

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Sektion Pädiatrische Sportmedizin

Leiter: Prof. Dr. med. Norbert M. Meenen

aus der

Klinik für Kinderorthopädie

Altonaer Kinderkrankenhaus

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Ralf Stücker

**ICRS-stadienabhängige histologische Untersuchung juveniler
Osteochondrosis dissecans Biopsien des Kniegelenks**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Daniel Lehmann

Hamburg 2016

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 08.02.2017**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. N. M. Meenen

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. M. Krause

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Arbeitshypothese und Fragestellung	1
2. Einleitung	2
2.1. Grundlagen – Osteochondrosis dissecans (OCD)	2
2.1.1. Allgemeines	2
2.1.2. Ätiologie.....	5
2.1.3. Therapie	8
2.2. Grundlagen – Knochen	9
2.2.1. Knochen – Makroskopisch.....	9
2.2.2. Knochen – Mikroskopisch	11
2.2.3. Modeling und Remodeling.....	12
2.2.4. Hormone des Knochenstoffwechsels	14
2.2.5. Vitamin D – Synthese, Metabolismus, Mangel	15
2.2.6. Knochenstruktur	19
3. Material und Methoden	20
3.1. Patientenkollektiv und Probengewinnung	20
3.2. Präparationstechnik	24
3.3. Histomorphometrische Auswertung	24
4. Ergebnisse	25
4.1. Histomorphometrische Auswertung	25
4.2. Laborergebnisse	29
5. Diskussion	30
6. Zusammenfassung	38
7. Abkürzungsverzeichnis	39
8. Literaturverzeichnis	40
9. Danksagung	52
10. Lebenslauf	53
11. Eidesstattliche Versicherung	54

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Der Terminus Osteochondrosis Dissecans (OCD) beschreibt eine erworbene, potentiell reversible Erkrankung des subchondralen Knochens, die bei Progredienz den darüberliegenden Knorpel affektieren kann [25, 27, 51, 77, 80]. Es handelt sich hierbei um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung für die bis dato keine allgemein akzeptierte Ätiologie existiert [1, 8, 10, 13, 45, 52, 65, 98, 99]. Bei noch offener Wachstumsfuge spricht man von juveniler Osteochondrosis Dissecans (JOCD). Repetitive Mikro-Traumata gelten aufgrund des Auftretens bei meist überdurchschnittlich aktiven Kindern und Jugendlichen in der loco typico der lateralen Facette des medialen Femurkondyls als Risikofaktoren für die Entstehung und das Fortschreiten dieser Erkrankung [1, 13, 50]. Darüber hinaus wurde bereits frühzeitig eine lokal gestörte Knochenstruktur als zugrunde liegend postuliert und die JOCD als Manifestation einer Insuffizienzfraktur interpretiert [13].

Trotz jahrhundertelanger Forschung bleibt die Ätiologie der JOCD weiterhin unklar. Viele möglich Ursachen, wie mechanische Überlastung, repetitives oder akutes Trauma, Insuffizienzfrakturen, Chondro- und avaskuläre Nekrosen (AVN) sind beschrieben. Doch auch die häufig als ursächlich beschriebene AVN ist kein einheitlicher Befund in JOCD-Läsionen. In einer kürzlich erschienenen Metaanalyse zeigten sieben von zehn Autoren nekrotischen subchondralen Knochen. Fraglich blieb dabei, ob dies ursächlich für die JOCD oder deren Folge war. Aufgrund der Vielzahl der existierenden histologischen Erkenntnisse [19, 57, 91, 97] war das Hauptziel der vorliegenden Arbeit die Analyse histologischer Knochenzylinder stabiler JOCD Läsionen. Wir vermuten eine mögliche Osteonekrose nicht als initialen Grund für eine JOCD und daher nicht als vorherrschenden Befund in der histologischen Analyse. Das Nebenziel bestand in der Beschreibung der subchondrale Knochenstruktur und des Knochenstoffwechsels betroffener Kinder und Jugendlicher.

2. Einleitung

2.1. Grundlagen – Osteochondrosis dissecans (OCD)

2.1.1. Allgemeines

Der Terminus Osteochondrosis dissecans (OCD) beschreibt eine erworbene, potentiell reversible Erkrankung des subchondralen Knochens, die bei Progredienz den darüberliegenden Knorpel affektieren kann [27, 51, 77, 80]. Typische Lokalisationen sind die konvexen Gelenkflächen [6]. Am Kniegelenk findet sich die OCD vornehmlich an der lateralen Fläche der medialen Kondyle mit direkter Assoziation zur Eminentia intercondylaris [12, 27, 86], am radialen Ellenbogengelenk im Bereich des Capitulum humeri, am Sprunggelenk an der trochlea tali und am Hüftgelenk am höchsten Punkt des Caput femoris [27, 56].

In Abhängigkeit vom Wachstumsfugenstatus zum Zeitpunkt der Diagnosestellung kann eine juvenile von einer adulten OCD-Form unterschieden werden. Eine offene Wachstumsfuge beschreibt eine juvenile Osteochondrosis dissecans (JOCD); nach Wachstumsfugenschluss wird sie als adulte Form bezeichnet [8, 11, 12, 13, 33, 56, 67, 77, 98]. Dies ist klinisch relevant, da die JOCD gegenüber der adulten Form mit besseren Heilungschancen unter konservativer Therapie assoziiert ist. Bei der JOCD werden Heilungsraten von bis zu 100 % unter konservativer Therapie beschrieben, wohingegen adulte OCD Läsionen in der Regel einer operative Therapie bedürfen [33, 44, 51, 98].

Die JOCD ist eine wichtige und oft unterschätzte Differentialdiagnose für Knieschmerzen bei Kindern und Jugendlichen mit offener Wachstumsfuge [1, 51, 56]. Kessler et al. [49] beschreiben ein mittleres Erkrankungsalter von 13,2 (\pm 2,81) Jahren. Es wird außerdem eine höhere Inzidenz für das Auftreten einer JOCD bei männlichen Patienten und ebenso ein fast vierfach erhöhtes Risiko gegenüber der weiblichen Patientengruppe beschrieben [49]. Zu Beginn sind die Symptome häufig unspezifisch; Patienten berichten über streng belastungsabhängige, ziehende Schmerzen bei und nach vermehrter sportlicher Aktivität oder anderweitiger Beanspruchung des betroffenen Gelenks [6, 13, 65]. Dabei ist zu beachten, dass bereits bei normalem Gang das 2 – 4 fache des Körpergewichts auf dem Kniegelenk

lastet [61, 66]. Der Großteil dieser Last wird über die häufiger betroffene mediale Femurkondyle getragen [66]. Diese unspezifischen Gelenkbeschwerden können später mit Instabilitätszeichen eines Dissekats wie einer mechanischen Bewegungsblockade und einer Ergussbildung im betroffenen Gelenk einhergehen [77]. Um diesen Bereich zu entlasten, zeigen betroffene Patienten häufig ein Gangbild mit außenrotiertem Unterschenkel [95]. Eine JOCD kann jedoch auch am lateralen Kondylus auftreten und beide Kniegelenke betreffen [1, 12, 56, 67, 83]. Ein Scheibenmeniskus oder Meniskusriss ist häufig vergesellschaftet mit einer JOCD der lateralen Femurrolle [98, 65].

