

**Aus der Abteilung
für Unfallchirurgie
Prof. Dr. Dr. V. Alt
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg**

**Oberflächenrauheit und Knorpelzellaktivität nach Behandlung des
Gelenkknorpels mit monopolarer Radiofrequenzenergie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg**

**vorgelegt von
Max von Schmeling**

2024

**Aus der Abteilung
für Unfallchirurgie
Prof. Dr. Dr. V. Alt
der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg**

**Oberflächenrauheit und Knorpelzellaktivität nach Behandlung des
Gelenkknorpels mit monopolarer Radiofrequenzenergie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg**

**vorgelegt von
Max von Schmeling**

2024

Dekan:	Prof. Dr. med. Dipl. Phys. Dirk Hellwig
1. Berichterstatter:	PD Dr. Michaela Huber
2. Berichterstatter:	PD Dr. Markus Zimmermann
Tag der mündlichen Prüfung:	07.06.2024

Abstract / Zusammenfassung

Gelenkarthrose ist eine, besonders bei älteren Menschen häufige, degenerative Gelenkerkrankung, die mit Schmerz und zunehmendem Funktionsverlust einhergeht. Sie zeichnet sich durch einen progredienten Verlauf aus, der bisher nicht umgekehrt werden kann. Die Behandlung zielt daher auf die Reduktion der Schmerzsymptomatik und eine Verzögerung der Progression ab. Dazu können konservative Methoden wie Physiotherapie und medikamentöse Behandlung verwendet werden. In späteren Stadien kann versucht werden, den aufgerauten Knorpel chirurgisch zu glätten, was zum einen die Steifheit der Gelenke und Schmerzsymptomatik verbessern und zum anderen das Fortschreiten des Knorpelabbaus verlangsamen kann. Dazu wurden bisher vor allem mechanische Verfahren verwendet. Inzwischen wird jedoch die Thermoablation mittels Radiofrequenzenergie (RFE) immer beliebter. Es ist jedoch nach wie vor nicht geklärt, welches genaue Behandlungsprotokoll unter der Vielzahl möglicher Varianten die beste Kombination von Wirksamkeit und Sicherheit bietet. Verschiedene Studien aus der Literatur erbrachten Ergebnisse, die nahelegen, dass Spitzentemperaturen im Gewebe, bei der Verwendung von monopolen RFE-Sonden, geringer sind als bei der Verwendung von bipolaren Sonden, was diese sicherer machen würde. Zudem wurde vorgeschlagen, die Energieabgabe zu pulsen, anstatt kontinuierlich zu gestalten, um das Gewebe zwischen den Pulsen abkühlen zu lassen. Um die genauen Auswirkungen solcher Veränderungen des Behandlungsprotokolls auf die Wirksamkeit der Methode und den Temperaturverlauf im Gewebe während der Behandlung zu untersuchen, wurde die hier vorliegende In-vitro Studie konzipiert. Dabei wurde der Knorpel in neun Kniegelenken von Schweinen mit Schleifpapier aufgeraut und anschließend mit einer monopolen RFE-Sonde und sechs verschiedenen Behandlungsmustern behandelt. Tendenziell zeigten die Versuche, die mit gepulster RFE durchgeführt wurden, niedrigere Durchschnitts- und Maximaltemperaturen, jedoch waren die Unterschiede nicht signifikant. Der Knorpel, der einmalig mit zwei Sekunden langen RFE-Pulsen behandelt wurde, zeigte die glatteste Oberfläche. Dieser Unterschied war im Vergleich, zu fast allen anderen Behandlungsgruppen, statistisch signifikant. Die Behandlungsgruppen, die mit einer Sekunde langen Pulsen ein- oder zweimal behandelt wurden, unterschieden sich in Bezug auf die Rauheit der Knorpeloberfläche nicht von den kontinuierlich behandelten, jedoch hatten diese beiden Gruppen eine signifikant höhere Rate von vitalen

Chondrozyten. Da jedoch auch in diesen Gruppen tote Chondrozyten in der gesamten Knorpeldicke vorhanden waren, ist nicht klar, wie sicher dieses Protokoll in vivo wäre. Insgesamt zeigen die Ergebnisse der Studie jedoch, dass eine Modifikation des Behandlungsprotokolls zu einer Reduktion der Chondrozytennekrose führen kann, ohne gleichzeitig einen signifikanten Verlust der Glättungswirkung zu verursachen. Weitere Studien sind jedoch notwendig, um das, für die Behandlung von Patienten, sicherste und wirksamste Behandlungsprotokoll zu finden.

Abkürzungsverzeichnis

CLSM	Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie
HF	Hochfrequenz
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
JNK	c-Jun N-terminal Kinase
LOCI	Laboratory for Optical and Computational Instrumentation
MMP	Matrix-Metalloprotease
NSAID	Nicht-steroidale anti-inflammatorische Medikamente
OA	Osteoarthritis
Ra	Arithmetischer Mittelwert der Rauheit
RFE	Radiofrequenzenergie
RMS	Rout Mean Square

Inhaltsverzeichnis

Abstract / Zusammenfassung	V
Abkürzungsverzeichnis	VII
1 Einleitung.....	3
1.1 Arthrose.....	3
1.1.1 Hintergrund.....	3
1.1.2 Behandlungsmethoden.....	3
1.2 Funktionsprinzip der Radiofrequenzablation	4
1.3 Stand der Forschung	6
1.4 Diagnose und Klassifikation der Osteoarthrose.....	11
1.5 Zielsetzung	11
1.6 Fragestellung und Hypothesen.....	12
2 Material und Methoden	13
2.1 Versuchsaufbau	13
2.2 Histologie.....	17
2.2.1 Histologische Aufarbeitung: Life/Dead- und Caspase-Färbung.....	17
2.2.2 Silbernitratimprägnierung	17
2.2.3 Auswertung der Proben mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie	18
2.2.4 Auswertung der Life/Dead-Färbung mittels ImageJ.....	20
2.2.5 Statistik.....	20
3 Ergebnisse.....	21
3.1 Temperaturverlauf	22
3.2 Knorpelglättung	24
3.3 Vitalität der Chondrozyten	29
4 Diskussion.....	35
4.1 Temperaturverlauf	35

4.2	Knorpelglättung	38
4.3	Vitalität der Chondrozyten	41
4.4	Monopolare versus bipolare Radiofrequenztherapie	45
4.5	Schlussfolgerungen	47
5	Anhang.....	50
5.1	Abbildungsverzeichnis.....	50
5.2	Tabellenverzeichnis.....	52
6	Referenzen.....	53
7	Danksagung	58
8	Erklärung zum Promotionsverfahren	59

1 Einleitung

1.1 Arthrose

1.1.1 Hintergrund

Arthrose ist eine degenerative Gelenkerkrankung und ist, besonders bei älteren Menschen, die häufigste Ursache von Mobilitätseinschränkungen, die muskuloskeletale Ursachen hat. Sowohl Inzidenz als auch Prävalenz steigen mit dem Alter an.

Bei über 60-Jährigen ist die Prävalenz in Industrieländern bereits annähernd 40 %, während bei über 65-Jährigen die Mehrheit betroffen ist ¹⁻³. Alle Gelenke im Körper können osteoarthrotische Veränderungen aufweisen, jedoch ist Arthrose besonders häufig in den beiden distalen Fingergelenken, im Knie- und Hüftgelenk sowie im Bereich der Wirbelsäule zu finden ⁴. Risikofaktoren für die Entwicklung einer Arthrose sind höheres Alter, Adipositas, genetische Prädisposition, weibliches Geschlecht und Lebensstilfaktoren, wie einseitige Ernährung und Bewegungsmangel, sowie gelenkspezifische Faktoren wie Verletzungen, angeborene und erworbene Gelenkfehlstellung und abnormale Belastung des Gelenks ^{1,5}. Da Arthroseschmerzen eingeschränkte Gelenkfunktion und Steifigkeit verursacht, kann sie die Lebensqualität der Patienten einschneidend belasten ^{3,6}.

1.1.2 Behandlungsmethoden

Es existieren eine Reihe von konservativen Behandlungsmethoden, die im Allgemeinen ausgeschöpft werden, bevor auf invasivere Methoden zurückgegriffen wird.

Konservative Methoden bestehen aus der oralen Gabe von nicht-steroidalen anti-inflammatorischen Medikamenten (NSAIDs), wie beispielsweise Acetylsalicylsäure, Ibuprofen oder Diclofenac, Physiotherapie, Manueller Therapie und Bewegung, sowie falls gewichtstragende Gelenke betroffen sind eine Gewichtsabnahme ⁷⁻⁹. Eine Nahrungssupplementation mit Hyaluronsäure- und/oder Glucosaminpräparaten kann ebenfalls vorübergehend Linderung bringen ^{6,10}. In der akuten Phase wird das betroffene Gelenk oft mittels Schienung ruhiggestellt. Diese Therapie ist besonders bei Arthrose an Hand- oder den Daumengelenken nützlich, wird aber bei größeren

Gelenken wie beispielsweise dem Knie kontrovers diskutiert ^{11,12}. Da es sich bei der Arthrose jedoch um eine degenerative Erkrankung handelt, lassen sich dadurch die Symptome nur temporär lindern und die Progression verlangsamen, aber nicht komplett aufhalten.

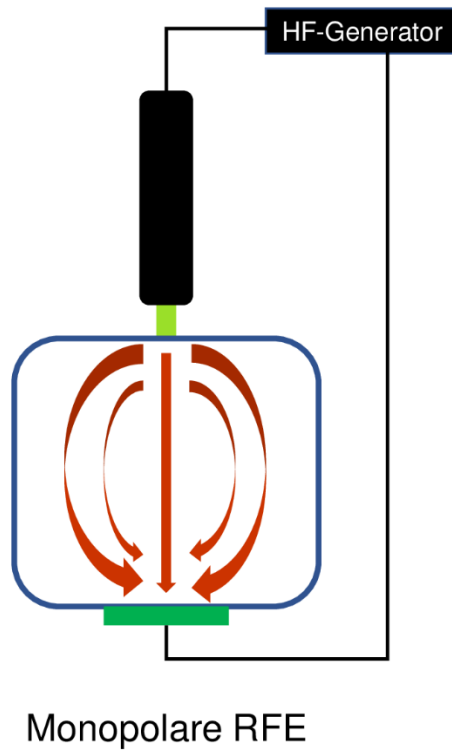
Falls alle konservativen Behandlungsmöglichkeiten ausgeschöpft sind, stehen invasive Maßnahmen zur Verfügung. Eine davon ist der minimalinvasive arthroskopische Einsatz von Radiofrequenzablation, die sowohl zur Knorpelglättung also auch Geweberesektion verwendet werden kann ¹³. Invasivere Methoden sind Korrekturen der Belastungsachse durch Umstellungsosteotomien, Arthroplastiken, Teilarthrodesen oder Arthrodesen sowie der Gelenkersatz durch Partielle- oder Totalendoprothesen ^{6,9,10}.

1.2 Funktionsprinzip der Radiofrequenzablation

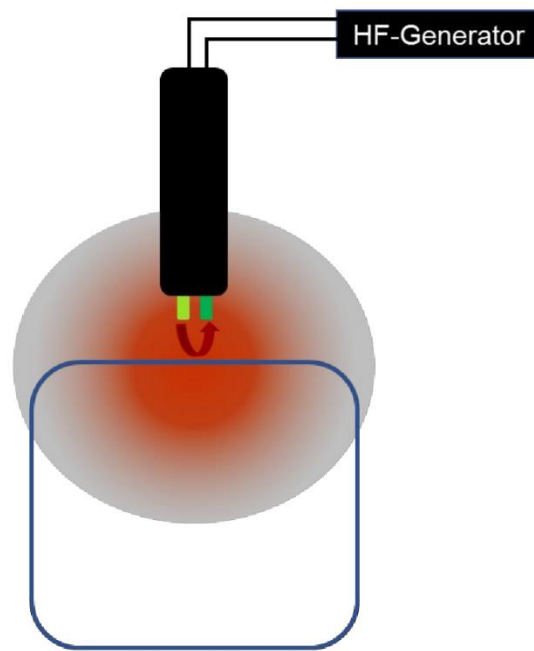
Bei der Radiofrequenzablation wird Radio-Frequenz-Energie (RFE) verwendet, um minimal invasiv (arthroskopisch) im Gelenk thermische Energie zu applizieren. Dieses Verfahren wird in den letzten Jahren zunehmend häufiger zur sogenannten Chondroplastie, also der Knorpelglättung bei Arthrose, Gewebresektion und Koagulation von fibrilliertem Knorpel eingesetzt (Edwards et al., 2002; Huber et al., 2015, 2016; Lu et al., 2000, 2001)

Es existieren zwei prinzipiell unterschiedliche RFE-Systeme, die hierbei eingesetzt werden, nämlich monopolare und bipolare RFE-Systeme ^{13,19}. Das monopolare System besteht aus einem Hochfrequenz (HF)-Generator, von dem ein Stromkreis mit zwei Elektroden ausgeht (Abbildung 1). Die aktive Elektrode befindet sich hierbei an der Spitze des Instruments, das vom Chirurgen geführt wird. Die neutrale Elektrode wird auf die Haut des Patienten geklebt. Der Stromkreis schließt sich durch Stromfluss von der aktiven Elektrode über die Spülflüssigkeit und das Patientengewebe zur neutralen Elektrode, wobei die Stromdichte und damit der thermische Effekt auf das Gewebe in der Nähe der Aktivelektrode am höchsten ist. Die Stromdichte hängt umgekehrt proportional von der Größe der Elektrode ab. Diese ist an der aktiven Elektrode so gering, dass die Stromdichte in deren Nähe genügt, um durch induzierte Bewegung von Ionen und Elektronen ein im Gewebe ausreichender thermischer Effekt erzielt wird, der für die Thermoablation genügt. Bei bipolaren RFE-Geräten befindet

sich sowohl die aktive als auch die neutrale Elektrode im RFE-Instrument (Abbildung 2), sodass der Stromfluss durch das zu behandelnde Gewebe von einer Elektrode in der Spitze der Sonde zur anderen ebenfalls in der Spitze der Sonde befindlichen Elektrode erfolgt. Hier entsteht eine Art Plasmawolke ^{13,19}.



*Abbildung 1:
Schematische Darstellung der monopolaren Radiofrequenzablation*



Bipolare RFE

Abbildung 2:

Schematische Darstellung der bipolaren Radiofrequenzablation

1.3 Stand der Forschung

Das Ziel der RFE-Therapie in der Behandlung von Arthrose ist die Reduktion von Symptomen ^{15,20}, wie Schmerz und Gelenksteifheit, durch eine Glättung der Knorpeloberfläche bei gleichzeitiger minimaler Schädigung des gesunden Knorpels. Dies soll zu einer Verlangsamung des degenerativen Prozesses führen.

Bisherige Studien zu den beiden RFE-Systemen haben jedoch kontroverse Ergebnisse erbracht. Es ist zudem bisher nicht endgültig geklärt, ob RFE sowohl für das umliegende Gewebe, als auch für die Knorpelzellen selbst sicher ist. Um den Einfluss der thermischen Behandlung auf das umliegende Gewebe zu untersuchen, wurde bereits im Jahr 2002 eine In-vitro Studie an explantierten Kniegelenken, zum Vergleich von mono- und bipolarer RFE-Chondroplastik, durchgeführt ¹³. Dazu wurden an je 36 Kniegelenken je ein 1 cm² großes Areal mit mono- und bipolarer RFE behandelt, wobei sechs explantierte Kniegelenke als Kontrollen unbehandelt blieben.

Jeweils weitere sechs Proben wurden mit sechs unterschiedlich langen RFE-Behandlungen (5 sec, 10 sec, 20 sec, 30 sec und 40 sec) abladiert. Die Proben wurden anschließend mit einem konfokalen Laser-Mikroskop und mit einem Rasterelektronenmikroskop untersucht. Die Untersuchung der Knorpeloberfläche zeigte, dass bei beiden Methoden nur nach einer Behandlungsdauer von mindestens 15 sec eine Glättung der Gelenkfläche messbar war. Dabei trat jedoch auch eine tiefgreifende Chondrozytennekrose auf, die sich bis zum subchondralen Knochen erstreckte. Hierbei sorgen jedoch nicht die Radiofrequenzwellen für ein Absterben der Knorpelzellen, sondern die durch die Wellen entstehenden hohen Temperaturen, die schon ab 50° Celsius zu Apoptose- und Nekrose Prozessen führen können. Eine Chondrozytennekrose war in der bipolaren RFE-Gruppe im Vergleich zur monopolaren RFE-Gruppe bei gleicher Behandlungsdauer bis zu einer signifikant tieferen Gewebeschicht detektierbar ¹³.

In einer weiteren *in-vitro* Studie aus dem Jahr 2002 untersuchten Edwards und Mitarbeiter die Temperaturen in der Knorpelmatrix in drei verschiedenen Tiefen während mono- oder bipolarer RFE-Behandlung ¹⁴. Dazu wurden 60 Kniegelenkregionen von 15 adulten Rindern behandelt. Fluorometrische Thermometriesonden wurden dabei in einer Gewebetiefe von 200 µm, 500 µm und 2000 µm im Knorpel platziert. Diese Studie zeigte, dass in allen Gewebetiefen die bipolare RFE-Behandlung höhere Temperaturen verursacht als die monopolare RFE und konsistent mit den Ergebnissen der oben vorgestellten Studie von Lu und Mitarbeitern war, die eine höhere Rate von Nekrose bis in tiefere Gewebeschichten bei der bipolaren RFE fand ¹³. Dies war auch der Fall, wenn während der Behandlung eine Kühlflüssigkeit über den Knorpel geleitet wurde. RFE-Behandlung unter konstantem Flüssigkeitsfluss hatte in der Tat keinen Einfluss auf Gewebetemperaturen in jeder gemessenen Tiefe. Die Autoren äußerten die Befürchtung, dass eine bipolare RFE-Behandlung mit den in ihrer Studie verwendeten Parametern eine Chondrozytennekrose in der gesamten Gewebeschicht auslösen könnte ¹⁴.

