Innovative Ansätze für das Tissue Engineering von Gelenknorpel. *Pathologe* 35(Suppl 2):264–270
5. Brochhausen-Delius C, Desch A-K, Grevenstein Det al (2016) Is the diagnosis of meniscus degeneration and trauma dependent on the technique of the pathological preparation a prerequisite for successful material based meniscus implantation? *Pathologe* 37(Suppl 1):3–156
6. Brochhausen-Delius C, Grevenstein D, Meyer-Scholten C et al (2017) Nerve fibres in anatomical structures of the knee joint and their potential role in pathophysiology and regeneration of traumatic lesions—a pilot study. *Pathologe* 38(Suppl 1):S1–S147
7. Brochhausen-Delius C, Meyer-Scholten C, Grifka J et al (2016) Medial-shelf syndrome—first results of a systematic histopathological characterization. *Pathologe* 37(Suppl 1):3–156
8. Bulgheroni P, Murena L, Ratti C et al (2010) Follow-up of collagen meniscus implant patients: clinical, radiological, and magnetic resonance imaging results at 5 years. *Knee* 17:224–229
9. Claes S, Verdonk P, Forsyth R et al (2011) The “Ligamentization” Process in anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med* 39:2476–2483
10. Englund M, Haugen IK, Guermazi A et al (2016) Evidence that meniscus damage may be a component of osteoarthritis: the Framingham study. *Osteoarthritis Cartil* 24:270–273
11. Fisseler-Eckhoff A, Müller KM (2011) Histopathological evaluation of the meniscus. *Pathologe* 32:220–227
12. Goebel L, Reinhard J, Madry H (2017) Die Meniskusläsion – ein präarthrotischer Zustand des Kniegelenks. *Orthopäde* 46:822–830
13. Brochhausen C (2016) „Lost in Translation“ – The Impact of Pathology to Regenerative Medicine and Tissue Engineering. *Pathologe* 37(Suppl. 1):3–156
14. Krenn V, Kurz B, Krukemeyer MG et al (2010) Histopathologischer Degenerations-Score des Faserknorpels. *Z Rheumatol* 69:644–652
15. Krenn V, Morawietz L, Kienapfel H et al (2014) Revised histopathological consensus classification of joint implant related pathology. *Pathol Res Pract* 210:779–786
16. Krenn V, Perino G, Rüther W et al (2017) 15 years of the histopathological synovitis score, further development and review: a diagnostic score for rheumatology and orthopaedics. *Pathol Res Pract* 213:874–881
17. Leroy A, Beaufils P, Faivre B et al (2017) Actifit® polyurethane meniscal scaffold: MRI and functional outcomes after a minimum follow-up of 5 years. *Orthop Traumatol Surg Res* 103:609–614

18. Longo UG, Loppini M, Romeo G et al (2013) Histological scoring systems for tissue-engineered, ex vivo and degenerative meniscus. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 21:1569–1576
19. Loppini M, Longo UG, Niccoli G et al (2015) Histopathological scores for tissue-engineered, repaired and degenerated tendon: a systematic review of the literature. *Curr Stem Cell Res Ther* 10:43–55
20. Maerz T, Newton MD, Kurdziel MD et al (2016) Articular cartilage degeneration following anterior cruciate ligament injury: a comparison of surgical transection and noninvasive rupture as preclinical models of post-traumatic osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartil* 24:1918–1927
21. Mainil-Varlet P, Van Damme B, Nestic D et al (2010) A new histology scoring system for the assessment of the quality of human cartilage repair: ICRS II. *Am J Sports Med* 38:880–890
22. Mankin HJ, Dorfman H, Lippeliello L et al (1971) 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* 53:523–537
23. Marlovits S, Striessnig G, Resinger CT et al (2004) Definition of pertinent parameters for the evaluation of articular cartilage repair tissue with high-resolution magnetic resonance imaging. *Eur J Radiol* 52:310–319
24. Morawietz L, Gehrke T, Claßen RA et al (2004) Vorschlag für eine Konsensus-Klassifikation der periprotetischen Membrangelockerter Hüft- und Knieendoprothesen. *Pathologie* 25:375–384
25. Müller S, Walther M, Röser A et al (2017) Endoprothesenversagen im oberen Sprunggelenk. *Histopathologische Diagnostik und Klassifikation. Orthopäde* 46:234–241
26. Myers KR, Sgaglione NA, Goodwillie AD (2014) Meniscal scaffolds. *J Knee Surg* 27:435–442
27. Mylle M, Claes S, Verdonk P et al (2014) A novel core biopsy technique for anterior cruciate ligament preservers ligament structural integrity: a porcine study. *Arthroscopy* 30:80–85
28. Pritzker KP, Gay S, Jimenez SA et al (2006) Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartil* 14:13–29
29. Reguzzoni M, Manelli A, Ronga M et al (2005) Histology and ultrastructure of a tissue-engineered collagen meniscus before and after implantation. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 74:808–816
30. Spies KS, Langer M, Hahn P et al (2018) Therapie der primären Finger- und Daumengelenkarthrose. *Dtsch Arztebl* 115:269–275
31. Tsaras G, Maduka-Ezeh A, Inwards CY et al (2012) Utility of Intraoperative frozen section histopathology in the diagnosis of periprosthetic joint infection. A systematic review and meta-analysis. *J Bone Joint Surg Am* 94:1700–1711
32. Waldstein W, Perino G, Gilbert SL et al (2016) OARS osteoarthritis cartilage histopathology assessment system: a biomechanical evaluation in the human knee. *J Orthop Res* 34:135–140
33. Wang H, Wang Q, Yang M et al (2018) Histomorphology and innate immunity during the progression of osteoarthritis: does synovitis affect cartilage degradation. *J Cell Physiol* 233:1342–1358
34. Zaffagnini S, Grassi A, Marcheggiani Muccioli GM et al (2015) MRI evaluation of a collagen meniscus implant: a systematic review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 23:3228–3237