Eine JOCD kann nativradiologisch erst in fortgeschrittenen Stadien diagnostiziert werden (Abb. 1) [6, 11]. Hierbei können besonders in der Tunnelaufnahme Läsionen der dorsalen Kondylenrolle imponieren [11]. Für die weitere Stadieneinteilung ist jedoch die Magnetresonanztomographie (MRT) der Goldstandard (Abb. 1, B), da sich hier definierende Charakteristika, wie Läsionsgröße im Verhältnis zur Kondylengröße (Länge und Breite), Knorpelbrüche sowie Flüssigkeitsansammlungen präsentieren und zur Evaluation unterschiedlicher Therapieoptionen dienen [6, 54]. Auch die Gelenkszintigrafie wurde zur Diagnostik und Verlaufskontrolle angewandt [11].

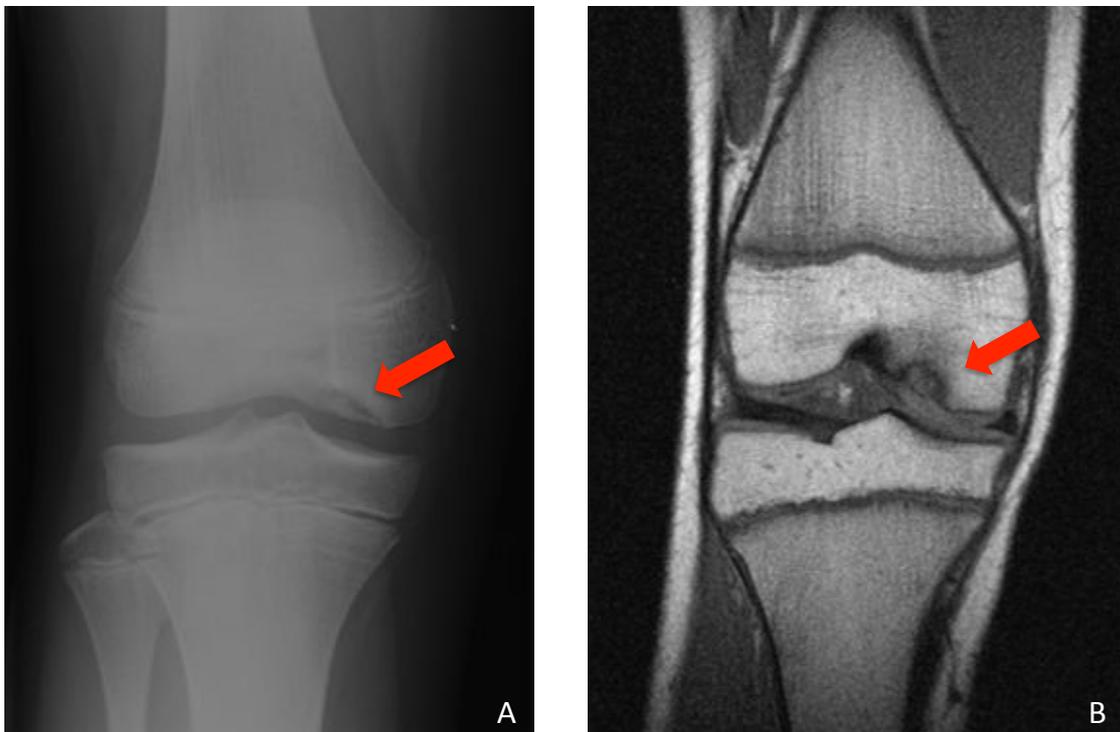


Abbildung 1: A: Natives Röntgen, rechtes Kniegelenk, AP, JOCD-Läsion am medialen Femurkondylus (roter Pfeil). B: MRT-Bild, rechtes Kniegelenk, Coronschnitt, JOCD-Läsion am medialen Femurkondylus (roter Pfeil).

Dennoch sind MRT und Arthroskopie zentrale Mittel, um das Stadium einer JOCD und ihre Prognose beurteilen zu können [84]. Bohndorf [6] beschreibt drei Phasen in der MRT. Zunächst kommt es zur Zerstörung der subchondralen Knochenstruktur mit zentraler Nekrose bei makroskopisch unverletztem Knorpel. Diese erste Phase kann spontan heilen. Bei Beeinträchtigungen der Heilung kommt es in Phase II zu einem sichtbar werden eines nekrotischen Fragments, welches noch an seiner Position verbleibt. In der dritten Phase kann das Dissekat teilweise oder komplett aus dem Bett gelöst sein; es kann ein freier Gelenkkörper entstehen. Arthroskopische Befunde können anhand der *International Cartilage Repair Society (ICRS) OCD Classification* in vier Stadien eingeteilt werden (Abb. 2). Dies geschieht in Anlehnung an die von Berndt and Harty entwickelte Systematik zur Stadieneinteilung osteochondraler Läsionen. ICRS OCD I und II stellen dabei stabile Situationen dar, wobei im Stadium II bereits eine partielle Diskontinuität im Knorpel besteht. ICRS OCD III und IV beschreiben instabile Zustände. Im Stadium III ist das betroffene Fragment nicht disloziert, wohingegen Stadium IV durch gelockerte bzw. sogar dissezierte Defekte imponiert [2, 7, 97].