Es existieren jedoch auch Studien mit gegenteiligen Ergebnissen, bei denen Gewebetemperaturen während der RFE-Behandlung mit einer monopolaren Sonde höher waren, als bei der Behandlung mit einer bipolaren RFE-Sonde ¹⁹. Bei dieser Leichenstudie wurde eine Standardarthroskopie entweder ohne oder mit kontinuierlicher Spülung durchgeführt. Sieben Handgelenke wurden dabei mit einer

bipolaren RFE-Sonde (VAPR II mit 2,3 mm Lateraleffektelektroden) und sieben mit einer monopolaren Sonde (OPES Ablator für kleine Gelenke) behandelt. Die Temperaturmessung erfolgte an sieben verschiedenen Stellen im Gelenk. Die gemessenen Temperaturen waren erwartungsgemäß höher, je länger die Behandlung durchgeführt wurde und je näher der Messpunkt bei der Sonde lag. Ohne Spülung war die gemessene Spitzentemperatur bei der monopolaren RFE 52,0° Celsius und bei der bipolaren RFE 49,5° Celsius. Durch Spülung senkte sich die Temperatur bei der monopolaren RFE um 7° Celsius und bei der bipolaren um 5° Celsius. Die Autoren schlossen daraus, dass die RFE-Behandlung am Handgelenk sowohl für die monopolare als auch für die bipolare Behandlungsvariante sicher ist, wenn eine Gelenkspülung eingesetzt wird und die jeweilige Energieabgabe 5-10 sec Dauer nicht überschreitet ¹⁹. Es ist nicht klar, warum in dieser Studie ohne Spülung bei der monopolaren RFE-Behandlung unerwarteterweise höhere Spitzentemperaturen gemessen wurden als bei der bipolaren RFE. Es ist jedoch möglich, dass das Design der Sonden hierbei eine Rolle spielte.

In einer weiteren Leichenstudie zeigten Temperaturmessungen in den Gewebeflüssigkeiten in der unmittelbaren Umgebung eines mit RFE behandelten Schultergelenkes in einer *in-vitro* Studie keine Temperaturen, die auf eine Wärmeschädigung des Gewebes schließen lassen ²¹. Es ist allerdings möglich, dass die räumliche Auflösung der Temperaturmessung in dieser Studie nicht ausreichend war, um auszuschließen, dass in unmittelbarer Umgebung der RFE-Sonde, in deren Nähe die höchsten Flüssigkeitstemperaturen gemessen wurden, lokal schädliche Temperaturen auftreten.

Da Komplikationen durch Hitzeschäden am Knorpel verursacht werden können, untersuchten auch Zoric und Mitarbeiter (2009) das Temperaturprofil im Gewebe von humanen Schultergelenken in einer Leichenstudie. Dazu wurden zehn Schultern über einen Zeitraum von zwei Minuten mit einer kommerziellen RFE-Sonde behandelt. Intraartikuläre Temperaturen wurden hierbei zu verschiedenen Zeitpunkten, während der 2-minütigen RFE-Behandlung im Abstand von 1 mm, 3 mm, 5 mm und 10 mm von der RFE-Sonde, gemessen. Die RFE-Behandlung wurde zudem mit unterschiedlichen Energieleistungen und verschiedenen Flussgeschwindigkeiten für die Spülflüssigkeit durchgeführt. Ohne Spülflüssigkeit und in nächster Nähe der Sonde wurden dabei Temperaturen von mehr als 80° Celsius gemessen. Längere Behandlungsdauern

führten aber auch mit eingeschalteter Spülung und an weiter entfernten Messstellen zu Temperaturen von mehr als 50° Celsius, bei denen eine Chondrozytennekrose in einem vitalen Gelenk die Folge sein würde ²².

In einer *in-vitro* Studie aus dem Jahre 2004 wurden bovine Kniegelenke mit bipolarer RFE in einem linearen Behandlungsmuster behandelt. Dabei wurde die Sonde mit einer Geschwindigkeit von 3-4 mm/sec bewegt. Es wurden zwei verschiedene RFE-Sonden verwendet. Die Vitalität der Chondrozyten wurde anschließend mittels konfokaler Lasermikroskopie untersucht ²³. Eine Chondrozytennekrose war nach der Behandlung mit der ACD-50-Sonde (Arthrocare System 2000, ArthrocareCorp, Sunnyvale, CA, USA) bis in eine Gewebetiefe von 109.4 +/- 22.1 µm nachweisbar. Nach der RFE-Behandlung mit der 2.5-mm/90°-Sonde lag die Chondrozytennekrose dagegen bis in einer Gewebetiefe von 172.3 +/- 34.3 µm vor. Die Debridementgrenze zum vitalen Gewebe war bei der Behandlung mit beiden Sonden in der Tiefe scharf abgegrenzt und die dadurch geschaffene Oberfläche war glatt. Die Vitalität der tiefer gelegenen Chondrozyten wurde mit keiner der beiden Proben negativ beeinflusst.

Yasura *et al.* untersuchten dagegen in ihrer *in-vitro* Studie nicht den Einfluss der RFE-Behandlung auf die Vitalität der Chondrozyten, sondern auf die mechanischen Eigenschaften des Knorpels ²⁴. Hierbei wurden Knorpelproben aus explantierten humanen Kniegelenken verwendet und mit monopolarer RFE behandelt. Die Knorpeloberfläche wurde durch die Behandlung signifikant geglättet. Die Steifheit und Dicke des Knorpels veränderten sich durch die Behandlung dagegen nicht, allerdings wurden oberflächennahe Kollagenfasern denaturiert. Gleichzeitig verringerte sich die Konzentration der knorpelabbauenden Matrix-Metalloproteasen (MMP)-1 und MMP-2 im Zellkulturüberstand von den RFE-behandelten Knorpelproben ²⁴.

In-vitro Studien können zwar die unmittelbaren Wirkungen der RFE-Behandlung auf die Vitalität der Chondrozyten und der mechanischen Eigenschaften des Knorpels untersuchen, allerdings können sie keine Auskunft über die Langzeitwirkungen, auf das gesunde Überleben des Knorpels, geben. Gleichzeitig sind aber Studien an Patienten unter wissenschaftlichen Kriterien äußerst schwierig durchzuführen, da eine Folgeoperation oder Biopsie zu definierten Zeitpunkten nötig und dies ethisch kaum zu vertreten wäre. Bevor nun eindeutig nachgewiesen werden kann, dass die Behandlung sicher ist, ist es wichtig, auf Tierversuche mit entsprechenden Arthrose Modellen zurückgreifen zu können. Dazu wurde im Jahr 2007 ein Chondromalazie-

Tiermodell in einer anderen Publikation detailliert beschrieben. Dabei wurde im Knorpel der Patella eine Auffaserung vorgenommen, die nur die oberen Knorpelschichten betraf. Drei Monate nach dieser Operation kann in diesem Tiermodell die Arthrose Behandlung vorgenommen werden ²⁵.

Im Jahr 2006 wurde eine Studie zur Sicherheit und Wirksamkeit von mono- und bipolarer RFE mit diesem Chondromalazie-Tiermodell veröffentlicht, in der beide Kniegelenke von 15 Ponys mit experimentell induzierter Chondromalazie entweder mit einer Shamoperation (Kontrolle), mechanischem Debridement, mono- oder bipolarer RFE behandelt wurden ²⁶. Die Ergebnisse der Behandlungen wurden sechs Monate nach der Operation histologisch beurteilt. Zudem wurde die mechanische Steifigkeit der Gelenke gemessen. Histologisch konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen gefunden werden. Die Gelenke, die mit monopolarer RFE behandelt wurden, hatten jedoch signifikant steifere Knorpel als die der anderen Gruppen ²⁶.

Es gibt jedoch auch sehr frühe Studien, die an Patienten durchgeführt wurden. So berichten Bonutti *et al.* 2006 über eine Fallserie mit 19 Patienten, die nach einer arthroskopischen Behandlung eine Osteonekrose des Kniegelenkes entwickelten. Die Fälle wurden aus einer Literatursuche zu diesem Thema zusammengestellt. Die arthroskopische Behandlung, die zur Osteonekrose führte, war nicht in allen Fällen eine RFE-Behandlung. So bestand bei sechs dieser Patienten die arthroskopische Behandlung aus einer Laserbehandlung mit einem Holmium- oder Yttrium-Aluminium-Granat-Laser und bei drei Patienten wurden eine arthroskopische Mikrofrakturierung durchgeführt. Die übrigen zehn Patienten entwickelten eine Osteonekrose im Knie nach einer RFE-Behandlung. Alle 19 Patienten wurden mit einer anschließenden Arthroplastik behandelt ²⁷. Diese Fallserie zeigte zwar, dass eine Osteonekrose nach einer RFE-Behandlung eine mögliche Komplikation darstellen könnte, sie gibt jedoch keinerlei Auskunft über die Risikofaktoren und die Inzidenz dieser Komplikation für den Einzelnen.

1.4 Diagnose und Klassifikation der Osteoarthrose

Die Diagnose einer Osteoarthrose wird nach umfassender Anamnese aufgrund der klinischen Symptomatik und der bildgebenden Verfahren gestellt. Die am häufigsten vorkommenden Symptome sind hierbei Schmerzen, die entweder nur bei der Bewegung des Gelenks auftreten, oder dadurch stärker werden. Sie können zudem in den Stunden bis Tagen nach körperlicher Aktivität verstärkt sein ^{6, 28-31}.

Zur Beurteilung der Schwere der Erkrankung existieren verschiedene Klassifikationen Anhand der radiologischen Kriterien. Für die arthroskopische Beurteilung wird die Outerbridge-Klassifikation am häufigsten verwendet. Diese Klassifikation verwendet fünf Schweregrade der Knorpelschädigung, die folgendermaßen definiert sind:

- Grad 0 – normal
- Grad I – Knorpel mit Erweichung und Schwellung
- Grad II – Knorpelschäden mit einem Durchmesser von weniger als 1,5 cm, die nicht die gesamte Knorpeldicke betreffen und/oder Risse auf der Oberfläche, die den subchondralen Knochen nicht erreichen
- Grad III – Risse, die bis zum subchondralen Knochen reichen in einem Bereich mit einem Durchmesser von mehr als 1,5 cm
- Grad IV – freiliegender subchondraler Knochen ³²

1.5 Zielsetzung

Da die höchste Priorität des RFE-Einsatzes sein muss, den therapeutischen Effekt der Thermoablation unter dem geringsten möglichen thermischen Stress für die vitalen Chondrozyten zu erzielen, sollte auf kurzzeitige Aktivierungsphasen der RFE-Sonde geachtet werden. Zoric et al. (2009) und Huber et al. (2013) empfehlen, die RFE-Sonden nur in kurzen wechselnden An-Aus-Intervallen zu aktivieren, um einen Hitzeschaden des Gelenkes zu verhindern. Inwieweit diese Empfehlung tatsächlich verhindert, dass sich gesundes Gewebe überhitzt und eine tiefe Gewebenekrose aus der RFE-Behandlung resultiert, ist bisher für die Behandlung mit monopolarer RFE nur unzureichend untersucht. Zahlreiche Studien zeigten aber, dass lange Behandlungsdauern durchaus schädliche Gewebetemperaturen verursachen können. Zudem gibt

es Fallbeispiele, die zeigen, dass eine Osteonekrose eine mögliche Komplikation von RFE-Behandlungen am Menschen sein könnte.

Das Ziel dieser Studie war es die Empfehlung von Zoric und Huber zu überprüfen, und zu untersuchen, ob durch eine gepulste Energieabgabe weniger Chondrozyten absterben als bei der üblichen kontinuierlichen Energieabgabe. Weiterhin sollte überprüft werden, ob sich durch eine gepulste Energieabgabe der Glättungseffekt der Behandlung ändert.

1.6 Fragestellung und Hypothesen

Die folgende Forschungsfrage sollte daher im Rahmen dieser Arbeit beantwortet werden:

Welche Unterschiede bestehen in der Wirksamkeit und Sicherheit der monopolaren RFE-Behandlung zwischen gepulster und kontinuierlicher Energieabgabe?

Dazu wurden folgende spezifische Hypothesen getestet:

- H 1 Monopolare RFE mit gepulster Energieabgabe führt zu einem geringeren Anstieg der Gewebetemperaturen in unmittelbarer Nähe der RFE-Sonde im Vergleich zu kontinuierlicher Energieabgabe.
- H 2 Monopolare RFE mit gepulster Energieabgabe führt zu einer geringeren Anzahl von nekrotischen Chondrozyten als monopolare RFE mit kontinuierlicher Energieabgabe.
- H 3 Es kann kein signifikanter Unterschied im Glättungseffekt zwischen gepulster und kontinuierlicher monopolarer RFE festgestellt werden.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchsaufbau

Ein Vorversuch im Labor für experimentelle Unfallchirurgie der Uniklinik Regensburg lieferte die Ausgangsproben für die hier vorliegende Arbeit:

Hierzu wurden im Vorversuch zur Testung der verschiedenen Behandlungsmethoden zunächst neun Tibiaplateaus von frisch geschlachteten Schweinen freipräpariert (Abbildung 3, oben). Pro Plateau wurden vier Testfelder à 1 cm² markiert. Anschließend wurde zentral mittig und subchondral über ein Bohrloch unter jedem der Felder eine Temperatursonde implantiert. Bei allen Versuchen wurden Temperatursonden mit Platinchip-Sensoren (Pt 1000, TYP PCA, und 1.1505.10M; JUMO GmbH & Co KG, Fulda, Deutschland) verwendet. Die Sonden sind in der Lage, Temperaturen mit einer Genauigkeit von 0,1° Celsius und einer Messgeschwindigkeit von zwei Messungen pro Sekunde zu messen ¹⁹. Als nächstes wurde die Knorpeloberfläche mit Schleifpapier (Stärke P60) aufgeraut, mit dem Ziel, eine Oberflächenrauheit zu simulieren, die der einer OA III (Osteoarthritis Grad 3 der Outerbridge-Klassifikation) entspricht (Abbildung 3, unten und Abbildung 4).



Abbildung 3:

Oben: Präpariertes Tibiaplateau. Unten: Aufrauung der Knorpeloberfläche mit Schleifpapier (Stärke P60)

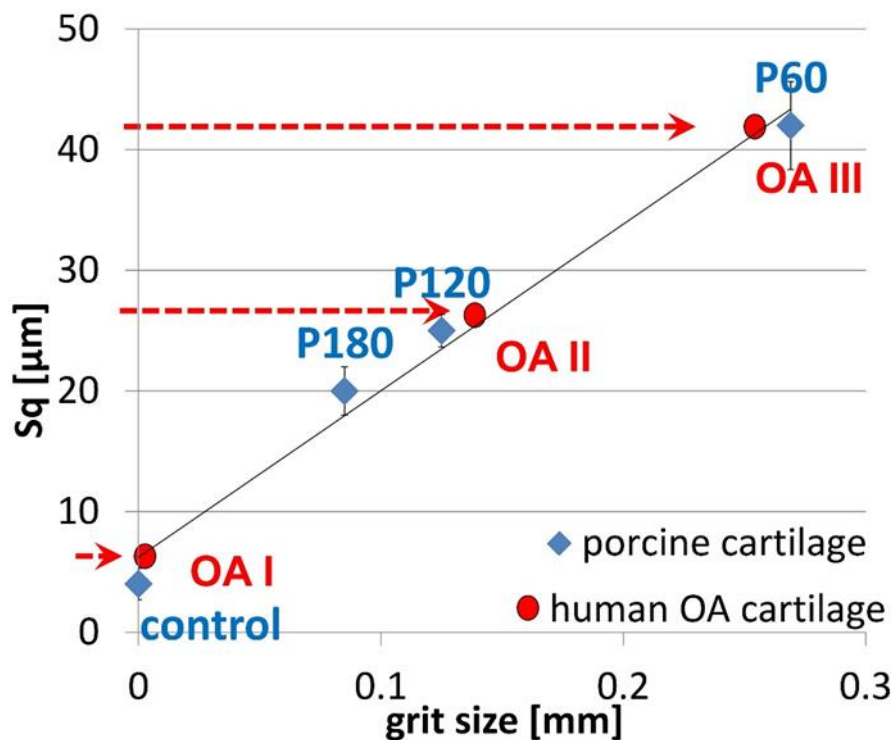


Abbildung 4:

Vergleich Schleifpapierkörnung mit OA-Graden gemäß der Outerbridge-Klassifikation ³³

Danach wurden die präparierten Tibiaplateaus bei einer Raumtemperatur von ca. 21° Celsius in einen mit 0,15 molarer NaCl-Lösung gefüllten Behälter gelegt und es wurde eine Neutralelektrode am muskulären Gewebe des Oberschenkelanteils außerhalb der Kochsalzlösung angebracht. Anschließend wurde eine Saug-Pump-Anlage zum Spülen des Lösungsbehälters angeschlossen. Die Flussrate der Spülung wurde auf 50 ml/min, bei einem Druck von 50 mm Hg, gesetzt. Das monopolare RFE-Gerät wurde auf 20 W im „Cut-Mode“ eingestellt und die zuvor auf dem Knorpel markierten Testfelder wurden mit diesen Einstellungen mit sechs verschiedenen Behandlungsmustern bearbeitet (Abbildung 5).