Lungenkrebs bei Asiaten und Europäern unterschiedlich

Umfassende vergleichende Studie in „Nature Genetics“ publiziert

Das Adenokarzinom der Lunge ist die häufigste Form von Lungenkrebs und für jährlich über eine Million Todesfälle weltweit verantwortlich. Es ist bekannt, dass es sich zwischen Asiaten und Europäern deutlich unterscheidet: 40 bis 60 Prozent der asiatischen LUADs weisen eine Mutation im EGF-Rezeptor auf, bei der kaukasischen Form trifft dies nur in sieben bis zehn Prozent zu. Kleinere Studien weisen darauf hin, dass es weitere genomische Unterschiede gibt. Unter den asiatischen LUAD-Patienten sind mehr weibliche Nichtraucherinnen verglichen mit kaukasischen Patienten, während sich bei ihnen mehr männliche Raucher finden.

Um ausreichend große Datenmengen für den Vergleich zu erhalten, wurden die gesamten Exome (n=210) und Transkriptome (n=181) von 213 chinesischen LUAD-Patienten aus Singapur sequenziert. Zusammen mit zuvor veröffentlichten vollständigen Exomdaten von 92 chinesischen Patienten stellten die Forscher so der größte Datensatz (n=305) von LUADs für Ostasien zusammen. Durch den Vergleich der genomischen Landschaften mit den gleichen Analysepipelines konnten große Unterschiede bei Treibermutationen, Kopienzahländerungen und transkriptomischen RNA-Untergruppen ermittelt werden.

Auch wenn die kaukasischen Patienten im Vergleich zur asiatischen Kohorte mehr Raucher und Zigarettenkonsum aufwiesen, ähnelten sich die beiden Kohorten im Stadium und Alter sowie in anderen klinischen Merkmalen. Die Studie ermöglichte daher auch den bislang größten direkten Vergleich zwischen Rauchern und Nichtrauchern aus zwei ethnischen Gruppen.

Die Studie bestätigte, dass sich die Mutationslandschaft der asiatischen Patienten von den kaukasischen unterscheidet, wobei die Prävalenz von Mutationen auch in vielen anderen Genen jenseits des EGF-Rezeptors unterschiedlich ist. Die Analyse lieferte zwei wichtige Erkenntnisse: Zum einen weist der asiatische rauchbedingte Lungenkrebs offenbar „stabileres“ Genome auf. Daraus lässt sich eine bessere Vorhersagegenauigkeit für Prognosen ableiten als für kaukasische LUADs. Zum anderen konnten bei mehr als einem Drittel der Asiaten höhere Entzündungswerte sowie stärkere Anzeichen von Immunzellen festgestellt werden. „Diese Ergebnisse können zu neuen Ansätzen für personalisierte Therapien führen, die speziell auf diese asiatische Untergruppe abzielt“, sagt Prof. Hillmer. Er war zum Zeitpunkt der Studie am Genom

Institut Singapur Arbeitsgruppenleiter im Fachbereich „Cancer Therapeutics & Stratified Oncology“ und hat die genomischen Untersuchungen geleitet. An der Interpretation und Diskussion der Daten hat er nach seiner Rückkehr nach Deutschland im Jahr 2016 intensiv weitergearbeitet.

Das Forscherteam in Singapur plant auf Basis dieser Ergebnisse den Aufbau einer Wissensdatenbank für Lungenkrebs, um komplexere Vorhersagemodelle zu entwickeln. „Die Schaffung von zentralen Datenbanken ist von entscheidender Bedeutung für unser Verständnis von Krebserkrankungen“, sagt Univ.-Prof. Dr. Reinhard Büttner, Direktor der Pathologie an der Uniklinik Köln. „Mit dem Netzwerk Genomische Medizin Lungenkrebs, das wir von Köln aus über mehrere Jahre aufgebaut haben und das gerade auf nationale Ebene ausgedehnt wird, sammeln wir gezielte genomische Informationen von tausenden Lungenkrebspatienten. Diese Struktur ist sehr hilfreich, um Therapieoptionen für Patienten mit seltenen Mutationen einzuschätzen.“

Publikation: Chen J, Yang H; et al: Genomic landscape lung adenocarcinoma in East Asians in *Nature Genetics* volume 52, pages 177–186 (2020) DOI: <https://www.nature.com/articles/s41588-019-0569-6>

PM Uniklinik Köln 04.02.2020

Hier steht eine Anzeige.