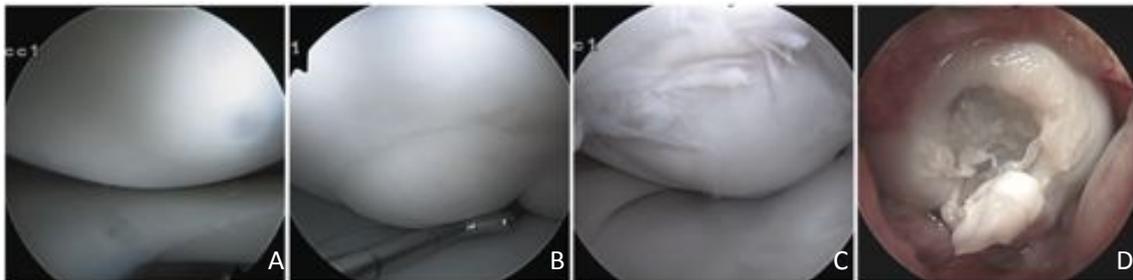


Abbildung 2: Einteilung arthroskopischer Befunde anhand der *International Cartilage Repair Society (ICRS) OCD Classification*. A: ICRS OCD I, stabil, unauffällige Knorpelfläche, keine Fissuren, keine abgrenzbare Läsion; B: ICRS OCD II, stabil, mit partieller Diskontinuität im Knorpel; C: ICRS OCD III, instabil, partiell oder komplett umrandende Fissuren, mobilisierbar, betroffenes Fragment nicht disloziert; D: ICRS OCD IV, instabil, gelockerter bzw. dissezierter Gelenkkörper [2, 7, 97; Bilder: Prof. N. M. Meenen].

2.1.2. Ätiologie

Trotz mehr als 125-jähriger Forschung ist bis dato noch immer kein einheitlich akzeptiertes Verständnis vorhanden, wie es zu einer JOCD kommt. Es existierten und existieren noch immer eine Vielzahl von als teilweise gleichwertig betrachteten Erklärungsansätzen. Dazu zählen unterschiedliche Ursachen wie repetitive mechanische Belastung, ggf. auch mit lokaler Überbeanspruchung bei Scheibenmeniskus oder Meniskusriss aber auch exogene Traumata. Endokrinologische und genetische Faktoren, gestörte Vaskularisation mit folgender Ischämie und mögliche Ossifikationsstörungen sind als Ursache diskutiert worden [1, 8, 10, 13, 45, 52, 65, 98, 99].

Bereits vor 125 Jahren benutzte König [52] in seiner Arbeit „Ueber freie Körper in Gelenken“ den Terminus Osteochondritis dissecans. Er legte der Pathologie eine mögliche subchondrale, inflammatorische Entstehung nahe. Diese könne nicht nur durch stattgehabte Traumata mit gleichzeitigem Abbruch von Gelenkstücken, sondern auch bei weniger starken Schädigungen mit folgender Nekrose und Separation entstehen. Er schilderte aber auch das Auftreten von sich spontan bildenden freien Gelenkstücken ohne stattgehabtes Trauma. Doch wurde in nachfolgenden histologischen Analysen kein Hinweis auf eine inflammatorische Genese gefunden [83, 84]. Hierbei müssen keine Traumata erinnerlich sein [12]. Die Theorie der endogenen Mikrotraumata wird unterstützt durch das Zusammentreffen von einer atypischen Lokalisation der JOCD-Läsion im Bereich des lateralen Femurkondylus mit gleichzeitig auftretendem lateralem Scheibenmeniskus [65, 98]. Exogene Traumata als Ursache für die Entstehung einer JOCD schienen lange aufgrund des symmetrischen Vorkommens an beiden Knien wenig einleuchtend [67]. Dennoch konnten Shea et al. [83] 2012 ein akut stattgehabtes, exogenes Trauma in direkten Zusammenhang mit einer JOCD bringen. Sie fanden JOCD-Läsionen an identischer Stelle, wie die zuvor gesehene subchondrale Prellungen auf MRT-Bildern. Green and Banks [33] postulierten 1953 die Osteochondritis dissecans in ihren histologischen Ergebnissen als aseptische Knochennekrose. Diese könne entstehen, wenn der Heilungsprozess nach Trauma gestört werde, sodass eine bestehende Knochennekrose nicht adäquat ausheilen kann [2]. Berndt and Harty [2] hingegen beschrieben eine transchondrale Fraktur durch Kompression zweier Gelenkpartner, mit der Zerstörung

der darunterliegenden Trabekelstruktur bei möglicherweise intaktem oder als Flake abgesprengtem Knorpel als mögliche Ursache. Sie erklärten, dass das verursachende Trauma dem Patienten nicht erinnerbar sein muss, da Mikrotraumata aufgrund fehlender neuraler Innervation nicht schmerzhaft seien. Die Autoren beschrieben dies primär für den Talus, gingen aber davon aus, dass dieser Mechanismus auf alle OCD-Läsionen zutrefte. Allerdings wird die Genese der OCD als Manifestation einer avaskulären Osteonekrose kontrovers diskutiert. Bereits 1975 gelang Chiroff and Cooke [19] der Nachweis von vitalem, subchondralem Knochen und intakten Gelenkknorpel in der Läsion. Dies bestätigten Yonetani/Nakamura et al. [97] 2010. Auch sie fanden keinen Hinweis auf Knorpelveränderungen und subchondrale Knochennekrosen in stabilen JOCD-Läsionen. Vielmehr deuteten Ihre Ergebnisse auf aktive Reparaturmechanismen bei vitalem, subchondralem Knochen hin. Obwohl eine avaskuläre Nekrose vielfach in Zusammenhang mit einer JOCD gestellt wird, ist sie nicht einheitlich vorzufinden. In einem Übersichtsartikel aller bis dato durchgeführten histologischen Untersuchungen von kniegelenksnahen JOCD-Läsionen fanden Shea et al. in sieben von elf untersuchten Arbeiten den Nachweis subchondraler Knochennekrosen. Dies geschah allerdings ohne festzulegen, ob die avaskuläre Nekrose die Ursache für die Entstehung einer JOCD oder die Folge ihrer Manifestation war [84]. Ebenso sind genetische Prädisposition und hormonelle Dysfunktionen als ursächlich für Knorpel-Knochenveränderungen beschrieben [67]. Demgegenüber formulierten Brückl et al. 1984 [8], dass metabolische oder endokrine Erkrankungen im Gegensatz zu Überbeanspruchung bei anatomischen Fehlstellungen mit folgender Überbelastung keine Rolle spielten.