Diese Behandlungsmuster waren:

1. Glättung ohne Absetzen (1x bearbeitet; M1)
2. Glättung ohne Absetzen (2x bearbeitet; M2)
3. Glättung in 1s Behandlung dann 2s Pause Taktung (1x bearbeitet; M1p1)
4. Glättung in 2s Behandlung dann 2s Pause Taktung (1x bearbeitet; M1p2)
5. Glättung in 1s Behandlung dann 2s Pause Taktung (2x bearbeitet; M2p1)
6. Glättung in 2s Behandlung dann 2s Pause Taktung (2x bearbeitet; M2p2)

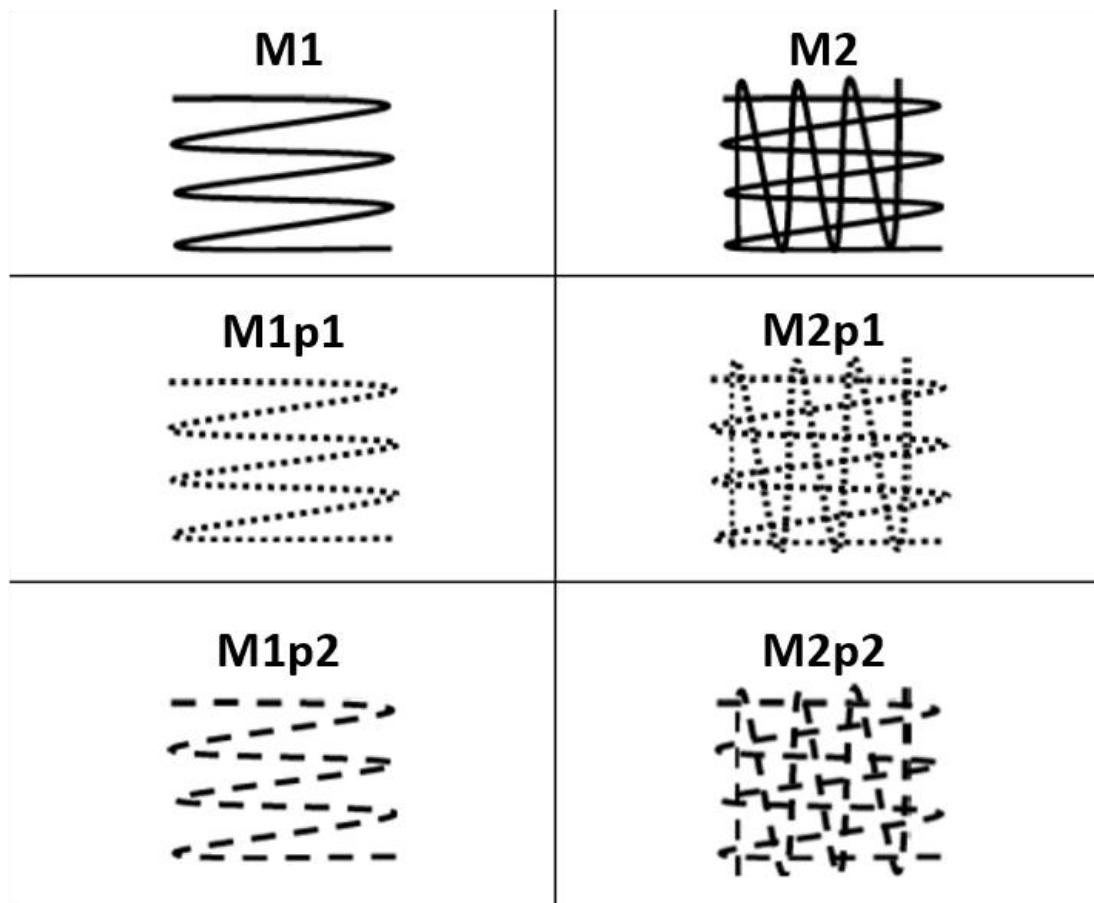


Abbildung 5:

Schematische Darstellung verschiedener in der hier vorgestellten Arbeit verwendeter monopolarer (M) Behandlungsmuster

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

Direkt im Anschluss an der jeweiligen Behandlung wurden die bearbeiteten Felder geschnitten, fixiert und gefärbt (Life/Dead- und Caspase-Färbung, siehe folgendes Kapitel).

2.2 Histologie

2.2.1 Histologische Aufarbeitung: Life/Dead- und Caspase-Färbung

Für die histologische Aufarbeitung wurde der Knorpel-Knochen-Block zunächst mit einer Bühler-Säge in 1 mm dicke Scheiben geschnitten. Diese Schnitte wurden anschließend für die Life/Dead-Färbung mit Ethidiumbromidhomodimer (13 µl/ml aus Stock) und Calcein-AM (1 µl/ml aus Stock) in RPMI-Zellkulturmedium ohne Serum für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurden die Schnitte mit PBS (eine Pufferlösung) gewaschen und anschließend für eine Stunde in Standardfixanz gelegt. Außerdem wurde eine Totkontrolle angefertigt, welche vor der Färbung 3-mal eingefroren, wieder aufgetaut und dann 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert wurde, bevor sie in die Färbelösung kam. Um die Apoptose zu detektieren, wurde zusätzlich eine Caspase-Färbung nach 24, 48 und 72 Stunden durchgeführt. Für die Caspase3/7-Analyse wurde grün fluoreszierende Cas3/7 (Molecular Probes, Thermofisher, Dreieich, Germany) mit einer Arbeitsverdünnung von 1:500 angefertigt in 10 % Fetalem Kälber Serum (FCS, PAN-Biotech, Aidenbach, Germany) und anschließend auf die Aggregate gegeben. Auch bei dieser Färbung wurden die Schnitte anschließend wieder mit PBS gespült und über Nacht inkubiert, dann fixiert.

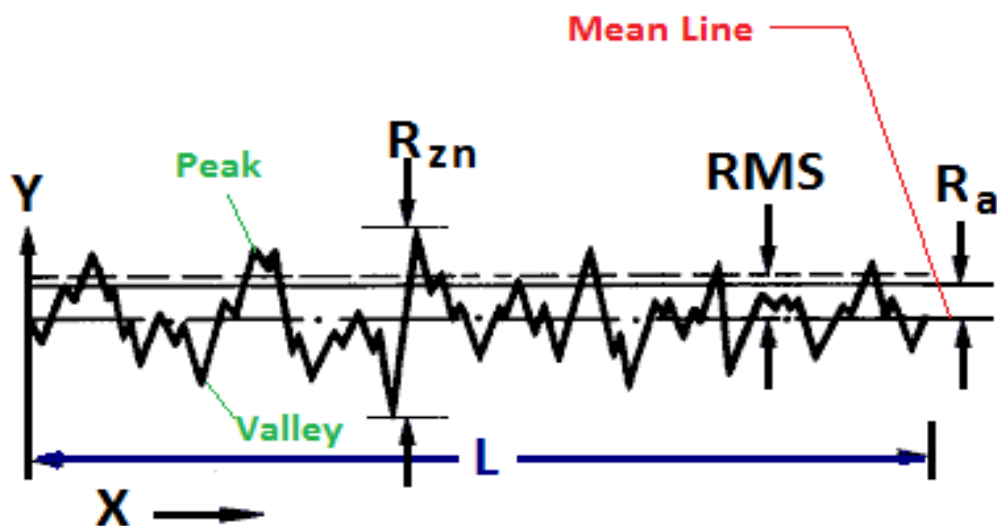
2.2.2 Silbernitratimprägnierung

Zur Beurteilung der Oberflächenrauheit der behandelten Gelenkoberflächen mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (CLSM) wurden zunächst 2-4 cm² große und ca. 3 mm dicke Explantate aus dem Tibiaplateau, die aus Knorpel mit darunterliegendem Knochengewebe bestanden, isoliert. Diese wurden über Nacht in einer 4%igen Formaldehydlösung in 0,1 M Phosphatpuffer mit 15 % gesättigter Pikrinsäurelösung und 0,1 % Triton X-100 fixiert. Nach drei Spülungen mit 0,1 M Puffer wurden die Proben wieder über Nacht in einer 2%igen wässrigen Gerbsäurelösung inkubiert und anschließend sechs Stunden in deionisiertem Wasser mehrmals gespült. Anschließend wurden die Oberflächen der Proben durch eine Inkubation in 4 % AgNO₃ in deionisiertem Wasser mit einer Silberschicht imprägniert. Die silbergefärbten Proben wurden gespült und mittels aufsteigender Acetonreihe dehydratisiert. Die letzte Inkubation erfolgte in 100 % tertiärem Butanol. Schließlich wurden die Proben in kleinen Aluminiumschalen mit flüssigem Stickstoff eingefroren und vakuumgetrocknet.

Die durch diese Technik erzielte tiefschwarze Farbe der Knorpeloberfläche ist für die CLSM-Analyse sehr gut geeignet ³³.

2.2.3 Auswertung der Proben mittels konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie

Die quantitative Auswertung der Oberflächenrauheit der verschiedenen Proben wurde mit der CLSM durchgeführt. Dazu wurde ein Olympus LEXT OLS4000 3-D-Laser-Measuring-Microscope (Olympus, Hamburg, Deutschland) verwendet. Das Regensburg Center of Biomedical Engineering (RCBE) der Fakultät Maschinenbau der OTH Regensburg stellte dies zur Verfügung. Dabei handelt es sich um eine Methode, bei der ein Objekt Schicht für Schicht via Laser durchgescannt wird und diese 2-D-Bilder dann später zu einem 3-D-Bild zusammengefügt werden ³⁴ Hierdurch lässt sich unter anderem die Oberflächenrauheit in verschiedenen Messgrößen berechnen. Die in der hier vorgelegten Studie verwendeten Messgrößen sind zum einen der arithmetische Mittelwert der Rauheit (R_a) und die quadratische Rauheit Mean Square (RMS) (Abbildung 6).



$$R_a = \frac{1}{L} \int_0^L |Y(x)| dx \qquad \text{RMS} = \left(\sqrt{\frac{1}{L} \int_0^L Y(x)^2 dx} \right)^{1/2}$$

Abbildung 6:

Grafische Darstellung von R_a und RMS mit dazugehöriger Formel ³⁵

Vor dem Scannen wurden die insgesamt 36 Proben (9 Tibia-Plateaus mit je 4 Testfeldern) unter einem Lichtmikroskop mit 10-facher Vergrößerung untersucht. Dabei wurden jeweils acht ca. 1 mm² große Flächen mit einer dünnen Kanüle zufällig markiert (Abbildung 7). Jeweils sechs dieser Flächen pro Tibiaplateau befanden sich im behandelten Anteil der Probe, eine lag im mit Sandpapier aufgerauten, aber nicht mit RFE behandelten Knorpelanteil. Die achte Fläche lag im unbehandelten gesunden Knorpelanteil.

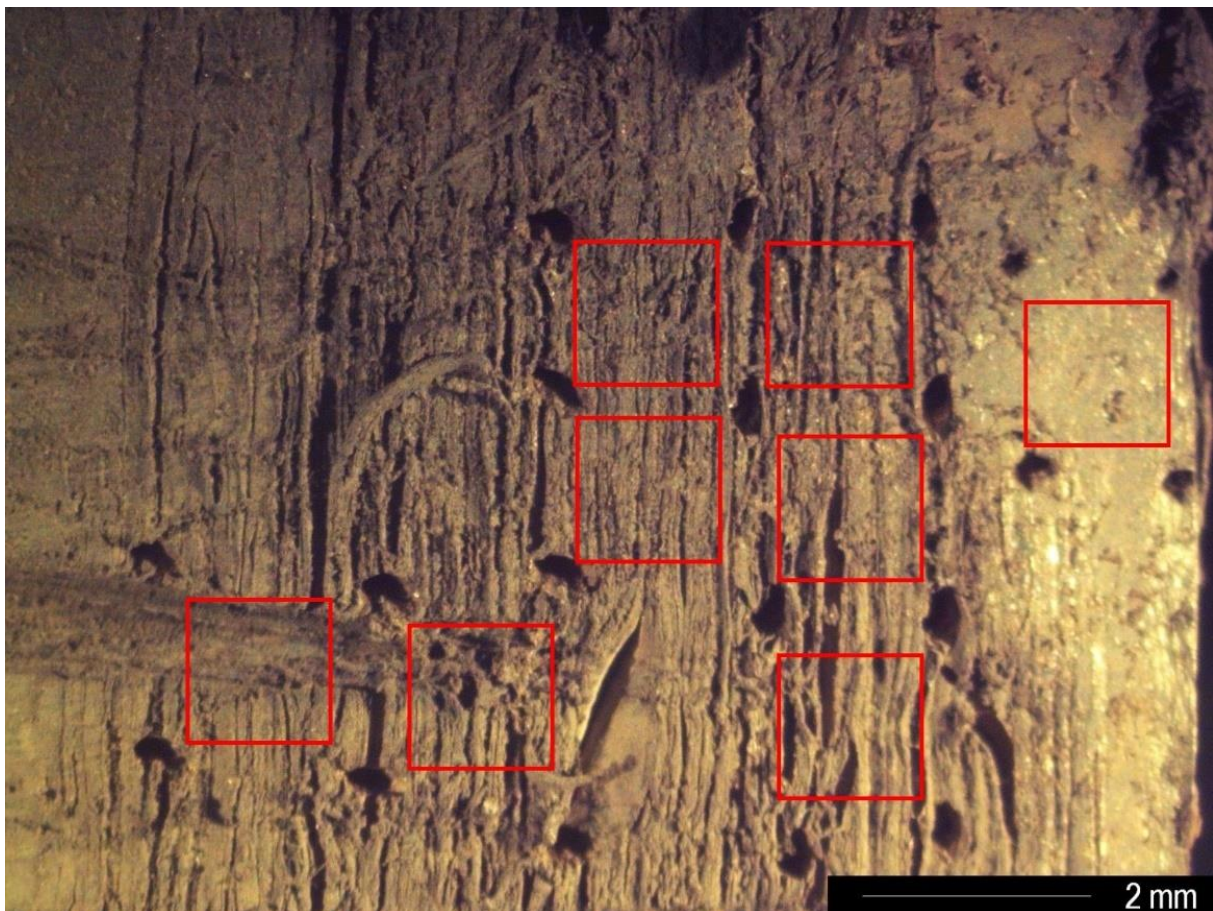


Abbildung 7:

Lichtmikroskopisches Bild einer Probe in 10facher Vergrößerung. Die roten Kästchen markieren die mit dem CLSM zu messenden Flächen

Diese Flächen wurden anschließend via CLSM gemessen und die Messwerte in einer Excel-Tabelle zusammengefasst. Je nach Rauheit der Oberfläche musste die Fläche aus vier verschiedenen Winkeln (0°, 30°, 60°, 90°) gemessen werden, weshalb insgesamt 396 Messungen vorgenommen wurden.

2.2.4 Auswertung der Life/Dead-Färbung mittels ImageJ

Die quantitative Auswertung der Life/Dead-Färbung erfolgte mithilfe der Computersoftware ImageJ (National Institutes of Health and the Laboratory for Optical and Computational Instrumentation [LOCI], University of Wisconsin). Diese Software erlaubt die prozentuale Ausmessung (% der Pixel) des Flächenanteils roter (also abgestorbener) Zellen im Vergleich zur grünen Fläche (lebende Zellen). Der Stichprobenumfang umfasste hierbei ca. 200 Bilder, der sich aus 36 Proben mit je fünf bis sechs Bildern zusammensetzte.

2.2.5 Statistik

Zur statistischen Auswertung und grafischen Darstellung der Daten wurde das Programm IBM SPSS Statistics Version 22 (IBM, Armonk, NY, USA) verwendet. In der grafischen Darstellung wurden Mittelwerte der Untersuchungsgruppen als Blockdiagramm mit Fehlerbalken dargestellt. Die Fehlerbalken entsprachen dabei dem 95%-Konfidenzintervall (CI). Die Daten wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung geprüft. Unterschiede in Mittelwerten normalverteilter Daten wurden mittels ANOVA auf statistische Signifikanz geprüft. P-Werte von $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant betrachtet.

3 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Tibiaplateauknorpel von Schweinen präpariert und mittels einer monopolen RFE-Behandlung unter Verwendung von sechs verschiedenen Behandlungsmustern behandelt. Alle Versuche wurden in neun Replikaten durchgeführt. Da die Behandlungen verschiedene ausgeführte Behandlungsmuster verwendeten, war die Behandlungsdauer für die Gruppen unterschiedlich. Die durchschnittliche Behandlungsdauer der verschiedenen Behandlungsgruppen ist in Abbildung 8 dargestellt. Dabei fällt auf, dass gepulste Behandlungen grundsätzlich länger dauerten als die kontinuierlichen Behandlungen. Die zweimalig gepulsten Behandlungen hatten dabei die längste durchschnittliche Behandlungsdauer.

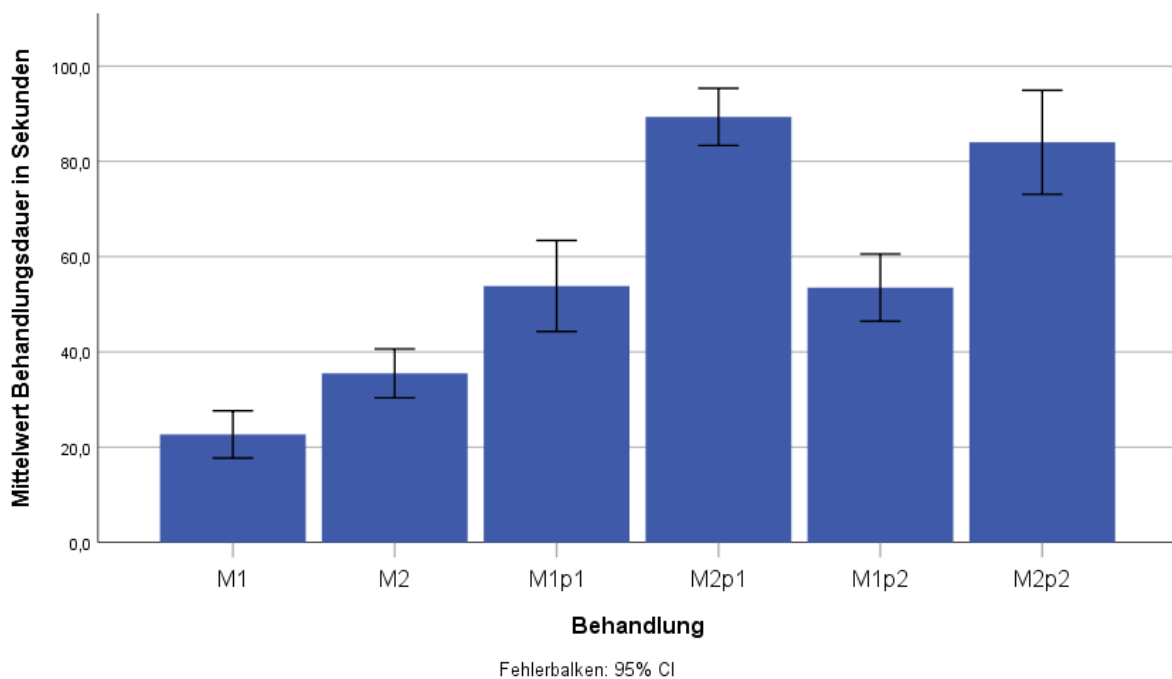


Abbildung 8:

Durchschnittliche Dauer der Behandlungen mit den unterschiedlichen Behandlungsmustern

3.1 Temperaturverlauf

Die im Knorpel gemessene durchschnittliche Temperatur blieb bei allen Behandlungsgruppen unter 30° Celsius (Abbildung 9 und

Tabelle 2). Die Maximaltemperatur war bei der zweimalig kontinuierlichen und zweimalig gepulsten Behandlung, mit 2 sec langen Pulsen, bei knapp über 30° Celsius, am höchsten. Eine ANOVA-Analyse ergab jedoch, dass die Unterschiede zwischen den Gruppen, sowohl für die Durchschnittstemperatur während der Behandlung als auch für die Maximaltemperatur mit p-Werten von jeweils $p = 0,108$ für die Durchschnittstemperatur und $p = 0,125$ für die Maximaltemperatur, nicht statistisch signifikant unterschiedlich waren.

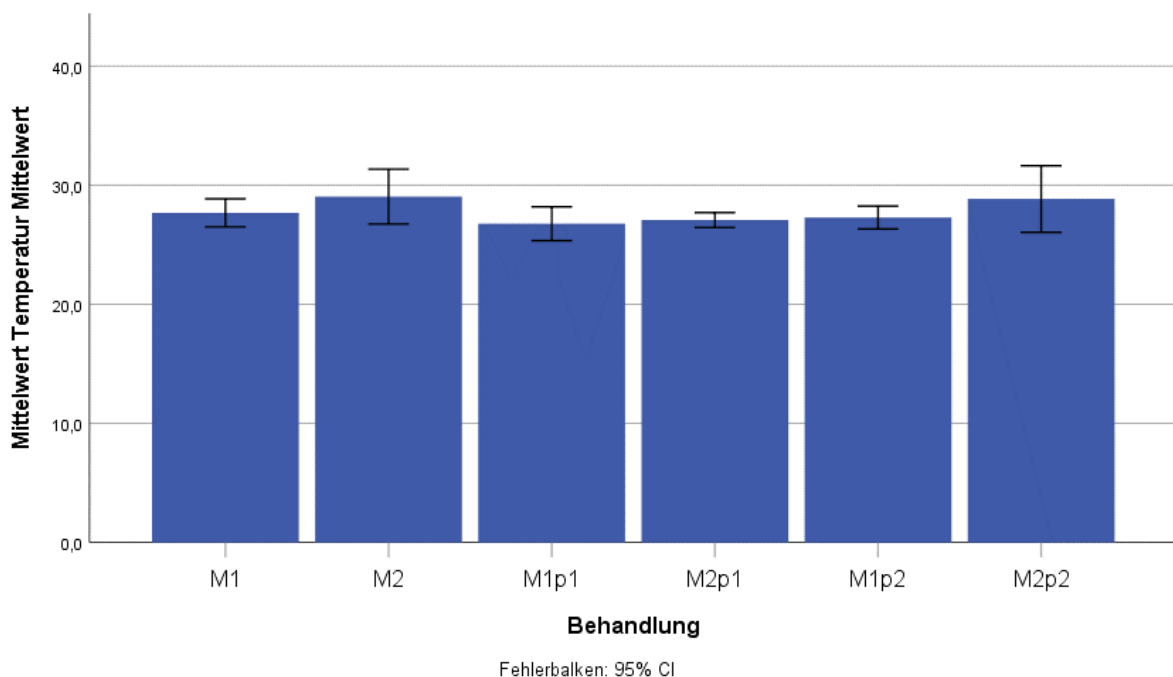


Abbildung 9:

Durchschnittliche Temperaturen im Knorpel in den verschiedenen Behandlungsgruppen

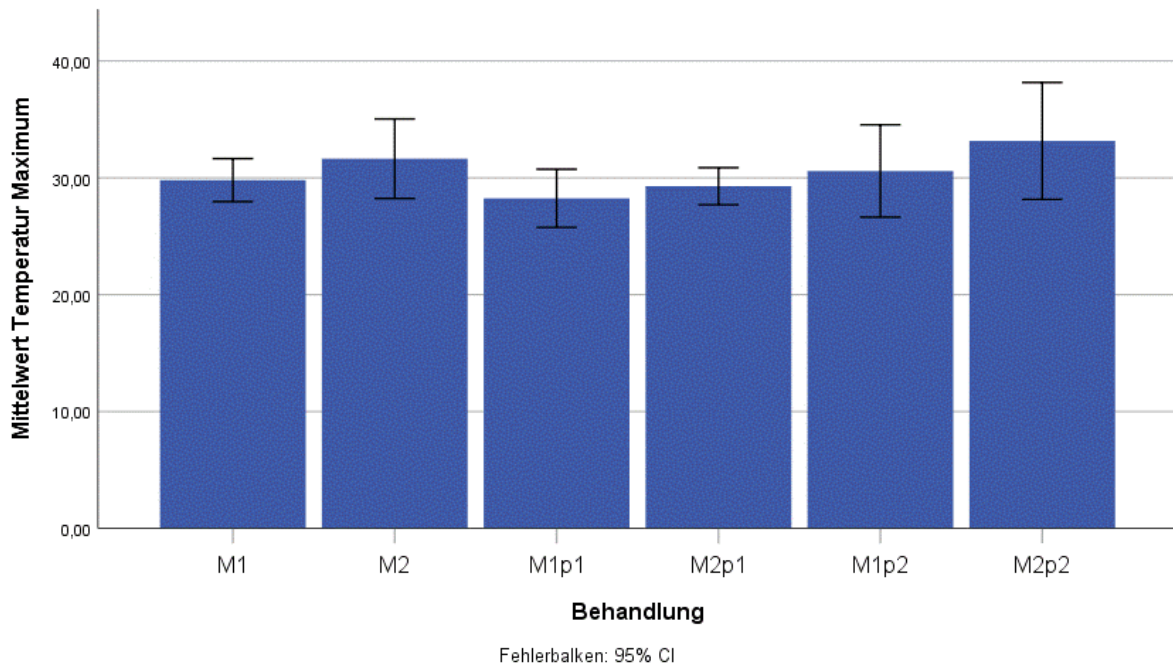


Abbildung 10:

Maximale Temperaturen im Knorpel in den verschiedenen Behandlungsgruppen. Gezeigt ist der Durchschnitt der Maximaltemperaturen der neun gemessenen Proben

Behandlung	Durchschnittliche Maximaltemperatur [°C]	Durchschnitts-temperatur [°C]	Zelltod [%]	Behandlungs-dauer [sec]
M1	29,8	27,7	85,7	23
M2	31,6	29,0	89,4	36
M1p1	28,3	26,8	72,1	54
M2p1	29,3	27,1	81,2	89
M1p2	30,6	27,3	91,1	54
M2p2	33,26	28,8	89,8	84

Tabelle 1:

Temperaturen und Behandlungsdauer verschiedener Behandlungsmuster

M1: einmalig, kontinuierlich

M2: zweimalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

3.2 Knorpelglättung

Der Einfluss der unterschiedlichen Behandlungen auf die Rauigkeit der Knorpeloberfläche, wurde mittels Lichtmikroskopie und CSLM untersucht. Zunächst wurden in allen Knorpelpräparaten die beiden Kontrollflächen, also jeweils ein unbehandeltes Knorpelareal, das als Negativkontrolle diente und ein mit Schleifpapier aufgerautes, aber nicht mit RFE behandeltes Knorpelareal, das als Positivkontrolle diente, fotografiert (Abbildung 11). Der Unterschied zwischen der unbehandelten, gesunden und daher glatten Knorpeloberfläche und der aufgerauten ist deutlich zu sehen. Die verschiedenen RFE-Behandlungen führten im Vergleich zur Positivkontrolle zu einer deutlichen Glättung der Oberflächen, die bereits in der lichtmikroskopischen Untersuchung erkennbar war (Abbildung 12).



Abbildung 11:

Lichtmikroskopische Aufnahme der Knorpeloberfläche. Links: unbehandelt, rechts: nach Aufrauung mit Schleifpapier (Stärke P60).

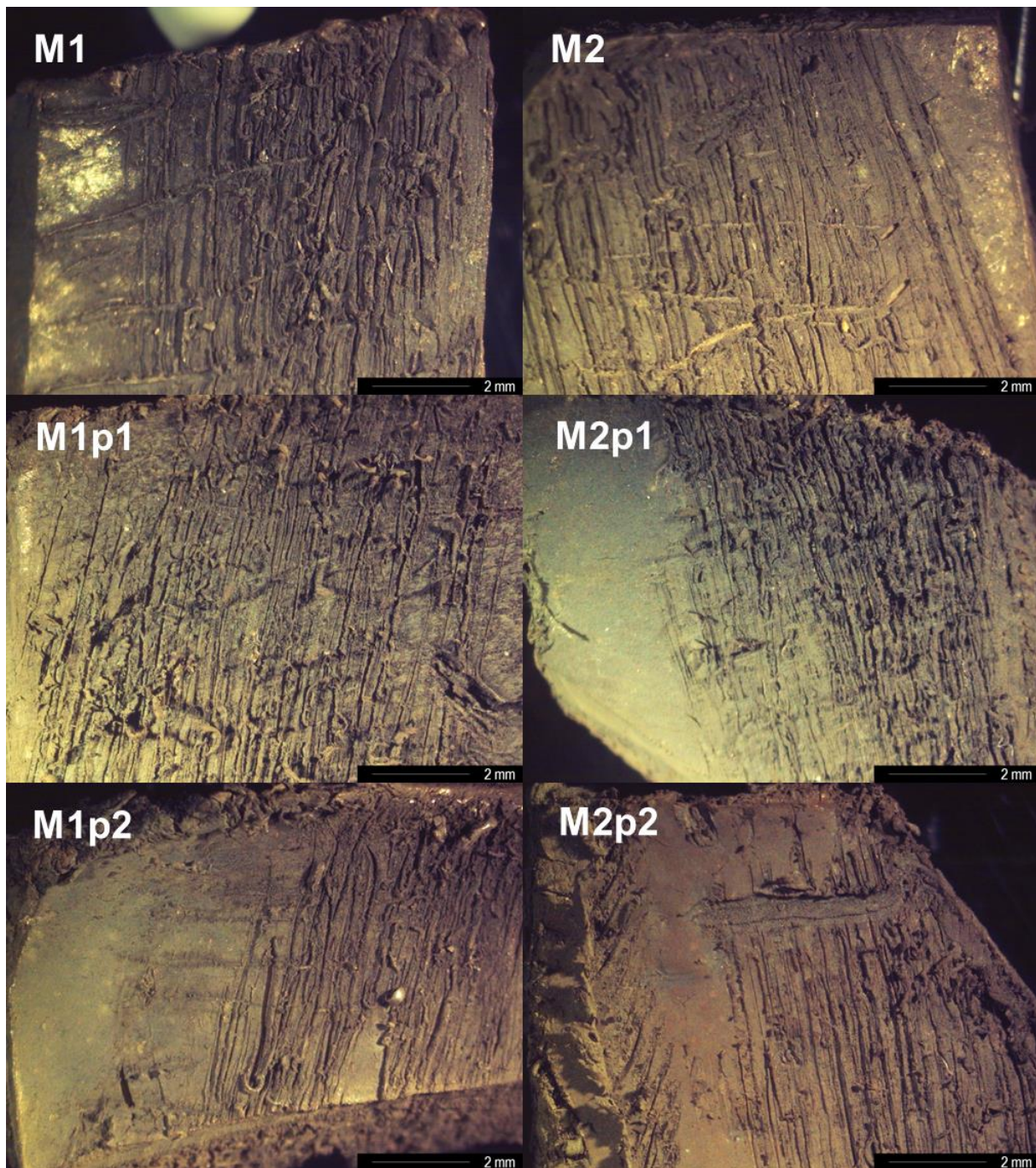


Abbildung 12:

Knorpeloberflächen nach den unterschiedlichen monopolaren RFE-Behandlungen.

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2sec

CSLM wurde verwendet, um die Oberflächenrauheit quantitativ statistisch auswerten zu können (Abbildung 13).

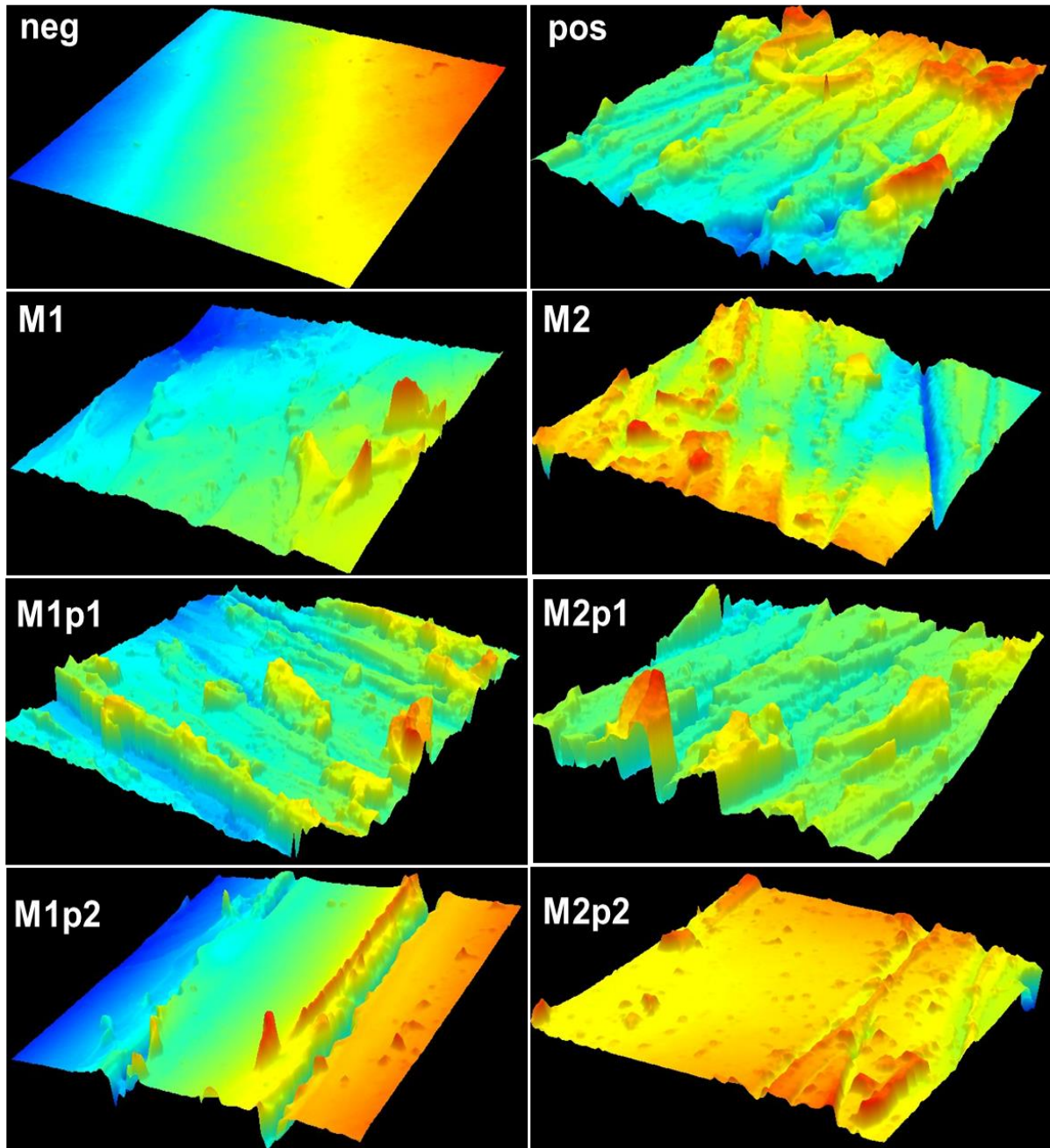


Abbildung 13:

CLSM 3-D-Bilder der Knorpeloberfläche

neg: unbehandelte Negativkontrolle

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

pos: geschliffene Positivkontrolle

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

Die Rauigkeit der behandelten Knorpel wurde dabei an jeweils an 35-36 Proben pro Behandlungsgruppe gemessen (

Tabelle 2). Die niedrigste durchschnittliche Rauigkeit wurde dabei in der M1P2-Gruppe mit 25,5 μm , die größte in der M2-Gruppe mit 34,8 μm gemessen.

Die Unterschiede bei den Messwerten waren in der M2 Gruppe mit 12,0 μm bis 63,2 μm ebenfalls am größten, wobei sich hier auch der insgesamt höchste Maximalwert, mit 63,2 μm zeigte.

Die beiden kontinuierlichen Gruppen (M1 und M2) hatten mit 31,9 μm und 34,8 μm jeweils höhere Durchschnittswerte als alle mit gepulster Energie behandelten Gruppen. Unter den gepulst behandelten Gruppen wiesen wiederum die mit ein-Sekunden-Pulsen behandelten Gruppen M1p1 und M2p1 eine höhere Rauigkeit auf als die beiden, welche mit 2-sec-Pulsen behandelt wurden.