Carlson et al. [16] konnten 1986 Chondronekrosen und Untergang von Proteoglykanen im Bereich von OCD-Läsionen von Schweinen zeigen. Sie fanden lipidüberfüllte Chondrozyten als Ursache für den Zelltod im Bereich des epiphysären Knorpels des articulo-epiphysären Komplexes (AE-Komplexes). Der AE-Komplex setzt sich aus dem hyalinem Knorpel der Gelenkfläche und dem epiphysären Knorpel der Wachstumsfuge zusammen [15]. Im Bereich des epiphysären Knorpels, d.h. im Bereich der Wachstumsfuge und in der Zone zwischen Gelenkknorpel und subchondralem Knochen, welche die Epiphyse zirkulär umgibt, kommt es zu enchondraler Ossifikation. Demzufolge unterscheidet sich der Gelenkknorpel vom Knorpel der Epiphysenfuge deutlich. Diese Unterschiede können ursächlich für die

Entstehung einer Osteochondrose oder anderen Knorpelerkrankungen sein [15]. Eine derartige Chondronekrose kann als Ursache für eine JOCD bei Menschen angenommen werden [16]. Dabei kommt es zunächst zu einer Endothelnekrose der vom Knochenmark zum Knorpel ziehenden zarten Blutgefäße, den *cartilage canal blood vessels*. Die folgende Ischämie führt zur Degeneration und zum Absterben direkt angrenzender Chondrozyten und damit zu einer Chondronekrose des darüberliegenden Knorpels [17]. Diese These unterstützend konnten auch Yttrhus et al. 2007 [99] zeigen, dass eine lokale Störung der *cartilage canal blood vessels* zu einer mangelnden Durchblutung führt und eine Chondronekrose entsteht. Folglich kann mechanische Belastung während der Phase der enchondralen Ossifikation des epiphysären Wachstumsknorpels den Ursprung für eine OCD darstellen. Diese kann je nach Ausprägungsgrad als *osteocondrosis latens*, *manifesta* oder *dissicans* beschrieben werden. Dabei bezeichnet eine auf den Wachstumsknorpel begrenzte Nekrose eine *osteocondrosis latens*. Wird sie makroskopisch und radiologisch sichtbar bezeichnet man sie als *osteocondrosis manifesta*. Kommt es im Verlauf zu einer Fissur des Knorpels, kann sich ein Knorpellappen (*cartilage flap*) oder sogar ein freier Gelenkkörper (*loose body*) bilden, was per definitionem als eine *osteocondrosis dissecans* beschrieben wird. Bei diesem Schritt spielt eine mechanische Einwirkung auf den betroffenen Gelenkbezirk eine wesentliche Rolle. Eine weitere Bestätigung der chondro-ischämischen Hypothese brachten Olstad et al. [69] 2012 indem sie zeigten, dass es nach Trennung der kleinsten Blutgefäße des epiphysären Knorpels, der *cartilage canal blood vessels* zur Nekrose dieser Gefäße und der umgebenen Chondrozyten kam. Diese Ischämie bedingte eine verlangsamte Ossifikation und eine Verdickung des darüber liegenden Knorpels. Cahill and Ahten [13] beschrieben Ähnlichkeiten in histologischen Proben von JOCD-Läsionen und Stressfrakturen ohne dies an strukturierten histologischen Analysen zu beweisen. Sie berichteten über Knochenreparaturprozesse, Osteoidanreicherung und Riesenzelleinwanderung und deuteten damit auf repetitive Mikrotraumata als Ursache für subchondrale Stressfrakturen hin, welche zum Beginn einer JOCD führen könnten. Damit wurden die Ergebnisse von Koch et al. [50] bestätigt, die 1997 subchondrale Veränderungen als Folge von repetitiven Belastungen im Rasterelektronenmikroskop (REM) zeigten. Die vielfach unterschiedlich postulierten Ätiologien deuten an, dass weiterhin eine multifaktorielle Genese angenommen werden muss.

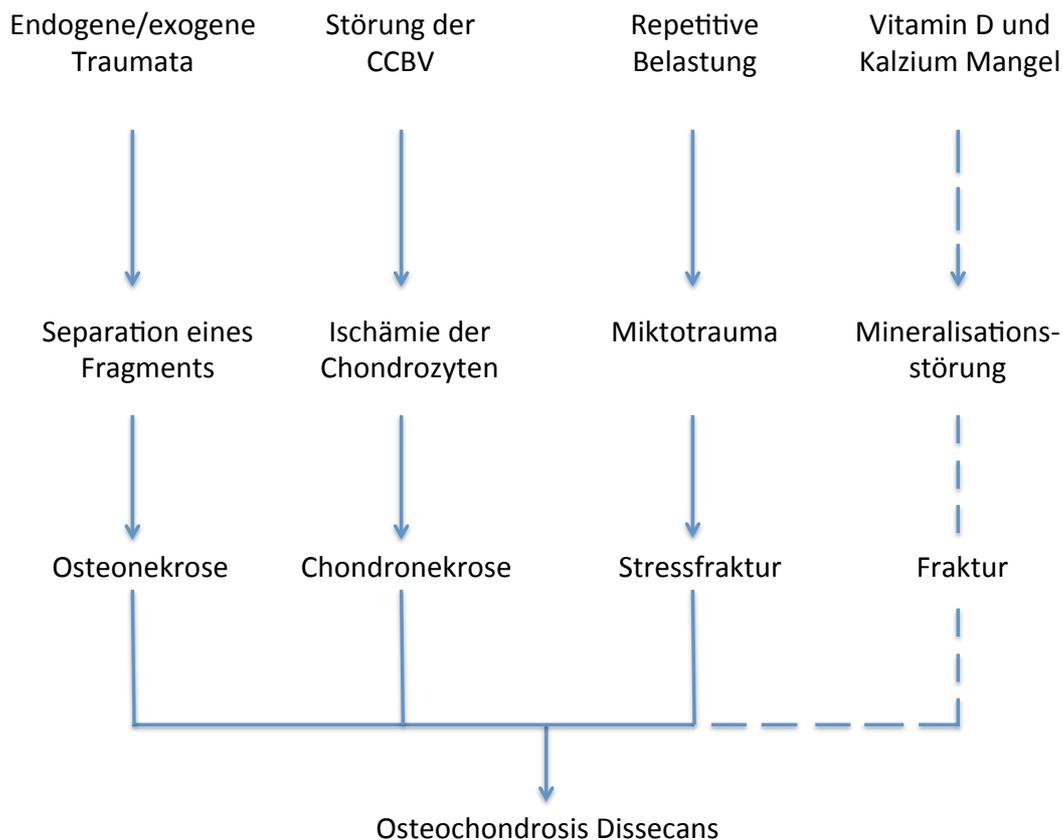


Abbildung 3: Beschreibung der multifaktoriellen Genese einer Osteochondritis dissecans. Durchgehende Pfeile: Postulierte Ätiologien aus der Literatur; Gestrichelte Pfeile: Fragestellung der vorliegenden Dissertation.