Behandlungsgruppe	Anzahl	Durchschnittliche Rauigkeit [μm]	Standardabweichung	Minimum	Maximum
pos	30	42,9	7,2	30,6	59,8
neg	25	3,8	1,1	2,2	6,4
M1	35	31,9	9,2	14,6	48,3
M2	36	34,8	11,9	12,0	63,2
M1p1	35	30,8	10,5	12,2	51,0
M2p1	36	30,0	9,6	7,5	52,0
M1p2	35	25,5	11,0	10,0	49,2
M2p2	35	28,1	9,8	6,9	49,0

Tabelle 2:

Durchschnittliche Rauigkeit in den Behandlungsgruppen:

neg: Unbehandelte Negativkontrolle

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

pos: geschliffene Positivkontrolle

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

Die statistische Analyse zeigte, dass einige dieser Unterschiede signifikant waren. Zunächst wurde ein Test auf Normalverteilung der Rauheit der Knorpeloberfläche durchgeführt, der mit p-Werten von jeweils $p > 0,05$ ergab, dass die Ergebnisse normalverteilt waren. Ein ANOVA-Test zeigte, dass sich die Rauheit der RFE-

behandelten Knorpeloberfläche signifikant von der der unbehandelten und der der mit Schleifpapier aufgerauten Oberfläche unterschied (jeweils $p < 0,001$).

Verschiedene RFE-Behandlungsmuster unterschieden sich im Ergebnis in Bezug auf die Rauheit (Abbildung 14). So war die Rauigkeit nach einmalig kontinuierlicher Behandlung signifikant geringer als nach einmalig gepulster Behandlung; 2 sec Frequenz ($p = 0,006$). Einmalig gepulst behandelte Knorpel waren signifikant rauher, wenn sie mit einem Puls von 1 sec Länge, im Vergleich zu einem 2-sec-Puls behandelt wurden ($p = 0,024$).

Eine zweimalig kontinuierliche Behandlung resultierte jeweils in signifikant glatterem Knorpel als die zweimalig gepulste Behandlung, 1 sec Frequenz ($p = 0,034$), einmalig gepulster Behandlung, 2 sec Frequenz ($< 0,001$) oder zweimalig gepulste Behandlung, 2 sec Frequenz ($p = 0,004$).

Gruppe 1	Gruppe 2	p-Wert
M1	M2	0,21
	M1p1	0,62
	M2p1	0,40
	M1p2	0,01
	M2p2	0,10
M2	M1p1	0,08
	M2p1	0,03
	M1p2	0,02
	M2p2	0,004
M1p1	M2p1	0,73
	M1p2	0,02
	M2p2	0,25
M2p1	M1p2	0,05
	M2p2	0,42
M1p2	M2p2	0,26

Tabelle 3:

p-Werte beim Vergleich der Rauigkeit nach verschiedenen Behandlungen

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

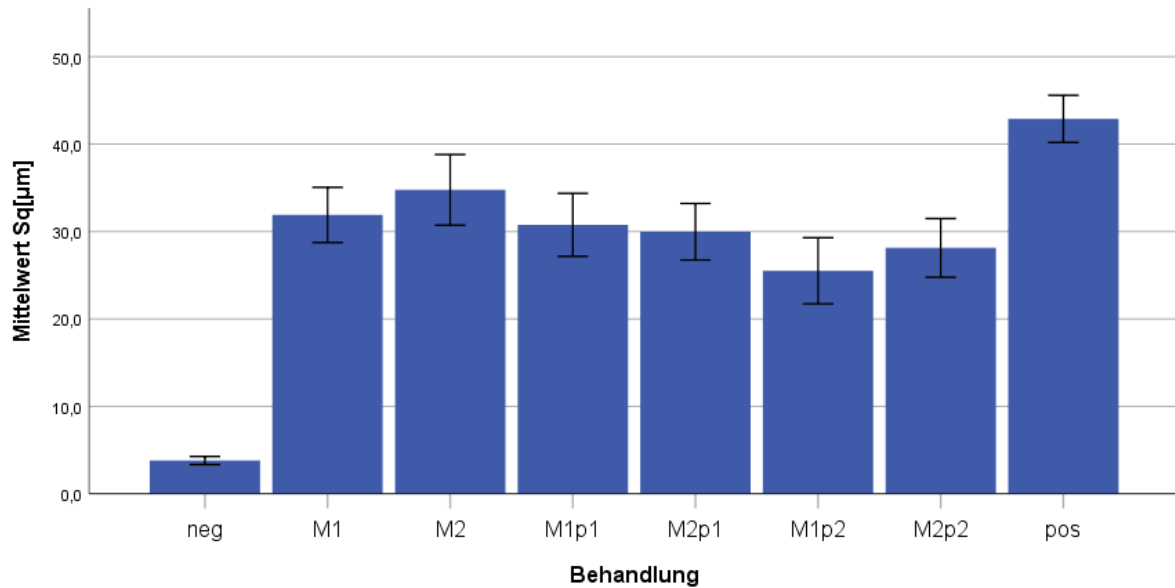
M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

kursiv = signifikant

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec



Fehlerbalken: 95% CI

Abbildung 14:

Vergleich der Rauheit der Knorpeloberfläche nach den verschiedenen Behandlungen. Der Fehlerbalken gibt das 85% Konfidenzintervall wieder

3.3 Vitalität der Chondrozyten

Die Chondrozytenvitalität wurde unmittelbar nach der RFE-Behandlung durch konfokale Mikroskopie (Nikon Eclipse E600, Kawasaki, Japan) mit Ethidiumbromid/Calcein-AM-gefärbten Knorpelproben bestimmt. In verschiedenen Proben ist eine scharfe Grenze zwischen dem Knorpel, in dem alle Zellen rot und entsprechend abgestorben erscheinen, und dem Knorpel, in dem die Zellen grün (vital) erscheinen, erkennbar (Abbildung 15). Zudem ist unter der Knorpelzellschicht, der subchondrale Knochen als dunkle Schicht mit grünen Punkten zu sehen.

Die statistische Auswertung des prozentualen Anteils von toten Zellen an der gesamten Knorpelfläche ergab, dass die Vitalität der Zellen nach der einmalig gepulsten Behandlung (M1p1), mit einer Pulsdauer von 1 sec, mit einem prozentualen Anteil toter Zellen von 72,1 %, am höchsten war (Abbildung 16 und 17;

Tabelle 2, 4 und 5).

Interessanterweise war dies auch die Behandlungsgruppe, bei der die niedrigste Maximal- und Durchschnittstemperatur gemessen wurde.

Die nächsthöchste Vitalität zeigte sich nach zweimalig gepulsten Behandlungen, mit einer Pulsdauer von 1 sec (M2p1), mit einem Anteil toter Zellen von 81,2 %. Die kontinuierliche Behandlung mit 1 sec Pulsdauer (M2) lag mit 84,4 % toten Zellen an dritter Stelle, gefolgt von der kontinuierlichen Behandlung mit 1 sec Pulsdauer (M1), mit einem Anteil toter Zellen von 85,7 % und der zweimalig gepulsten Behandlung, mit einer Pulsdauer von 2 sec (M2p2), mit 89,4 % toter Zellen.

Die einmalig gepulste Behandlung, mit 2 sec Pulsdauer (M1p2), produzierte mit 91,1 % den höchsten Anteil toter Zellen. Die statistische Analyse zeigte, dass die Gruppe der einmalig gepulsten Behandlung, mit einer Pulsdauer von 1 sec (M1p1), dabei im Vergleich zu den kontinuierlich behandelten Gruppen und den Gruppen mit gepulster Behandlung und 2 sec Pulsdauer, eine statistisch signifikant höhere Vitalität hatte (

Tabelle 2).

Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen mit 1 sec Pulsdauer (einmalig oder zweimalig, M1p1 und M1p2), jedoch waren die Vitalitätsunterschiede zwischen der zweimalig mit 1-sec-Pulsen behandelten Gruppe (M2p1) und den kontinuierlich (M1 und M2) oder mit 2-sec-Pulsen behandelten Gruppen nicht statistisch signifikant (M1p2 und M2p2). Die Vitalität der Chondrozyten war nach den anderen Behandlungsmethoden kleiner als 10 %. Unterschiede in der Vitalität der Chondrozyten, nach den anderen Behandlungen zwischen den Gruppen, waren nicht statistisch signifikant.

Eine Caspase-Färbung wurde 24 h, 48 h und 72 h nach der RFE-Behandlung durchgeführt, um die Ergebnisse zu überprüfen, und bestätigte die Resultate der Life/Dead-Färbung (Abbildung 17), dass es sich um einen unwiderruflichen Knorpelschaden handelt.

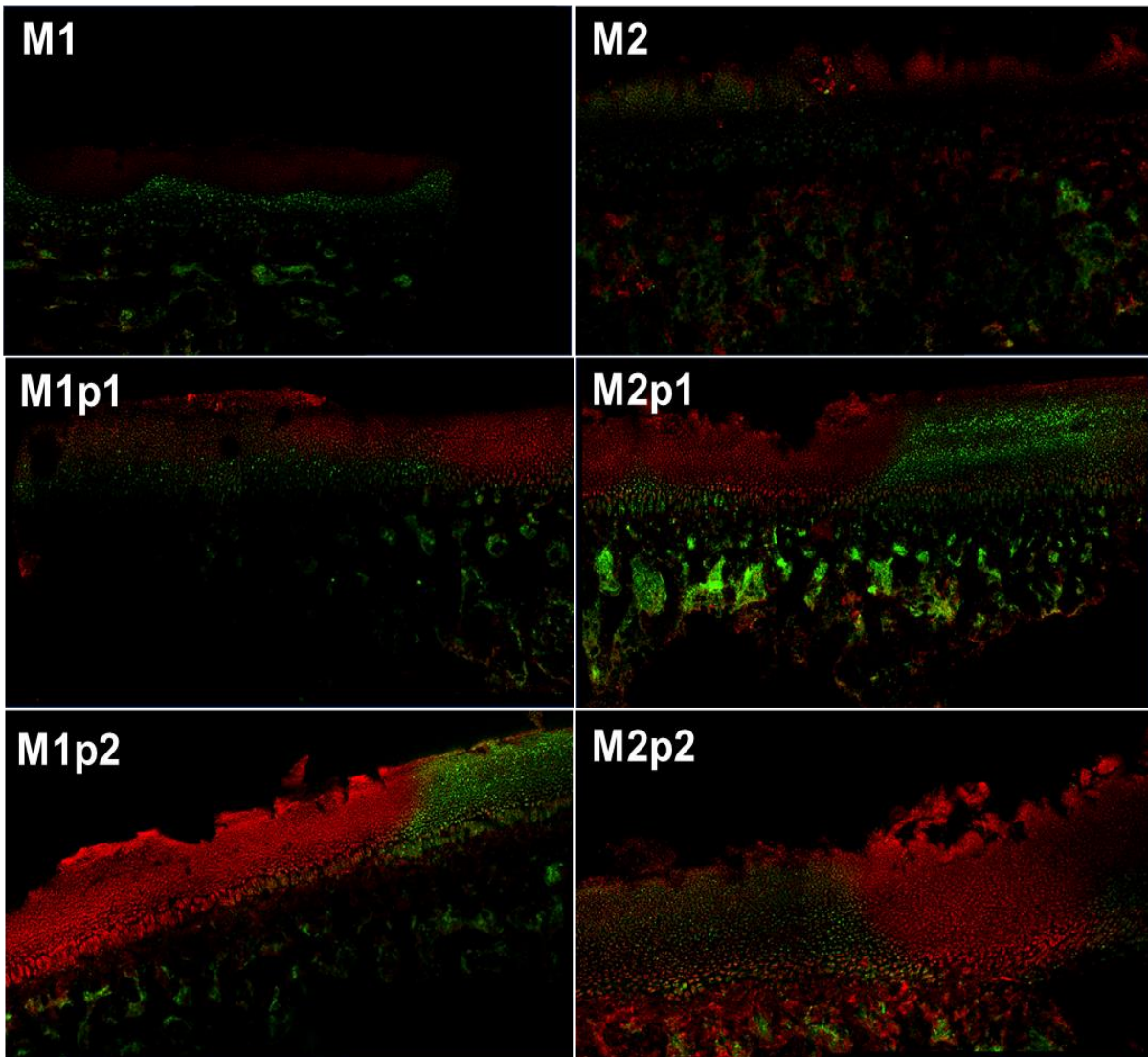


Abbildung 15:

Chondrozytenvitalität nach den unterschiedlichen monopolaren RFE-Behandlungen.

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

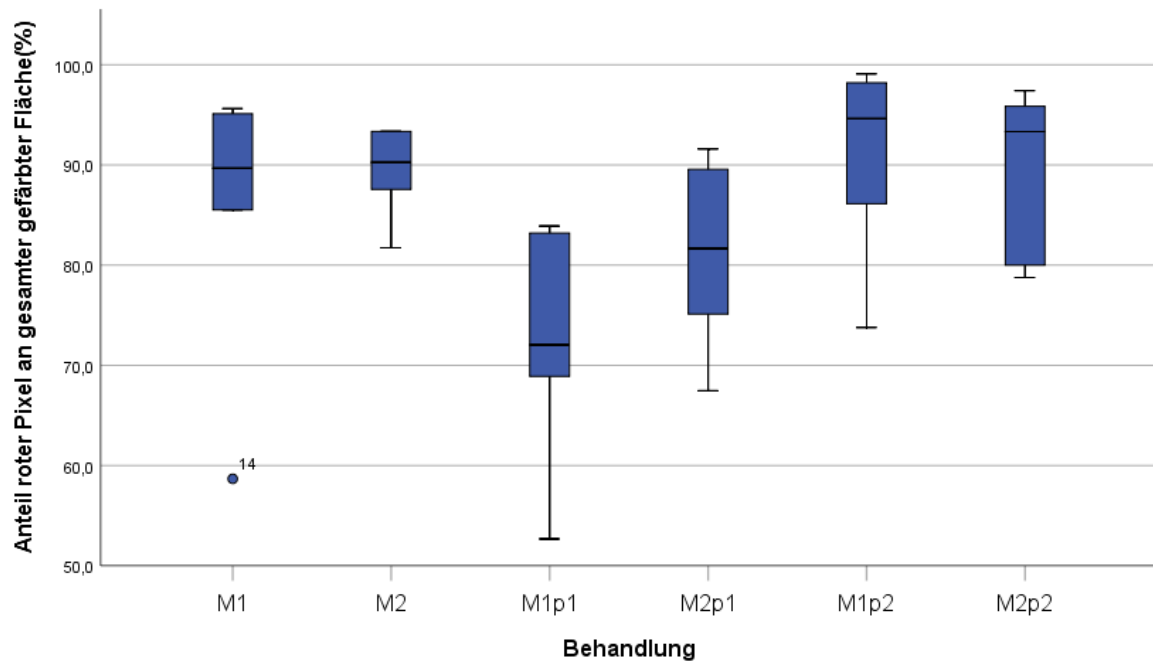


Abbildung 16:

Durchschnittlicher prozentualer Flächenanteil roter Pixel nach RFE-Behandlung.

Behandlungsgruppe	Anzahl	Zelltod [%]	Standardabweichung	Minimum	Maximum
M1	6	85,7	13,8	58,7	95,6
M2	6	89,4	4,6	81,7	93,4
M1p1	6	72,1	11,5	52,7	83,9
M2p1	6	81,2	9,0	67,5	91,6
M1p2	6	91,1	9,6	73,8	99,1
M2p2	6	89,8	8,3	78,8	97,4
Nur mit Schleifpapier behandelt	6	45,1	20,7	27,1	79,0

Tabelle 4:

Durchschnittliche Vitalität in den Behandlungsgruppen.

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

Gruppe 1	Gruppe 2	p-Wert
M1	M2	0,52
	M1p1	0,02
	M2p1	0,43
	M1p2	0,36
	M2p2	0,48
M2	M1p1	0,005
	M2p1	0,16
	M1p2	0,78
	M2p2	0,95
M1p1	M2p1	0,12
	M1p2	0,002
	M2p2	0,004
M2p1	M1p2	0,09
	M2p2	0,14
M1p2	M2p2	0,82

Tabelle 5:

p-Werte beim Vergleich der Vitalität nach verschiedenen Behandlungen.

M1: einmalig, kontinuierlich

M1p1: einmalig, gepulst 1 sec

M1p2: einmalig, gepulst 2 sec

Kursiv = signifikant

M2: zweimalig, kontinuierlich

M2p1: zweimalig, gepulst 1 sec

M2p2: zweimalig, gepulst 2 sec

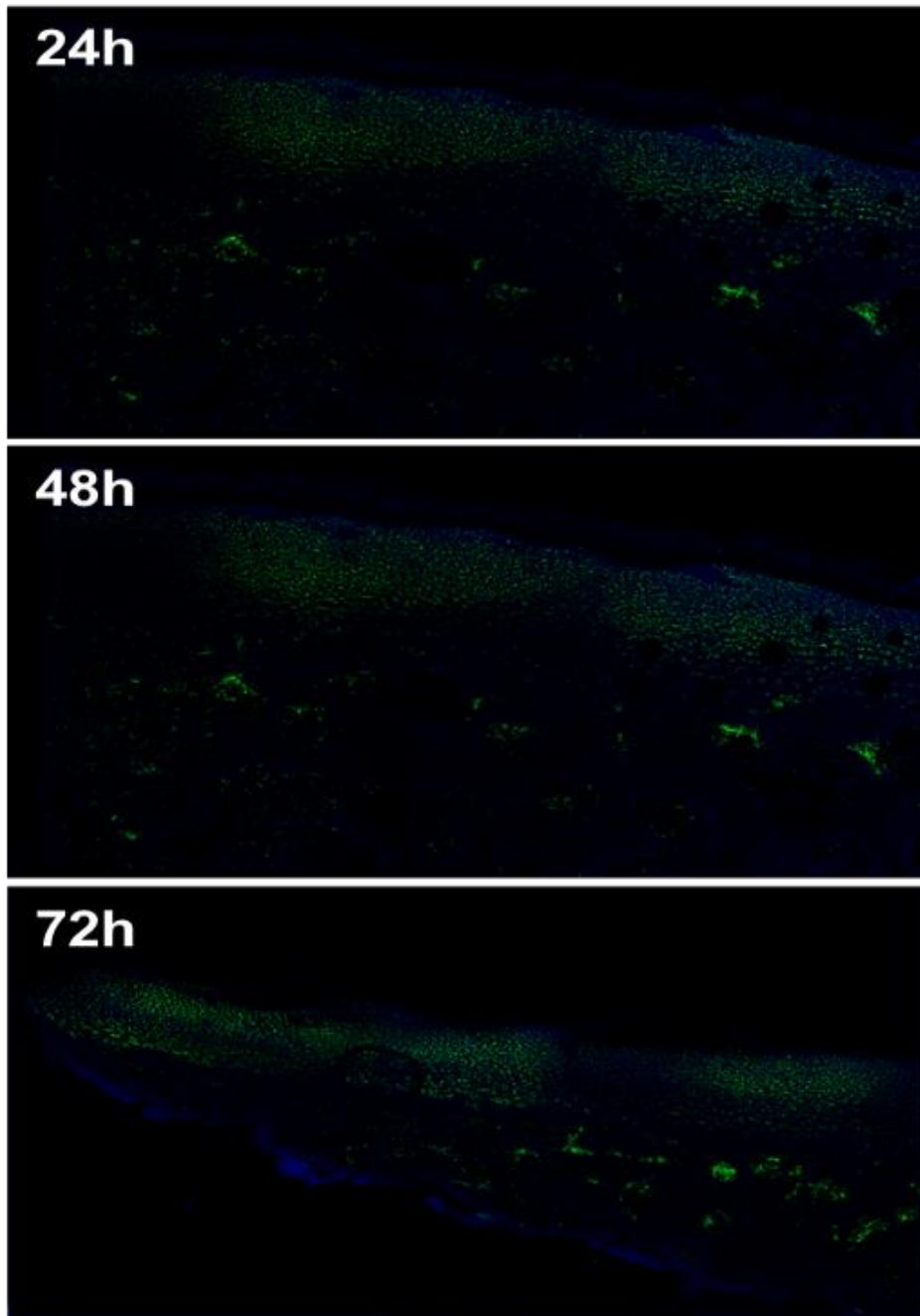


Abbildung 17:

Zeitlicher Verlauf der Chondrozytenvitalität nach einmaliger kontinuierlicher RFE-Therapie in Caspase-Färbung. Caspase-positive (tote) Zellen erscheinen hier grün.

4 Diskussion

Die Arthrose ist eine progressive degenerative Gelenkerkrankung, deren Behandlung nach wie vor schwierig ist. Es wird vermutet, dass durch eine RFE-Behandlung, die durch Degeneration instabile aufgeraute Knorpeloberfläche, wieder stabilisiert werden kann und dadurch möglicherweise für Patienten eine Schmerzlinderung und Funktionsverbesserung erreicht werden kann. Die Sicherheit und Wirksamkeit der Technik wird aber trotz intensiver Forschung und klinischer Anwendung immer noch diskutiert, insbesondere bei kleinen Gelenken. Aus diesem Grund wurde die hier vorgestellte Studie durchgeführt, die die Oberflächenrauheit und Knorpelzellaktivität nach einer Behandlung mit monopolarer Radiofrequenzenergie untersuchte. Da nicht klar ist, welches genaue Behandlungsprotokoll die besten Ergebnisse bringen kann, wurden zudem unterschiedliche Protokolle verwendet.

4.1 Temperaturverlauf

Sowohl für den Temperaturmittelwert als auch die durchschnittliche Maximaltemperatur, konnte zwischen den unterschiedlichen Behandlungsgruppen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Daraus lässt sich schließen, dass, falls solche Unterschiede zwischen den Gruppen tatsächlich existieren, diese zu klein waren, um mit der gewählten Anzahl von Replikaten (neun) und der Variabilität zwischen den Messungen, Signifikanz zu erreichen.

Verschiedene Publikationen zeigen, dass Behandlungsprotokolle mit einer längeren Behandlungsdauer und/oder einer längeren Einwirkungszeit der RFE-Sonde, sowohl zu einer höheren mittleren, als auch zu einer höheren Maximaltemperatur führen ^{14,17-19,36}.

Diese Ergebnisse konnten auch in dieser Arbeit als Trend insofern bestätigt werden, dass diese Werte bei zweimalig kontinuierlicher Behandlung, welche die längste Einwirkungszeit hatte, und bei zweimalig gepulster Behandlung mit 2-sec-Puls, welches eines der beiden Protokolle mit der längsten Behandlungsdauer war, am höchsten waren. Dies spricht dafür, dass tatsächlich Temperaturunterschiede zwischen den unterschiedlichen Behandlungsprotokollen bestehen, diese jedoch insgesamt gering sind und daher in einer Studie mit einer Stichprobe von neun

Replikaten nicht detektiert werden können. Es lässt sich dennoch die Tendenz ablesen, dass mit längerer Behandlungsdauer, die Temperatur ansteigt.

Die Ergebnisse weisen zudem darauf hin, dass die Behandlungsdauer selbst für den Temperaturverlauf von geringerer Bedeutung ist als die Einwirkungsdauer der RFE-Sonde. Dies zeigte sich darin, dass die mittlere und maximale Temperatur in der Gruppe mit der längsten Behandlungsdauer, nämlich den zweimalig mit 1 sec langen Pulsen behandelten Knorpelpräparaten (M2p1), jeweils niedriger war als in den Gruppen mit kontinuierlicher Behandlung (M1 und M2).

In keiner der Knorpelproben wurde eine Temperatur gemessen, die über der normalen Körpertemperatur von 37° Celsius lag und damit ist es unwahrscheinlich, dass die in der Umgebung der Temperatursonden liegenden Knorpelzellen durch die Behandlung einen Hitzeschaden erlitten.

Die Ergebnisse der Vitalitätsuntersuchung zeigten jedoch einen hohen Anteil toter Zellen, besonders in weiter oben gelegenen und näher an der RFE-Sonde liegenden Knorpelschichten. Dennoch zeigte sich insbesondere in der Gruppe mit einmalig gepulster Behandlung mit 1-sec-Pulsen (M1p1), dass von diesem Hitzeschaden nicht die gesamte Knorpeldicke betroffen war und sich der Hitzeschaden insgesamt, im Vergleich zu den kontinuierlichen Behandlungen (M1 und M2), durch die diskontinuierliche Energieabgabe der RFE-Sonde reduzieren lässt.

Wegen der bekannten Bedenken in Bezug auf das Risiko von Hitzeschäden an Chondrozyten durch RFE-Behandlung, gibt es in der Literatur eine Reihe von Untersuchungen, die ebenfalls Temperaturen im Knorpel und anderen Geweben, während einer RFE-Behandlung gemessen haben. Eine der ersten Studien zu diesem Thema wurde im Jahr 2001 veröffentlicht ³⁷. Dabei wurden die Temperaturen in der Gelenkkapsel gemessen. Die RFE-Behandlung in dieser Studie diente jedoch nicht der Glättung des Knorpels im Gelenk, sondern der Schrumpfung des Kapselgewebes durch Hitzeeinwirkung.

Dabei wurde das Gewebe mittels mono- oder bipolarer RFE, mit Einwirkungsauern von 1, 2, 3, 4, 5 oder 10 Sekunden, behandelt. Die hierbei erreichten Temperaturen waren weitaus höher als in der hier vorgestellten Studie und erreichten zum Teil über 90° Celsius sowohl bei der monopolen als auch bei der bipolaren RFE-Behandlung.

Da im Vergleich zu der hier vorgestellten Studie auch bei kurzen Einwirkzeiten von 1 und 2 sec, Temperaturen über 40° Celsius gemessen wurden, ist es möglich, dass dieser Unterschied dadurch verursacht wurde, dass die Temperatur in der Studie von Shellock und Mitarbeitern (2001) näher an der Probe gemessen wurde, oder, dass sich das Kapselgewebe in Bezug auf Wärmeleitung grundsätzlich anders verhält als Knorpel^{38–40}. Neuere Untersuchungen bestätigen, dass die Maximaltemperatur von der Einwirkzeit der RFE abhängt und mit der Entfernung von der Sonde rapide abnimmt^{17,36}.

Edwards et al. untersuchten dagegen in einer Studie, die im Jahr 2002 veröffentlicht wurde, wie in der hier vorgestellten Studie, die Temperaturen direkt im Knorpel¹⁴. Das Ziel ihrer Studie war dabei der Vergleich der Temperaturen während monopolarer und bipolarer RFE-Behandlung. Dazu wurden vor der Behandlung Temperatursonden in unterschiedlichen Tiefen im Knorpel angebracht. In allen drei Knorpeltiefen waren die gemessenen Temperaturen bei der bipolaren Behandlung signifikant höher als bei der monopolarer Behandlung. Dabei wurden während einer 20-sec-kontinuierlichen RFE-Behandlung bei der bipolaren Behandlung, in einer Tiefe von 200 und 500 µm, jeweils Temperaturen von 95 bis 100° Celsius gemessen. In einer Tiefe von 2000 µm war die Temperatur bei der bipolaren Behandlung noch immer um die 75° Celsius. Bei der monopolarer Behandlung dagegen waren die Temperaturen signifikant geringer. So wurden in einer Tiefe von 200 und 500 µm 75 bis 78° Celsius gemessen. An der 2000 µm tiefen Messstelle wurden sogar nur Temperaturen zwischen 28 und 30° Celsius gemessen. Dies deckt sich sehr gut mit den in der hier vorgestellten Studie gemessenen Temperaturen, die ebenfalls ungefähr in einer Tiefe von 2 mm gemessen wurden.

Die Untersuchung der Faktoren, die die intraartikuläre Temperatur während einer RFE-Behandlung beeinflussen, war das Ziel einer Studie von Zoric und Mitarbeitern aus dem Jahr 2009²². Wie erwartet sind eine längere Einwirkungszeit sowie eine geringere Distanz zur Probe die wichtigsten Einflussfaktoren bezüglich der Temperatur, was sich zumindest in Bezug auf die Einwirkzeit mit den Daten der hier vorgestellten Studie deckt. Der Einfluss des Abstandes zwischen der Probe und der Temperatursonde auf die jeweils gemessene Temperatur wurde in der hier vorliegenden Studie nicht untersucht.

Die Studie von Huber und Mitarbeitern aus dem Jahr 2013, in der eine RFE-Behandlung an 17 Handgelenken von Leichen mit monopolarer oder bipolarer Sonde und mit und ohne Kühlungsspülung durchgeführt wurde, kam ebenfalls zu ähnlichen Ergebnissen ¹⁹.

In einer Folgestudie konnte dieselbe Forschungsgruppe jedoch zeigen, dass bei bipolarer Behandlung des Handgelenkes in unmittelbarer Nähe der Sonde Temperaturen um die 70° Celsius, bei kontinuierlicher Kühlungsspülung, existieren können, was Hitzeschäden an den Chondrozyten verursachen kann. Bei monopolarer Behandlung wurden noch immer Spitzentemperaturen von knapp unter 50° Celsius gemessen ¹⁷.

4.2 Knorpelglättung

In dieser Studie zeigten sowohl konventionelle lichtmikroskopische Aufnahmen als auch die CLSM eine deutliche Glättung des Knorpels im Vergleich zur Positivkontrolle für alle Behandlungsgruppen. Die Wirksamkeit der Behandlung zeigte sich auch darin, dass dieser Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen und der Positivkontrolle statistisch signifikant war. Dennoch war die Knorpeloberfläche in allen Behandlungsgruppen nach der Behandlung noch immer signifikant rauher als in der Negativkontrolle. Eine vollkommene Glättung des Knorpels, die den Zustand des gesunden Knorpels entspricht, ist damit mit dieser Methode und den untersuchten Behandlungsalgorithmen nicht erreichbar. Dennoch kann zusammen mit, wie in anderen Studien gezeigten, zusätzlichen Wirkungen der RFE-Behandlung, wie beispielsweise einer Reduktion von lokal ausgeschütteten inflammatorischen Signalmolekülen, klinisch eine Reduktion der chronischen Entzündung und damit verbundenen Schmerz- und Steifheitssymptomatik der Gelenke erreicht werden ⁴¹.

Das Ziel der hier vorliegenden Studie war es, unter anderem neben der Untersuchung der Sicherheit bestimmter Behandlungsmethoden, auch zu evaluieren, welches Behandlungsprotokoll die beste Wirksamkeit in Bezug auf die Glättung des Knorpels hat. Der Vergleich der Gruppen zeigte, dass nach den kontinuierlichen Behandlungen der Knorpel am rauesten war, gefolgt von den gepulsten Behandlungen mit einer Pulsdauer von 1 sec. Die Behandlungen mit 2 sec Pulsdauer zeigten den stärksten Effekt in Bezug auf die Knorpelglättung. Hierbei war jedoch nur die einmalig gepulste

Behandlung mit 2 sec Pulsdauer im Vergleich zu den anderen Behandlungsgruppen signifikant glatter, da die zweimalig gepulste Behandlung mit 2 sec Pulsdauer einem ähnlichen Trend folgte und sich zudem nicht signifikant im Ergebnis von dem der einmaligen Behandlung mit 2 sec Pulsdauer unterschied. Hieraus kann geschlossen werden, dass nur aufgrund von geringen Unterschieden und geringer Stichprobengröße hier keine Signifikanz im Vergleich zu den anderen Behandlungsgruppen erreicht wurde. Insgesamt lässt sich jedoch sagen, dass die einmalig gepulste Behandlung mit 2 sec Pulsdauer den besten Effekt in Bezug auf die Knorpelglättung erzielte.

In der Literatur existieren zwar einige Studien zum Glättungseffekt von RFE-Behandlungen auf den Knorpel, es gibt jedoch nur wenige Studien, die einen direkten Vergleich zwischen verschiedenen Behandlungsprotokollen durchführten. Zudem sind die Ergebnisse in manchen Studien, im Vergleich zu anderen, widersprüchlich. So fanden Lu und Mitarbeiter in einer tierexperimentellen Studie mit Schafen keinen Benefit einer monopolen RFE-Behandlung in Bezug auf die Glättung des Knorpels¹⁶. Sie konnten dagegen eine dauerhafte Schädigung an den Chondrozyten nachweisen. Da diese Studie jedoch nur angab, dass die Probe mit einer Einstellung von 55° Celsius / 15 W verwendet wurde, jedoch nicht welches genaue Behandlungsschema und welche Behandlungsdauer, ist es schwierig, diese Ergebnisse mit denen der hier vorliegenden Studie zu vergleichen. Zudem war die Studie von Lu und Mitarbeitern eine tierexperimentelle Studie, mit einer Beobachtungszeit von bis zu 24 Wochen, während in der hier vorliegenden Studie die Chondrozytenvitalität nur bis zu 72 Stunden nach der Behandlung untersucht wurde.

In einer ähnlichen Studie derselben Arbeitsgruppe, die jedoch anstatt der monopolen RFE-Behandlung eine bipolare Behandlung einsetzte, konnte dagegen eine signifikante Glättung der Knorpeloberfläche detektiert werden¹⁵.

Hierbei wurden zwei verschiedene bipolare Sonden und jeweils drei verschiedene Energiestufen eingesetzt. Leider wurden jedoch auch in dieser Studie die weiteren genauen Behandlungsparameter nicht angegeben, weswegen es ebenfalls schwierig ist, diese Ergebnisse mit der hier vorliegenden Studie zu vergleichen.

Eine weitere Studie dieser Arbeitsgruppe wurde als *In-vitro* Studie konzipiert¹³. Dabei wurde explantierter menschlicher Knorpel als Studienobjekt verwendet, der aus

Operationen stammte, bei denen eine Kniegelenktotalendoprothese oder eine partielle Knieprothese eingesetzt wurde. Das Ziel dieser Studie war es, zu untersuchen, welchen Einfluss die Behandlungsdauer auf die Chondrozytenvitalität und die Knorpelglättung hat. Es wurde sowohl eine monopolare als auch eine bipolare Behandlung durchgeführt.

Die Ergebnisse der Studie deuten an, dass für eine Rettung der Knorpeloberfläche eine Behandlungsdauer von mindestens 15 sec erreicht werden muss. Um dieses Ergebnis auf andere Studien übertragbar zu machen, hätte jedoch die Sondengeschwindigkeit oder die Größe der behandelten Fläche und das Behandlungsmuster angegeben werden müssen, was leider nicht der Fall war.

Barber und Iwasko untersuchten die Langzeiteffekte einer monopolaren RFE-Behandlung, die zusätzlich zu einer mechanischen Glättung des femoralen Knorpels im Kniegelenk bei 30 Patienten angewandt wurde⁴². 30 Patienten, die lediglich mit der mechanischen Glättung behandelt wurden, dienten als Kontrolle. Die Rauheit des Knorpels wurde jeweils vor der Operation und zwölf Monate nach der Operation mittels Magnetresonanztomographie (MRT) bestimmt. Die Gruppen hatten im Durchschnitt zwölf Monate nach der Operation einen signifikant glatteren femoralen Knorpel. Jedoch war kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen detektierbar. Damit schien die RFE-Behandlung keine zusätzliche Wirkung zu haben.

Im Vergleich zu der hier vorliegenden Studie, ist das Studiendesign vollkommen unterschiedlich. Nicht nur die Dauer der Beobachtungszeit und die Tatsache, dass die Studie von Barber und Iwasko (2006) eine In-vivo-Studie war, unterscheidet die Studie von der hier vorliegenden Studie. Es gab zudem keine unbehandelte Negativkontrolle oder eine Positivkontrolle. Stattdessen wurden beide Vergleichsgruppen einer mechanischen Behandlung unterzogen. Es ist möglich, dass eine Glättung des Knorpels durch therapeutische Eingriffe nur bis zu einem bestimmten Punkt möglich ist. Falls ein solches Plateau existiert und dieses bereits durch die mechanische Glättung erreicht werden sollte, würde eine weitere Behandlung mit monopolarer RFE keine weitere Glättungswirkung haben.