2.1.3. Therapie

Die Therapie der JOCD richtet sich nach dem jeweiligen Stadium der Erkrankung. Spontane Heilung bei Reduzierung der Belastung wird ebenso beschrieben wie die Notwendigkeit zur chirurgischen Intervention [2, 33]. Junge Patienten mit offener Epiphysenfuge und einer stabilen JOCD-Läsion profitieren von einer konservativen, nichtoperativen Therapie unter Einhaltung einer Sportkarenz [12, 77]. Spontane Heilung wird mit Restriktion des Sports in bis zu 50 % der Fälle gesehen [51, 54]. Stabile Läsionen, d.h. Läsionen ohne Knorpelbrüche oder Flüssigkeitsansammlung in der MRT sollten daher primär konservativ behandelt werden [6, 54]. Instabile Läsionen und stabile Läsionen, die unter konservativer Therapie nicht heilen, sollten operativ versorgt werden [51, 80]. Das jeweilige Stadium kann jedoch erst

intraoperativ verifiziert werden. Eine instabile Läsion ist dann mit dem Tasthaken mobilisierbar [51]. Verschiedene operative Prozeduren sind als Therapien beschrieben. Es besteht die Möglichkeit der Anbohrung zur besseren Vaskularisierung [25], einer Fixation freier Dissekatate [51, 80], einem Knorpel-Knochen-Transplantat oder einem Knorpelersatz [51]. Bereits 1957 wurde die operative Anbohrung mit anschließender Immobilisierung des betroffenen Gelenkes von Smillie als Therapie durchgeführt [86]. Die Therapie durch multiple Anbohrungen zur Knochenmarkstimulation und Durchbrechung des Faserknorpels zwischen Dissekat und Dissekathöhle bringen schnellere Heilung [97]. Die unterschiedlichen Therapieoptionen machen deutlich, dass bei der Behandlung der JOCD keine Einigkeit bezüglich einer geeigneten Therapie besteht.

2.2. Grundlagen – Knochen

Knochen besteht aus organischen und anorganischen Bestandteilen. Die organischen Teile sind zu 95 % Kollagenfasern vom Typ I. Der Zwischenraum ist mit amorpher Substanz, bestehend aus Glykosaminoglykanen und anderen nicht-kollagenen Proteinen, wie Osteonektin und Osteokalzin gefüllt. In dieser Knochenmatrix kristallisiert sich Kalzium in Form von Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) und gibt dem Knochen seine Druck-Festigkeit. Diese Prozesse unterliegen einem ständigen Wechsel zwischen anabolen und katabolen Phasen. So werden pro Jahr ca. 10 % der Knochensubstanz erneuert [81]. Die Knochen dienen auch als Ansatzpunkt für die auf das Skelett wirkenden Muskeln und haben wichtige Aufgaben bei der Speicherung der Knochenminerale [90]. Demgemäß werden etwa 99 % des extrazellulären Kalziums im Knochen gespeichert [81].

2.2.1. Knochen – Makroskopisch

Man unterscheidet anhand der äußeren und inneren Struktur verschiedene Arten von Knochen. Lamellenknochen haben einen typischen Aufbau; sie haben eine äußere Hülle aus Kompakta, sehr dichtem Knochen und eine innere Verstrebung aus Spongiosa. Dadurch sind sie optimal auf die einwirkende, biomechanische

Beanspruchung ausgerichtet. Geflechtknochen hingegen spielen eine wichtige Rolle bei der Knochenentstehung und Frakturheilung. Sie sind mechanisch nicht so belastbar, da sie überwiegend aus weniger mineralisierten, ungerichteten Kollagenfasern bestehen [81].

Als Spongiosa wird das im Inneren der Knochen liegende dreidimensionale Geflecht feinsten Knochenbälkchen, den sogenannten Trabekeln bezeichnet. Diese sind entlang der einwirkenden Kräfte aufgespannt um Druck-, Zug- und Rotationsspannung entgegenzuwirken. Die Dichte und trajektorielle Ausrichtung dieses Netzwerks variiert je nach mechanischer Beanspruchung und kann sich wechselnder Belastung immer von Neuem anpassen. In Gelenknähe kommt es zu einer annähernd parallelen Anordnung der Trabekel. Diese geht von der subchondralen Knochenlamelle aus und zeigt eine physiologischen Ausdünnung Richtung Diaphyse [85]. Die Trabekelstruktur in den Femurkondylen dient der Unterstützung und Lenkung der mechanischen Last von der Epiphyse zur Diaphyse [74]. Der Aufbau als schwammartiges Gitter bildet Lichtungen und Hohlräume zum Schutz von Knochenmark und Blutgefäßen [85]. Der subchondrale Knochen besteht aus einer subchondralen Knochenlamelle und der subartikulären Spongiosa. Die subchondrale Knochenlamelle unterliegt starkem Umbau und erfüllt mechanische und metabolische Aufgaben. So kommt es zu morphologischen Veränderungen bei anhaltender Mehranforderung an das Gewebe. Diese Mineralisation variiert je nach Gelenk und mechanischer Anforderung in Stärke der subchondralen Knochenlamelle und der darunterliegenden Trabekelstruktur [60].

2.2.2. Knochen – Mikroskopisch

Mesenchymale Stammzellen sind in der Lage zu sämtlichen Zellen des Knochens zu differenzieren. So auch zu den drei Hauptknochenzellen Osteoblasten, Osteoklasten und Osteozyten [3].

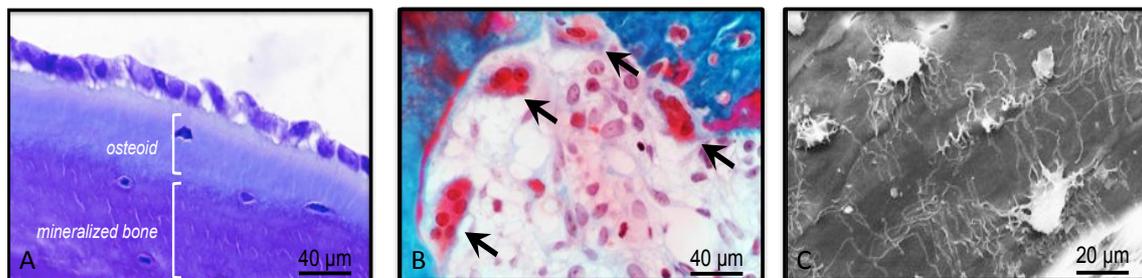


Abbildung 4: Mikroskopische Darstellung der drei Hauptknochenzellen. A: Osteoblasten und sichtbare Differenzierung zwischen Osteoid und bereits mineralisiertem Knochen, B: In Nestformation angeordnete Osteoklasten (schwarze Pfeile), C: Von mineralisierter Knochenmatrix umgebene Osteozyten.

Osteoblasten sind für die anabolen Vorgänge des Knochenstoffwechsels verantwortlich. Sie sind in der Lage, Knochen in mehreren Stufen zu bilden und sind in die Osteoklastogenese integriert [81]. Aktive Osteoblasten befinden sich auf etwa 5 % der freien Knochenoberfläche. Sie sind über charakteristische Zell-Zell-Kontakte, sogenannte tightjunctions, verbunden und finden sich am gesamten Osteoidsaum, welcher sie vom bereits mineralisierten Knochen trennt [70]. Osteoblasten bilden außerdem Osteoid, die organische Grundstruktur des unmineralisierten Knochens [58, 73, 81]. Sie sorgen anschließend dafür, dass Hydroxylapatit, bestehend aus Kalzium und anorganischen Phosphaten, in die unmineralisierten Kollagenfasern eingelagert und dadurch verfestigt wird [48]. Ausdifferenzierte Osteoblasten werden entweder zu Osteozyten oder zu lining cells, welche die Oberfläche des Knochens in einer 1 – 2 µm breiten Schicht abdecken [72]. Als Osteozyten werden von kalzifizierter, mineralisierter Knochenmatrix eingeschlossene Osteoblasten bezeichnet. Sie stellen annähernd 80 % der gesamten Knochenzellen dar und stehen über Nexus und Gap Junctions in Verbindung. Sie dienen im gesunden Knochen dem Stoffaustausch [81] und der Informationsübermittlung von defektem, auszutauschendem Knochen über das *osteocyte-canalicular network* [68].

Aktive Osteoklasten machen circa 0,5 % der Knochenzellen aus und sorgen für die Resorption von Knochen [70]. Sie gehören in die Zellreihe der Makrophagen und differenzieren über RANKL/RANK-Interaktionen mit Osteoblasten aus Präosteoklasten heran [28, 41, 70]. Für die Differenzierung von Promyelozyten über Monozyten zu Osteoklasten spielt Vitamin D eine wichtige Rolle [89]. Der Knochenabbau findet im sauren Milieu statt. Über die *sealing zone* heften sich Osteoklasten an die zu resorbierende Knochenoberfläche und bilden einen abgeschlossenen Raum, um dann über die *ruffled membrane* ATP-abhängig H^+ -Ionen anzuhäufen [5].

2.2.3. Modeling und Remodeling

Modeling bezeichnet den physiologisch stattfindenden Aufbau unreifen Knochens. Im Rahmen von Längenwachstum geschieht dies durch enchondrale Ossifikation im Bereich der Wachstumsfuge, bei Breitenwachstum durch endostale Resorption und periostale Anlagerung [70]. Im Bereich der Wachstumsfugen bilden Chondrozyten Knorpelauszüge, sogenannte Spiculea, an die bestehende Knochenmatrix und wirken somit im Sinne des Längenwachstums [47]. Modeling findet bis zum Erreichen der maximalen Knochenmasse, der peak bone mass (PBM), statt [35, 63]. Der größte Anstieg der Knochenmasse geschieht physiologischerweise am Ende der Pubertät und hat damit positiven Einfluss auf die Knochengesundheit [63]. Das genaue Alter der PBM variiert und ist abhängig von einer ausreichenden Knochenmineralisation während des Knochenwachstums. Die höchste PBM findet sich einige Jahre nach dem Schluss der Wachstumsfuge [35].

Remodeling hingegen wird die Erneuerung bestehenden Knochens in den Howship-Lakunen genannt. Nach der Knochenresorption durch Osteoklasten folgt die Synthese neuen Knochens durch Osteoblasten an ebendieser Stelle [70]. Knochenumbauprozesse, im Sinne von strukturellen Veränderungen der Knochenmatrix, sind an grundlegende Ursachen geknüpft. Dynamische, zeitlich anhaltende mechanische Beanspruchung führt zur fortwährenden Anpassung. Diese stetigen Umbauprozesse reduzieren das Frakturrisiko und sind essentielle Bedingung für die permanente Angleichung an sich ändernde Anforderungen. Die

Mechanotransduktion beschreibt die Anpassung der Knochenzellen an die biomechanische Belastung die auf das Skelett wirken [90]. Das Remodeling erfolgt immer in zwei Schritten. Zunächst bauen Osteoklasten bestehenden Knochen ab. Dann folgen Osteoblasten, die eine nicht mineralisierte Knochenmatrix formen. Diese als Osteoid bezeichnete Knochenvorstufe wird in zwei Stufen mineralisiert [58, 72]. Zunächst wird der Knochen innerhalb weniger Tage auf eine Knochendichte von $1,3 \text{ g/cm}^3$ gebracht. Dann folgt der zweite, langsamere Schritt der die Knochendichte auf $1,9 \text{ g/cm}^3$ erhöht und mindestens 6 Monate dauert [58]. Dieser ständige Umbau befindet sich im gesunden Knochen in einem Gleichgewicht. Er spielt sich in der sogenannten *basic multicellular unit* (BMU) ab. In dieser Arbeitseinheit werden reife Knochen fortwährend ausgetauscht beziehungsweise erneuert. Es handelt sich um die ca. $1 - 2 \text{ mm} \times 0,2 - 0,4 \text{ mm}$ messende Arbeitseinheit der Osteoklasten und Osteoblasten, welche durch den Knochen wandert um diesen zu erneuern [72]. Die Remodeling-Rate der Knochen wird durch die Sexualhormone verlangsamt. Durch Senkung der Osteoblasten- und Osteoklastenzahl hemmen sie die Differenzierung aus ihren Vorläuferzellen. Auf diese Weise haben sie einen apoptotischen Effekt auf Osteoklasten und einen Anti-Apoptotischen Effekt auf Osteoblasten und Osteozyten und schützen so vor Knochenmasseverlust [62]. Die molekularen Mechanismen innerhalb der Knochen dienen zum einen dem Längenwachstum, haben aber auch wesentlichen Anteil an der Mineralisation und Konstanthaltung der Knochenmasse [48].

Knochenwachstum im Bereich der Wachstumsfuge läuft dabei ähnlich der Frakturheilung ab. Bei der enchondralen Ossifikation werden aus undifferenzierten, mesenchymalen Stammzellen differenzierte knorpelbildende Zellen: die Chondroblasten. Zunächst kommt es zur Kalzifizierung des knorpeligen Kallusanteils mit nachfolgendem Einwachsen von Blutgefäßen zur Bereitstellung perivaskulärer Zellen: den Osteoblastenvorläufern. Chondrozyten werden bei diesem Vorgang durch die fortschreitende Kalzifizierung „eingemauert“ und im Zuge der weiteren Knochenentwicklung wieder entfernt. Nach abgeschlossener enchondraler Ossifikation gehen hypertrophe Chondrozyten in Apoptose. Die enchondrale Ossifikation, angrenzend an die Frakturstelle, dauert bis zu 28 Tage. Die Frakturheilung durch desmale/intramembranöse Ossifikation startet einige Tage nach stattgehabter Fraktur unter dem Periost. Desmale/intramembranöse Ossifikation findet

anders als die enchondrale Ossifikation ohne Bildung einer cartilaginären Zwischenstufe durch direkte Bildung von Kallus statt. Das Remodeling, der desmalen/intramembranösen und enchondralen Ossifikation dauert mehrere Wochen. Dementsprechend ist die primäre Spongiosa der Wachstumsfuge nahezu identisch mit kalzifiziertem Knorpel in Frakturkallus. Der an der Frakturstelle entstandene Knochen gleicht somit der sekundären Spongiosa der Wachstumsfuge [26].