Dies könnte erklären, warum die RFE-Behandlung in der Studie von Barber und Iwasko keine Wirkung auf die Rauheit des Knorpels hatte, die allerdings im MRT nur indirekt untersucht werden kann, während in der hier vorliegenden Studie ein Glättungseffekt

eindeutig gezeigt werden konnte. In einer Tiermodellstudie bei der behandelte Gelenke 18 Monate nach einer RFE oder mechanischen Glättung untersucht wurden, zeigten sich in den RFE-behandelten Gelenken schlechtere histologische Parameter als in den unbehandelten oder mechanisch geglätteten Bereichen und abgestorbene Chondrozyten waren über die gesamte Knorpeldicke nachweisbar²⁵. In einer anderen Tierstudie zeigten sich dagegen bessere Ergebnisse mit einer bipolaren RFE-Behandlung als mit einer mechanischer Glättung⁴⁰

In einer ebenfalls im Jahr 2006 veröffentlichten *In-vitro* Studie zeigten Yasura et al. einen signifikanten Glättungseffekt einer RFE-Behandlung²⁴. Die Autoren verwendeten dazu fünf verschiedene monopolare RFE-Sonden, die mit einer Kontaktkraft von 2 g den zu behandelnden Knorpel berührten. Die Energieabgabe erfolgte bei stationärer Sonde entweder für eine Sekunde oder drei Sekunden. Eine Kontrollgruppe wurde ebenso behandelt, jedoch war hier die Sonde 1 mm über dem Knorpel ohne Berührung platziert. Signifikante Glättung konnte nur bei einem Knorpelkontakt detektiert werden. Die Behandlung hatte keinen Einfluss auf die Steifheit des Knorpels oder seine Dicke. Biochemische Untersuchungen zeigten, dass die Konzentration von knorpeldegradierenden Metalloproteinasen nach der Behandlung geringer war. Zwar zeigte diese Studie, genauso wie die hier vorliegende Studie, einen signifikanten Glättungseffekt, ein Vergleich mit der hier vorliegenden Studie ist jedoch wegen der unterschiedlichen Behandlungsparameter schwierig.

4.3 Vitalität der Chondrozyten

Die Untersuchung der Vitalität der Chondrozyten zeigte, dass die RFE-Behandlung einen großen Teil der Chondrozyten abtötete. Dennoch war ein statistisch signifikanter Unterschied zur Totkontrolle, in der alle Chondrozyten tot waren, zu detektieren. Auch beim Gruppenvergleich zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen.

Der größte Anteil lebender Zellen wurde dabei bei den beiden gepulsten Gruppen festgestellt, die mit Pulsen von 1 sec behandelt wurden. Die einmalig gepulste Behandlung mit 1 sec Puls (M1p1) hatte dabei insgesamt die höchste Vitalität. Dies korreliert mit dem Temperaturverlauf, da in dieser Gruppe sowohl die geringste Maximaltemperatur als auch die geringste Durchschnittstemperatur gemessen

wurden. Auch für die anderen Gruppen zeigte sich eine ähnliche Korrelation zwischen Maximaltemperatur und Durchschnittstemperatur, sowie Vitalität der Zellen.

Die Life-Dead-Aufnahmen zeigten dabei, dass die gesamte Dicke der Knorpelschicht schon von dem, durch die RFE-Behandlung verursachten Vitalitätsverlust, betroffen war. Teilweise waren auch im unterliegenden Knochen tote Osteozyten zu sehen. Aus dieser Schädigung der behandelten Zellen, ergeben sich Sicherheitsbedenken für diese Behandlungsmethode, die trotz zahlreicher Studien zu diesem Thema noch immer nicht vollständig gelöst sind.

Eine frühe Studie untersuchte den Effekt der Behandlung mit zwei unterschiedlichen bipolaren RFE-Sonden ²³. Bei dieser In-vitro Studie wurden die Sonden jeweils unter leichtem Kontakt mit einer Geschwindigkeit von 3-4 mm/sec auf dem Knorpel in bovinen Kniegelenken entlang bewegt. Eine Analyse der Life-Dead-Aufnahmen des Knorpels im Querschnitt und eine Analyse der metabolischen Aktivität wurden durchgeführt, um die Vitalität der Knorpelzellen zu untersuchen.

Tote Zellen waren mit den beiden verschiedenen Proben bis zu einer unterschiedlichen Tiefe detektierbar, nämlich bis durchschnittlich 172 µm mit der 2,5mm/90-Grad-Sonde (ArthroCare, Sunnyvale, CA, USA) und bis durchschnittlich 109 Mikrometer mit der ACD-50-Sonde (ArthroCare, Sunnyvale, CA, USA). Die metabolische Aktivität der Chondrozyten, die außerhalb der behandelten Zone lagen, veränderte sich durch die RFE-Behandlung nicht. Beide Eindringtiefen waren somit geringer als in der hier vorgestellten Studie, in der die gesamte Knorpeldicke betroffen war. Dies ist wahrscheinlich eher auf Unterschiede in der Energieabgabe und der Einwirkzeit zurückzuführen, als darauf, dass in der hier vorliegenden Studie eine monopolare Behandlung durchgeführt wurde, während in der Studie von Amiel und Mitarbeitern eine bipolare Behandlung vorgenommen wurde, da verschiedene Studien bereits zeigen konnten, dass bei sonst vergleichbaren Behandlungsparametern eine monopolare Behandlung zu einem geringeren Temperaturanstieg und damit aller Wahrscheinlichkeit nach zu einem geringeren Vitalitätsverlust führt als eine bipolare Behandlung ^{14,17,19,37}.

Die oben bereits vorgestellte In-vitro Studie von Caffey und Mitarbeitern, in der verschiedene Sonden unter leichter Berührung des Knorpels jeweils 1 oder 3 sec lang stationär Energie abgaben, evaluierte neben der Knorpelglättung auch den Effekt der

Behandlung auf die Vitalität der Zellen ²⁰. Behandlungsparameter, die zu keiner Knorpelglättung führten (Behandlung in einer Entfernung von einem Millimeter von der Knorpeloberfläche) hatten dabei keinen Effekt auf die Vitalität, wobei bei der Verwendung einer monopolen Sonde, in diesem Fall ohne Gewebeberührung, auch kein Strom fließt, da der Stromkreis unterbrochen ist.

Dagegen hatten alle Behandlungen, die auch eine Knorpelglättung hervorrufen konnten, einen signifikant negativen Effekt auf die Chondrozytenvitalität. Dabei wurde eine Nekrose bis zu einer Knorpeltiefe von knapp 1300 µm festgestellt, ohne signifikante Unterschiede in Abhängigkeit davon, ob eine monopolare oder eine bipolare Sonde verwendet wurde. Diese Werte sind etwas geringer als in der hier vorgestellten Studie, was wahrscheinlich auf die punktuelle Energieabgabe zurückzuführen ist, die deutlich kürzer war als die, in der hier vorgestellten Studie, verwendeten Behandlungsprotokolle.

Die in manchen Life-Dead-Aufnahmen sichtbare Nekrose der subchondralen Osteozyten könnte ein Hinweis darauf sein, dass bei einer RFE-Behandlung ein Risiko besteht, eine Osteonekrose zu entwickeln. Aus diesem Grund untersuchten Cetik und Mitarbeiter in einer im Jahr 2009 veröffentlichten Studie die Osteonekrose-Inzidenz bei 50 Patienten, die zuvor eine RFE-Behandlung für degenerative Veränderungen am Knorpel im Kniegelenk im Outerbridge-Stadium II oder III erhalten hatten ⁴³. Sechs Monate nach der Operation wurden dabei die Patienten mittels MRT nachuntersucht. Eine Osteonekrose war bei zwei (4 %) der Patienten nachweisbar. Diese Inzidenz war nach Angaben der Autoren nicht höher als bei anderen chirurgischen Eingriffen im Kniegelenk.

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse, die darauf schließen lassen, dass Hitzeschäden und andere negative Nebenwirkungen der RFE-Behandlung nur lokal begrenzt auftreten und zu keinen größeren Komplikationen bei der Behandlung von Patienten führen, kam eine Literaturübersicht aus dem Jahr 2011 zu dem Schluss, dass die Datenlage derzeit noch immer zu gering ist, um davon auszugehen, dass die RFE-Behandlung sicher ist. Die Autoren empfahlen daher, diese Technologie nur vorsichtig einzusetzen, bis ihre Patientensicherheit besser geklärt ist.

Huber und Mitarbeiter kamen in einer Studie aus dem Jahr 2015 zu einem ähnlichen Schluss ¹⁷. In dieser oben bereits erwähnten Studie wurden 14 Handgelenke von

Leichenspendern mittels monopolarer oder bipolarer RFE behandelt. Dabei wurden an sieben definierten anatomischen Markern Temperatursonden angebracht. Diese zeigten, dass an fast allen gemessenen Stellen die Temperaturen während der gesamten Prozedur in einem für das Gewebe sicheren Bereich von unter 30° Celsius blieben. Die einzige Ausnahme hierzu war der subchondrale Bereich der Fossa lunata, wo eine mäanderförmige Behandlung des Knorpels simuliert wurde. Hier wurden während der monopolarer RFE-Behandlung Spitzentemperaturen von knapp 50° Celsius und während der bipolaren RFE-Behandlung von knapp 70° Celsius gemessen. Diese Temperaturen sind hoch genug, um in der betroffenen Region einen Gewebeschaden zu verursachen. Die Autoren verwendeten ein Behandlungsschema, das ähnlich wie in der hier vorliegenden Studie die Sonde ständig hin und her bewegte. Zusätzlich wurde eine Spülung des Gelenks zur Kühlung durchgeführt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Schädigung der Knorpelzellen in der gesamten Knorpeldicke, sowie möglicherweise des subchondralen Knochens bei der RFE-Behandlung in vivo möglich ist. Auch die in der hier vorgestellten Studie gefundenen Ergebnisse, die tote Zellen im subchondralen Knochen detektierten, lassen einen ähnlichen Schluss zu.

Neben einer rein empirischen Untersuchung der Schädigung von Chondrozyten, durch die bei der RFE-Behandlung entstandene Hitze, gibt es auch Studien, die evaluieren, ob und wie Chondrozyten vor den schädlichen Auswirkungen der RFE-Behandlung geschützt werden können.

Chu et al. untersuchten in einer Studie aus dem Jahr 2004, ob es möglich ist, durch bestimmte Zusätze im Medium Chondrozyten resistenter gegenüber eines Hitzeschocks zu machen ⁴⁴. Dies könnte zu neuartigen Kühlflüssigkeiten, zur Spülung des Gelenkes während der RFE-Behandlung führen, die die Sicherheit einer RFE-Behandlung für Patienten erhöhen würden. Sie fanden dabei heraus, dass Chondrozyten, die 5 sec lang einer Temperatur von 55 oder 60° Celsius ausgesetzt waren, trotz einer vorübergehenden Reduktion ihrer metabolischen Aktivität, sich innerhalb von sieben Tagen vollständig erholten, wenn das Zellkulturmedium insulinlike growth factor 1 (IGF-1) und c-Jun N-terminal Kinase (JNK)-Inhibitor enthielt.

Eine weitere bisher nicht vollständig geklärte Frage ist die, ob eine Zelle, die in der Life/Dead-Färbung rot erscheint, tatsächlich tot ist und nicht etwa nur einen Membranschaden aufweist, der reparierbar ist und damit die Zelle überlebensfähig

macht. Zweifel in der Validität der Methode wurden bereits im Jahr 2003 von Kaplan in einer Literaturübersicht vorgebracht ⁴⁵. Es ist in diesem Zusammenhang allerdings zu beachten, dass durch seine geringe metabolische Aktivität, Knorpel in vivo wahrscheinlich weitaus empfindlicher gegenüber schädlichen Umwelteinflüssen ist als anderes Gewebe oder auch als explantiertes Knorpelpräparat, welches in einer dünnen Schicht geschnitten wurde und vom Medium umspült ist. Entsprechend ist es denkbar, dass kultivierte Chondrozyten einen Hitzeschaden überleben könnten, der für die Zellen im Knorpel in vivo tödlich sein könnte. Die oberste Maxime in der Behandlung von Knorpel sollte daher „primum non nocere“ sein ⁴⁶.

Zudem zeigte eine im Jahr 2006 veröffentlichte Studie, dass die Life/Dead-Färbung möglicherweise sensitiver ist, als eine Quantifizierung der lebenden Zellen mithilfe der Lactatdehydrogenase Methode. Es ist möglich, dass sich diese Diskrepanz dadurch ergibt, dass die Lactatdehydrogenase durch die RFE-Behandlung denaturiert und dadurch deaktiviert wird. Durch dieses Artefakt würde diese Methode der Lebendzellbestimmung unzuverlässig werden ⁴⁷. Deswegen wurde in dieser Arbeit die Apoptose nach 72 Stunden bestimmt, die ein übereinstimmendes Ergebnis der Life/Dead Bestimmung lieferte.

4.4 Monopolare versus bipolare Radiofrequenztherapie

Aufgrund der, in der aktuellen Literatur einmaligen methodischen Vergleichbarkeit mit einer von Huber *et al.* im Jahr 2020 erschienenen Publikation ⁴⁸, sollen hier im Speziellen noch einmal die monopolare versus bipolare Radiofrequenztherapie hinsichtlich Temperaturverlauf, Chondrozyten-Vitalität und Therapieerfolg miteinander verglichen werden.

In der besagten Publikation wurden ebenfalls Tibia Plateaus frisch geschlachteter Schweine als Modellsystem verwendet. Diese wurden entsprechend angeschliffen und mit denen in dieser Studie eingesetzten Behandlungsregimen therapiert, allerdings unter Einsatz von bipolarer Radiofrequenzenergie. Die Follow-Up-Analysen waren in der Art und Durchführung ebenfalls äquivalent zu dieser Studie.

Es war erstaunlich festzustellen, dass im direkten Vergleich die Maximaltemperaturen nach bipolarer Behandlung nicht deutlich höher waren als nach monopolarer RFE-Therapie, wie sonst in der Literatur beschrieben. Zusätzlich wiesen beide Ansätze ihre

maximale Durchschnittstemperatur nach einer zweimalig kontinuierlichen Behandlung auf (B2/M2).

Außerdem konnte festgestellt werden, dass, unabhängig von der Polarität, die geringste Apoptose-Rate nach einer einmaligen Behandlung mit kurzer Pulsierung resultierte. Dennoch kann an dieser Stelle betont werden, dass unter diesem Regime die Verwendung monopolarer RFE vorzuziehen wäre. Diese führte im Vergleich zum bipolaren Ansatz zu einer ca. 20%igen Reduktion des Zelltods (72 % (monopolar) vs. 90,1 % (bipolar)). Bezüglich der Ursache des Zellunterganges kann sowohl bei mono- als auch bei bipolarer RFE postuliert werden, dass dieser nicht mit der Höhe der Temperatur oder Gesamtdauer, sondern tendenziell eher mit der tatsächlichen Gewebekontaktdauer zu korrelieren scheint. Die schlechtesten Ergebnisse wurden nach langer kontinuierlicher Therapie und/oder nach langer Pulsationsdauer erzielt (B2/M2; B2p2/M2p2; B1p2/M1p2).

Der größte therapeutische Erfolg in Bezug auf die Reduktion der Rauigkeit konnte bei beiden Arten der RFE nach einer längeren pulsierenden (2 sec) Anwendung festgestellt werden. Allerdings entstand bei der monopolarer RFE nach einer einmaligen Anwendung (M1p2) das bestmögliche Ergebnis. Bei 2-sec Pulsation mit bipolarer RFE war kein (Erfolgs-) Unterschied zwischen einmaliger und zweimaliger Anwendung sichtbar. Da eine längere Pulsation mit einer erhöhten Apoptose-Rate korrelierte, sollte ggf. im Sinne von „primum non nocere“ die Behandlung mit monopolarer Energie bevorzugt werden.

Zusammenfassend lässt sich interessanterweise feststellen, dass die Effektivität der Therapie (niedriger Zelltod/reduzierte Rauigkeit) in diesen Studien tendenziell eher durch die Behandlungsstrategie, als durch die Polarität der RFE bestimmt wird. Dennoch sollte betont werden, dass bei gleichem Regime die Zelltod-Rate nach Behandlung mit monopolarer RFE nochmals um 20 % reduziert war.

Für die tatsächliche klinische Situation ist allerdings die Frage ausschlaggebend, welche/r Faktor/en für einen effektiven zukünftigen Therapie-Erfolg mit Blick auf Schmerzreduktion und Wiederherstellung der Beweglichkeit wichtiger ist/sind: eine niedrige Apoptose-Rate direkt nach der RFE-Anwendung und/oder eine geringere Rauigkeit?

Dies und die biophysiologicalen und -physikalischen Ursachen für den Zelltod sollten in weiterführenden *ex-vivo*- und klinischen Studien evaluiert werden. Die Dicke und Integrität des Knorpels scheinen laut der aktuellen Literatur einen entscheidenden Einfluss auf das Outcome einer RFE-Behandlung zu haben.

4.5 Schlussfolgerungen

Das Ziel der hier vorliegenden Studie war es, zu untersuchen, ob eine monopolare RFE-Behandlung zur Glättung von Knorpel mit Chondromalazie im Outerbridge-Stadium III sicher und wirksam durchgeführt werden kann. Der dahinterstehende Grundgedanke war, dass eine RFE-Behandlung einen Hitzeschaden im Gewebe verursachen kann, dass die Überhitzung des Gewebes aber durch eine gepulste RFE-Behandlung, in der die Energieabgabe nur in kurzzeitigen Intervallen durchgeführt wird, verhindert werden kann, ohne dabei den therapeutischen Glättungseffekt der Behandlung wesentlich zu verändern. Dazu wurden drei spezifische Thesen aufgestellt und im Rahmen dieser Arbeit getestet.

Die erste Hypothese besagte, dass monopolare RFE mit gepulster Energieabgabe zu einem geringeren Anstieg der Gewebetemperaturen in unmittelbarer Nähe der RFE-Sonde führt, als eine kontinuierliche Energieabgabe, konnte mit den vorhandenen Daten nicht verifiziert werden, da Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen nicht statistisch signifikant waren. Allerdings zeigten sowohl die Durchschnittstemperaturen als auch die Maximaltemperaturen in den unterschiedlichen Behandlungsgruppen einen Trend, der mit der Hypothese übereinstimmte. Daraus konnte geschlossen werden, dass eine größere Stichprobe bei der vorhandenen Variabilität der Messergebnisse notwendig gewesen wäre, um signifikante Ergebnisse zu erreichen. Diese wären aller Wahrscheinlichkeit nach, im Sinne der Bestätigung der Hypothese ausgefallen.