2.2.4. Hormone des Knochenstoffwechsels

Der gesamte anabole und katabole Knochenstoffwechsel wird durch eine Vielzahl von endogenen und exogenen Stoffen beeinflusst. Diese lokal und systemisch wirkenden Botenstoffe veranlassen den Knochenauf-, -um- und -abbau durch ihre Wirkung auf Osteoblasten und Osteoklasten. Sie müssen dabei immer in einem abgestimmten Verhältnis zueinander stehen, um die biomechanischen Anforderungen die an das Skelett gestellt werden stets optimal zu regulieren.

Zu den wichtigsten Hormonen gehört das Parathormon (PTH), ein aus 84 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, das in der Nebenschilddrüse gebildet wird und essentielle Aufgaben bei der Aufrechterhaltung der Kalziumhomöostase hat. Es fördert in den Nieren die Rückresorption von Kalzium und hemmt gleichzeitig die Rückresorption von Phosphat damit es zu keiner Ausfällung von Kalziumphosphatkristallen kommt [30]. Damit dient PTH entscheidend der Knochenresorption und dem Knochenaufbau, dem sogenannten Remodeling [30, 70]. Glukokortikoide hemmen die enterale Kalziumresorption und steigern die renale Elimination, was zu einer sinkenden Kalziumkonzentration im Blut führt. Gleichzeitig hemmen Glukokortikoide die Osteoblastenreifung und führen zur Apoptose von reifen Osteoblasten. Dadurch verringern sie die Anzahl knochenbildender Zellen was in der Folge zu einer vermehrten Knochenresorption führt [14, 22, 23]. Calcitonin hemmt die Osteoklastenaktivität und somit die Kalziumfreisetzung aus dem Knochen. Gleichzeitig wird die Kalziumausscheidung über die Niere gefördert und die Resorption im Darm gesenkt [43]. Östrogen beschleunigt die Alterung der Wachstumsfuge durch frühere Ermüdung der Chondrozyten und führt so durch Erschöpfung der Chondrozytenproliferation zum Schluss der Wachstumsfuge [94].

2.2.5. Vitamin D – Synthese, Metabolismus, Mangel

Das lipophile Vitamin D kann mit der Nahrung aufgenommen, vom Körper selbst unter UV-Exposition synthetisiert oder als Nahrungsergänzungsmittel zugeführt werden. Vitamin D Lieferanten sind fettiger Seefisch, Lebertran, Eigelb, Milch, Butter, Margarine und Pilze. Da es auch endogen synthetisiert werden kann, ist es per definitionem kein Vitamin im eigentlichen Sinn.

Die Vorstufe des aktiven Vitamin D, das 7-Dehydrocholesterol wird in der Haut, hauptsächlich im Stratum spinosum und basale unter Einwirkung von UVB-Strahlung der Wellenlänge 290 – 315 nm zu Provitamin D₃ umgewandelt, welches sodann wärmeabhängig in das Isomer Vitamin D₃ übergeht [41]. Über das Vitamin-D-bindende Protein [23] wird Vitamin D₃ zur Leber transportiert, wo der erste Schritt der Aktivierung zu Calcidiol [25(OH)D₃] durchlaufen wird. Dieser Metabolit stellt die Hauptspeicherform dar und sollte für die Bestimmung des Vitamin D Status im Blut genutzt werden [4, 20, 36, 41, 42, 73]. Der abschließende, unter PTH-Kontrolle stehende Schritt, findet vornehmlich in den proximalen Tubuluszellen der Niere statt, kann aber ebenso in den Zellen von Prostata, Brust, Kolon, Lunge, Pankreas, den Monozyten und der Nebenschilddrüse ablaufen [23]. PTH steigert die Aktivität der 1 α -Hydroxylase, dem Schlüsselenzym der Calcitriolsynthese in der Niere [23, 41]. Abschließend folgt die Hydroxylierung an 1- α -Stelle zu 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ [1,25(OH)₂D₃], dem Calcitriol. Dies stellt die biologisch aktive Form dar [37].