Entgegen der Hypothese, dass die unterschiedlichen Behandlungsmuster zu keinem Unterschied im Glättungseffekt des Knorpels führten, konnten signifikante Unterschiede in der Wirksamkeit der Behandlung zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen festgestellt werden. In Bezug auf den Glättungseffekt war die einmalige gepulste Behandlung mit Energiepulsen von 2 sec Länge am effektivsten. Damit wurde diese Hypothese verworfen.

Die dritte Hypothese, die im Rahmen der hier vorgestellten Studie getestet wurde, sagte voraus, dass monopolare RFE mit gepulster Energieabgabe zu einer geringeren Anzahl von nekrotischen Chondrozyten führt als monopolare RFE mit kontinuierlicher Energieabgabe. Diese Hypothese konnte in Bezug auf den Vergleich zwischen der kontinuierlichen RFE-Behandlung und der gepulsten Behandlung mit kurzen, 1 sec langen Pulsen bestätigt werden. Es gab keinen Unterschied in der Vitalität der Chondrozyten zwischen kontinuierlich behandelten Knorpelproben und solchen, die mit 2 sec Pulsen behandelt wurden. Da die einmalig gepulste Behandlung mit Pulsen von 1 sec Länge keinen Unterschied in der Wirksamkeit im Vergleich zur kontinuierlichen Behandlung zeigte, aber mit der höchsten Chondrozytenvitalität einherging, sollte diese Behandlungsmethode als Ausgangsbasis einer zukünftigen Studie verwendet werden, um genauer zu bestimmen, in welcher Beziehung die Pulsdauer zu Wirksamkeit und Sicherheit der Methodik steht.

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse waren auch in den beiden mit kurzen 1 sec langen Pulsen behandelten Gruppen mehr als 70 % bei einmaliger und bei zweimaliger Behandlung mehr als 80 % der Chondrozyten tot. Die Life-Dead-Aufnahme zeigte zudem teilweise ein Vorliegen von toten Zellen in der gesamten Knorpeldicke und bei zweimaliger Behandlung auch tote Zellen im subchondralen Knochen. Dies könnte darauf hinweisen, dass auch die Behandlung mit kurzen Energiepulsen riskant ist und einen signifikanten Hitzeschaden im Knorpel verursachen könnte.

Beim Vergleich der im Knorpel gemessenen Temperaturen mit Werten aus der Literatur fiel zudem auf, dass hier eine erhebliche Variabilität besteht, die wahrscheinlich durch die Platzierung der Temperatursonden und andere methodische Unterschiede verursacht wird. Es ist daher schwierig, Ergebnisse unterschiedlicher Studien direkt zu vergleichen. Zudem wurden die meisten Studien als In-vitro Studien konzipiert. Langzeitfolgen der RFE-Behandlung können in diesen Studien nicht untersucht werden. Die wenigen Studien, die an menschlichen Patienten durchgeführt wurden, zeigten jeweils nur geringe Komplikationsraten, die sich nicht von anderen chirurgischen Eingriffen an Gelenken mit einer Arthrose unterschieden. Diese Studien hatten jedoch allesamt kleine Patientenzahlen, weswegen bisher die Datenlage noch immer unzureichend ist, um zuverlässige Schlussfolgerung bezüglich der Sicherheit der Methode zu ziehen. Insgesamt zeigte die hier vorgestellte Studie allerdings, dass

durch eine Modifizierung des Behandlungsprotokolls eine Reduzierung des Hitzeschadens an Chondrozyten möglich ist, ohne die Wirksamkeit der Behandlung in Bezug auf die Glättung der Knorpeloberfläche zu verlieren.

5 Anhang

5.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der monopolaren Radiofrequenzablation	5
Abbildung 2: Schematische Darstellung der bipolaren Radiofrequenzablation	6
Abbildung 3: Oben: Präpariertes Tibiaplateau, Unten: Aufrauung der Knorpeloberfläche mit Schleifpapier	14
Abbildung 4: Vergleich Schleifpapierkörnung mit OA-Graden gemäß der Outerbridge-Klassifikation 33	15
Abbildung 5: Schematische Darstellung verschiedener in der hier vorgestellten Arbeit verwendeter monopolarer (M) Behandlungsmuster	16
Abbildung 6: Grafische Darstellung von Ra und RMS mit dazugehöriger Formel 35	18
Abbildung 7 Lichtmikroskopisches Bild einer Probe in 10facher Vergrößerung. Die roten Kästchen markieren die mit dem CLSM zu messenden Flächen	19
Abbildung 8: Durchschnittliche Dauer der Behandlungen mit den unterschiedlichen Behandlungsmustern	21
Abbildung 9: Durchschnittliche Temperaturen im Knorpel in den verschiedenen Behandlungsgruppen	22
Abbildung 10: Maximale Temperaturen im Knorpel in den verschiedenen Behandlungsgruppen. Gezeigt ist der Durchschnitt der Maximaltemperaturen der neun gemessenen Proben	23
Abbildung 11: Lichtmikroskopische Aufnahme der Knorpeloberfläche. Links: unbehandelt, rechts: nach Aufrauung mit Schleifpapier (Stärke P60)	24
Abbildung 12: Knorpeloberflächen nach den unterschiedlichen monopolaren RFE-Behandlungen.	25
Abbildung 13: CLSM 3-D-Bilder der Knorpeloberfläche	26
Abbildung 14: Vergleich der Rauheit der Knorpeloberfläche nach den verschiedenen Behandlungen. Der Fehlerbalken gibt das 85% Konfidenzintervall wieder.	29

Abbildung 15: Chondrozytenvitalität nach den unterschiedlichen monopolaren RFE-Behandlungen.	31
Abbildung 16: Durchschnittlicher prozentualer Flächenanteil roter Pixel nach RFE-Behandlung	32
Abbildung 17: Zeitlicher Verlauf der Chondrozytenvitalität nach einmaliger kontinuierlicher RFE-Therapie in Caspase-Färbung. Caspase-positive (tote) Zellen erscheinen hier grün.....	34

5.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Temperaturen und Behandlungsdauer verschiedener Behandlungsmuster.....	23
Tabelle 2: Durchschnittliche Rauigkeit in den Behandlungsgruppen:	27
Tabelle 3: p-Werte beim Vergleich der Rauigkeit nach verschiedenen Behandlungen	28
Tabelle 4: Durchschnittliche Vitalität in den Behandlungsgruppen	32
Tabelle 5: p-Werte beim Vergleich der Vitalität nach verschiedenen Behandlungen	33

6 Referenzen

1. O'Neill TW, McCabe PS, McBeth J. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology* 2018; 32: 312–326.
2. Geusens PP, Van Den Bergh JP. Osteoporosis and osteoarthritis: Shared mechanisms and epidemiology. *Current Opinion in Rheumatology* 2016; 28: 97–103.
3. Martel-Pelletier J, Barr AJ, Cicuttini FM, et al. Osteoarthritis. *Nature Reviews Disease Primers*; 2. Epub ahead of print 13 October 2016. DOI: 10.1038/nrdp.2016.72.
4. Xia B, Di Chen, Zhang J, et al. Osteoarthritis Pathogenesis: A Review of Molecular Mechanisms. *Calcified Tissue International* 2014; 95: 495–505.
5. Johnson VL, Hunter DJ. The epidemiology of osteoarthritis. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology* 2014; 28: 5–15.
6. Pereira D, Ramos E, Branco J. Osteoarthritis. *Acta Med Port* 2015; 28: 99–106.
7. Darlis NA, Weiser RW, Sotereanos DG. Partial scapholunate ligament injuries treated with arthroscopic debridement and thermal shrinkage. *J Hand Surg Am* 2005; 30: 908–914.
8. Owens BD, Stickles BJ, Balikian P, et al. Prospective analysis of radiofrequency versus mechanical debridement of isolated patellar chondral lesions. *Arthroscopy* 2002; 18: 151–155.
9. Thomas AC, Hubbard-Turner T, Wikstrom EA, et al. Epidemiology of posttraumatic osteoarthritis. *Journal of Athletic Training* 2017; 52: 491–496.
10. Lane NE, Shidara K, Wise BL. Osteoarthritis year in review 2016: clinical. *Osteoarthritis and Cartilage* 2017; 25: 209–215.
11. Beaudreuil J. Orthoses for osteoarthritis: A narrative review. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 2017; 60: 102–106.
12. Rodriguez-Merchan EC, De La Corte-Rodriguez H. The role of orthoses in knee osteoarthritis. *Hospital practice (1995)* 2019; 47: 1–5.

13. Lu Y, Edwards RB, Nho S, et al. Thermal chondroplasty with bipolar and monopolar radiofrequency energy: effect of treatment time on chondrocyte death and surface contouring. *Arthroscopy* 2002; 18: 779–788.
14. Edwards RB, Lu Y, Rodriguez E, et al. Thermometric determination of cartilage matrix temperatures during thermal chondroplasty: comparison of bipolar and monopolar radiofrequency devices. *Arthroscopy* 2002; 18: 339–346.
15. Lu Y, Edwards RB, Kalscheur VL, et al. Effect of bipolar radiofrequency energy on human articular cartilage. Comparison of confocal laser microscopy and light microscopy. *Arthroscopy* 2001; 17: 117–123.
16. Lu Y, Hayashi K, Hecht P, et al. The effect of monopolar radiofrequency energy on partial-thickness defects of articular cartilage. *Arthroscopy* 2000; 16: 527–536.
17. Huber M, Eder C, Loibl M, et al. RFE based chondroplasty in wrist arthroscopy indicates high risk for chondrocytes especially for the bipolar application. *BMC Musculoskelet Disord* 2015; 16: 6.
18. Huber M, Loibl M, Eder C, et al. Effects on the Distal Radioulnar Joint of Ablation of Triangular Fibrocartilage Complex Tears With Radiofrequency Energy. *J Hand Surg Am* 2016; 41: 1080–1086.
19. Huber M, Eder C, Mueller M, et al. Temperature profile of radiofrequency probe application in wrist arthroscopy: monopolar versus bipolar. *Arthroscopy* 2013; 29: 645–652.
20. Caffey S, McPherson E, Moore B, et al. Effects of radiofrequency energy on human articular cartilage: an analysis of 5 systems. *Am J Sports Med* 2005; 33: 1035–1039.
21. McKeon B, Baltz MS, Curtis A, et al. Fluid temperatures during radiofrequency use in shoulder arthroscopy: a cadaveric study. *J Shoulder Elb Surg* 2007; 16: 107–111.
22. Zoric BB, Horn N, Braun S, et al. Factors influencing intra-articular fluid temperature profiles with radiofrequency ablation. *J Bone Joint Surg Am* 2009; 91: 2448–2454.
23. Amiel D, Ball ST, Tasto JP. Chondrocyte viability and metabolic activity after

- treatment of bovine articular cartilage with bipolar radiofrequency: an in vitro study. *Arthroscopy* 2004; 20: 503–510.
24. Yasura K, Nakagawa Y, Kobayashi M, et al. Mechanical and biochemical effect of monopolar radiofrequency energy on human articular cartilage: an in vitro study. *Am J Sports Med* 2006; 34: 1322–1327.
 25. Edwards RB, Lu Y, Uthamanthil RK, et al. Comparison of mechanical debridement and radiofrequency energy for chondroplasty in an in vivo equine model of partial thickness cartilage injury. *Osteoarthr Cartil* 2007; 15: 169–178.
 26. Uthamanthil RK, Edwards RB, Lu Y, et al. In vivo study on the short-term effect of radiofrequency energy on chondromalacic patellar cartilage and its correlation with calcified cartilage pathology in an equine model. *J Orthop Res* 2006; 24: 716–724.
 27. Bonutti P, Seyler T, Delanois R, et al. Osteonecrosis of the Knee After Laser or Radiofrequency-Assisted Arthroscopy: Treatment with Minimally Invasive Knee Arthroplasty. *J Bone Jt Surg* 2006; 88: 69–75.
 28. Abramoff B, Caldera FE. Osteoarthritis: Pathology, Diagnosis, and Treatment Options. *Medical Clinics of North America* 2020; 104: 293–311.
 29. Lambova SN, Müller-Ladner U. Osteoarthritis - Current Insights in Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *Curr Rheumatol Rev* 2018; 14: 91–97.
 30. Sinusas K. Osteoarthritis: Diagnosis and treatment. *Am Fam Physician* 2012; 85: 49–56.
 31. Taruc-Uy RL, Lynch SA. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. *Primary Care - Clinics in Office Practice* 2013; 40: 821–836.
 32. Slattery C, Kweon CY. Classifications in Brief: Outerbridge Classification of Chondral Lesions. *Clin Orthop Relat Res* 2018; 476: 2101–2104.
 33. Striegl B, Huber M, Kujat R, et al. Quantitative analysis of cartilage surface by confocal laser scanning microscopy Microscope setups. In: *BMT 2014 48th DGBMT ANNUAL CONFERENCE October 8-10, 2014 HANNOVER*. 2014, p. 108.

34. Brakenhoff GJ, Van Spronsen EA, Van Der Voort HTM, et al. Three-Dimensional Confocal Fluorescence Microscopy. *Methods Cell Biol* 1989; 30: 379–398.
35. Jung S. Oberflächenbeurteilung - Rauheitsparameter. *Spezialisierungsfachversuch und Hauptfachversuch*, 2013, pp. 1–18.
36. Huber M, Loibl M, Eder C, et al. Temperature in and around the scapholunate ligament during radiofrequency shrinkage: a cadaver study. *J Hand Surg Am* 2015; 40: 259–265.
37. Shellock FG. Radiofrequency energy-induced heating of bovine capsular tissue: Temperature changes produced by bipolar versus monopolar electrodes. *Arthroscopy* 2001; 17: 124–131.
38. Field RA., Pearson A. M., Schweigert B. S. Hydrothermal Shrinkage of Bovine Collagen. *J Anim Sci* 1970; 30: 712–716.
39. Vangsness CT, Mitchell W, Nimni M, et al. Collagen shortening: An experimental approach with heat. *Clin Orthop Relat Res* 1997; 337: 267–271.
40. Turner AS, Tippert JW, Powers BE, et al. Radiofrequency (electrosurgical) ablation of articular cartilage: A study in sheep. *Arthroscopy* 1998; 14: 585–591.
41. Kosy JD, Schranz PJ, Toms AD, et al. The use of radiofrequency energy for arthroscopic chondroplasty in the knee. *Arthroscopy* 2011; 27: 695–703.
42. Barber FA, Iwasko NG. Treatment of grade III femoral chondral lesions: mechanical chondroplasty versus monopolar radiofrequency probe. *Arthroscopy* 2006; 22: 1312–1317.
43. Cetik O, Cift H, Comert B, et al. Risk of osteonecrosis of the femoral condyle after arthroscopic chondroplasty using radiofrequency: a prospective clinical series. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2009; 17: 24–29.
44. Chu CR, Kaplan LD, Fu FH, et al. Recovery of articular cartilage metabolism following thermal stress is facilitated by IGF-1 and JNK inhibitor. *Am J Sports Med* 2004; 32: 191–196.
45. Kaplan LD. The analysis of articular cartilage after thermal exposure: 'Is red

- really dead?' *Arthroscopy* 2003; 19: 310–313.
46. Poehling GG. Cartilage primum non nocere. *Arthroscopy* 2001; 17: 341.
 47. Rauch B, Edwards RB, Lu Y, et al. Comparison of techniques for determination of chondrocyte viability after thermal injury. *Am J Vet Res* 2006; 67: 1280–1285.
 48. Huber M, Schlosser D, Stenzel S, et al. Quantitative analysis of surface contouring with pulsed bipolar radiofrequency on thin chondromalacic cartilage. *Hindawi BioMed Research International* 2020; Article ID 1242086.

7 Danksagung

Ich möchte mich zunächst bei allen bedanken, die mich bei meiner Arbeit an dieser Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau PD Dr. Michaela Huber für das Anvertrauen dieses interessanten Themas und ihrer tatkräftigen Unterstützung bei der Ausarbeitung. Sie hat sich, trotz der intensiven Arbeitsbelastung als stellvertretende Leiterin der Notaufnahme des Universitätsklinikums Regensburg, immer die Zeit genommen, meine Fragen zu beantworten und stand mir mit konstruktiver Kritik, Rat und Tat zur Seite. Vor allem die unkomplizierte und wertschätzende Kommunikation, sowie die vielen spannenden Diskussionen mit ihr waren eine große Bereicherung für mich, wofür ich mich nochmals herzlich bedanken möchte.

Großer Dank gilt auch Frau Prof. Denitsa Docheva, die sich mit ihrer großen fachlichen Kompetenz und ihrem Einfallsreichtum in die Thematik miteinbrachte. Auch bei den überaus kompetenten und hilfsbereiten Mitarbeitern des Labors für Experimentelle Unfallchirurgie in Regensburg möchte ich mich bedanken.

Herzlichst bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Birgit Striegl, die mich in die Bedienung des CLSM-Gerätes einwies. Auch Sie hatte jederzeit ein offenes Ohr für meine Fragen und unterstützte mich bei der Lösung von Problemen. An dieser Stelle ebenfalls ein großes Dankeschön an Dr. Richard Kujat, der mich darin anleitete, die Proben für das CLSM vorzubereiten.

Auch bei Maximilian Voigt und Susanne Stenzel möchte ich mich für die Bereitstellung ihrer Vorversuche bedanken.

Vielen Dank an Daniela Schlosser für die Bereitstellung ihrer eigens kreierte Abbildungen zur Schematischen Darstellung des monopolen und bipolaren RFE-Gerätes.

Größter Dank gilt meinen Eltern, die mich nicht nur bei dieser Dissertation, sondern auch während meines gesamten Studiums unterstützt und motiviert haben. Danke für den bedingungslosen Rückhalt, die liebevollen Ratschläge und Gedanken die ich von euch erhalten habe.

8 Erklärung zum Promotionsverfahren

– nach § 6 Abs. 5 der Promotionsordnung
der Fakultät für Medizin der Universität Regensburg –

Die Dissertation wurde von Frau PD Dr. Michaela Huber angeregt und in ihrer
Ausarbeitung überwacht.

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.