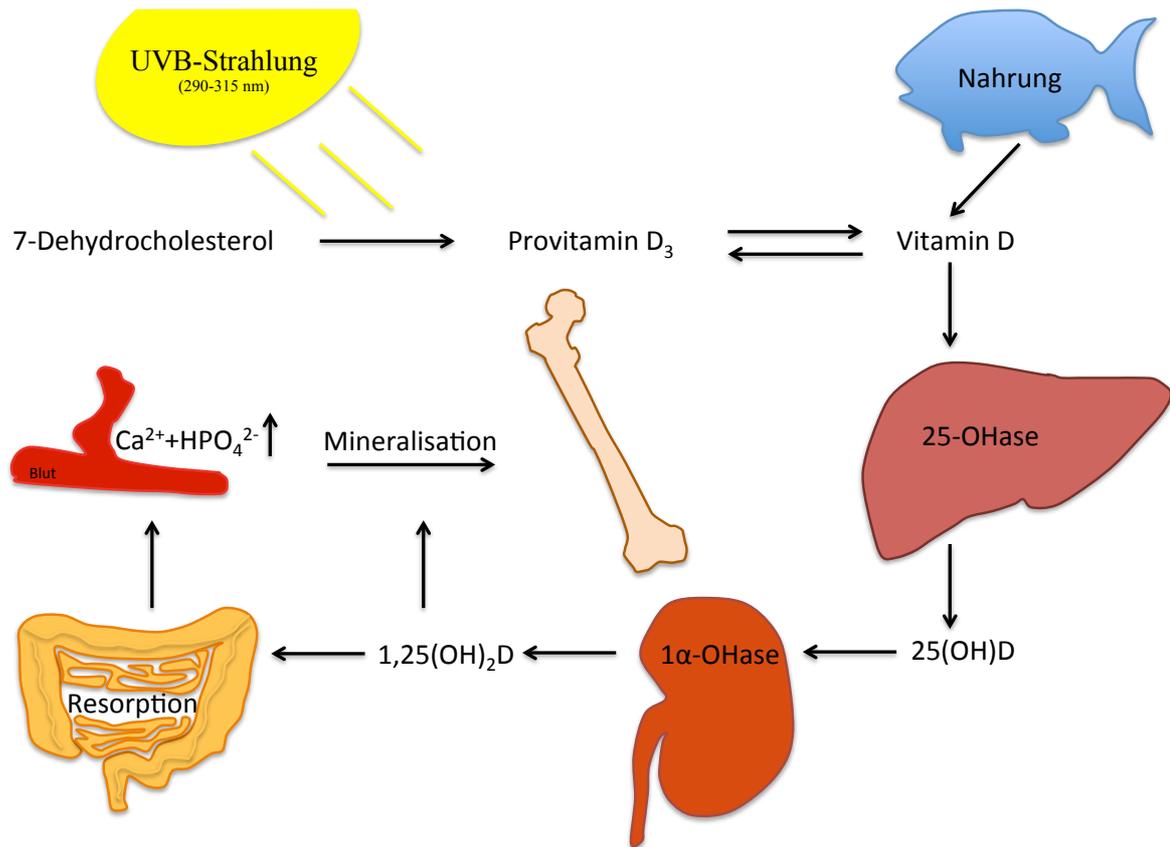


Abbildung 5: Schematische Darstellung von Vitamin D Synthese und Metabolismus und Einfluss auf die Resorption von Kalzium, Phosphat und den Knochenstoffwechsel. Umwandlung von 7-Dehydrocholesterol zu Provitamin D₃ unter UVB-Strahlung (Wellenlänge 290 – 315 nm). Transport durch das Vitamin-D-bindende Protein zur Leber und Aktivierung zu 25(OH)D₃. Hydroxylierung an 1- α -Stelle zur biologisch aktiven Form, dem 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ [1,25(OH)₂D₃]. Dadurch Steigerung der intestinalen Resorption von Kalzium und Phosphat im Dünndarm und Mineralisation der Knochen.

Calcitriol hemmt seine eigene Synthese über negatives Feedback. Außerdem hemmt es die Synthese und Sekretion von PTH und steigert die intestinale Resorption von Kalzium und Phosphat im Dünndarm. Ohne Vitamin D könnten nur etwa 10 – 15 % des Kalziums und ca. 60 % des Phosphats im Dünndarm absorbiert werden. Somit steigert Calcitriol über Bindung am Vitamin D Rezeptor (VDR) in den Zellen des Dünndarmepithels die Kalziumabsorption um annähernd 30 – 40 %, die des Phosphats um bis zu 80 % [41]. Dieser Vitamin D Effekt wird über den intranukleär gelegenen VDR vermittelt [28]. Calcitriol aktiviert aber auch den intrazellulär liegenden Vitamin D Rezeptor (VDR) in anderen Geweben und kontrolliert somit die Transkriptionsraten vieler Zielgene. Darüber hinaus hemmt er malignes, hyperproliferatives Wachstum, moduliert die Immunantwort, reguliert die Apoptose,

kontrolliert das Renin-Angiotensin-System und steigert die Insulinsekretion im Pankreas. Damit spielt die Interaktion von Vitamin D mit dem VDR eine wichtige Rolle bei vielen Erkrankungen, wie der arteriellen Hypertonie, Autoimmun- und Infektionskrankheiten und der Entstehung von Karzinomen [23, 41].

Webb et al. [93] konnten zeigen, dass die synthetisierte Menge an Vitamin D von der geografischer Breite abhängt. In Edmonton, Canada (52° N) reicht die UVB-Strahlung in den Wintermonaten selbst an wolkenlosen Tagen nicht aus, um über die endogene Vitamin D Produktion in der Haut einen ausreichenden 25(OH)D-Serumwert zu erzielen. Nördlich des 37. Breitengrades ist es der Haut zwischen Oktober und März fast nicht möglich endogen Vitamin D zu synthetisieren, um eine optimale Knochengesundheit zu gewährleisten. Der Vitamin D Status sollte über das frei im Blut zirkulierende 25-Hydroxyvitamin D [25(OH)D₃] als Prädiktor für die Knochengesundheit bestimmt werden [4, 20, 36, 41, 42, 73]. Dabei gelten nach Heaney Werte von < 32 µg/l als Hinweis auf verminderte Kalziumaufnahme, mit einer zunehmenden Gefahr für Osteoporose und Knochenbrüche [37]. Bischoff-Ferrari et al. 2006 [4] und Holick et al. 2008 [42] beschrieben einen 25-Hydroxyvitamin D Serumwert von ≥ 30 µg/l als prognostisch günstig für die allgemein positiven Wirkungen von Vitamin D, bei Kolorektalen Karzinomen, Autoimmunerkrankungen, arterieller Hypertonie und Infektionserkrankungen. Dies gilt aber auch für die Knochengesundheit zur Prävention von Rachitis, Osteopenie, Osteoporose und Knochenbrüchen. Priemel et al. [73] konnten 2010 zeigen, dass eine Serumkonzentration von mindestens 30 µg/l zusammen mit einer adäquaten Kalziumaufnahme nötig seien, um keine pathologischen Mineralisationstörungen zu sehen und damit einen gesunden Knochenbau zu gewährleisten. Daher gelten allgemein Serumwerte von ≥ 30 µg/l als erforderlich um eine ausreichende Knochengesundheit und eine angemessene Frakturheilung zu ermöglichen [4, 31, 42, 73]. Serumwerte zwischen 10 – 30 µg/l sprechen für einen mittelgradigen Vitamin D Mangel. Serumwerte < 10 µg/l zeigen einen schweren Vitamin D Mangel an [4, 42, 73]. Ein über längere Zeit bestehender Vitamin D Mangel führt zur Reduktion des Serum-Kalziumlevels. Bei Kindern kann dies zu diffusen Knochenschmerzen [92] aber auch zur Rachitis führen [40]. Grund dafür ist eine reduzierte Kalzium- und Phosphataufnahme über den Darm und eine gesteigerte Phosphatausscheidung über die Nieren. Dies führt in der Folge zu einer verringerten Mineralisation des Knochens

[40]. Daher ist Vitamin D essentiell wichtig für eine ausreichende Knochenmineralisation während des Knochenwachstums [89]. Es trägt zum Aufbau einer hohen *peak bone mass* (PBM) bei und kann so Knochenerkrankungen wie der Osteoporose vorbeugen [88]. Vitamin D ist außerdem für den Aufbau und die Aufrechterhaltung der *bone mineral density* (BMD) wichtig [32], die bei einem bestehenden 25(OH)D₃ Mangel erniedrigt ist [18, 73].

Mit einer Aufnahme von 3600 – 4200 IE/d aus allen dem Körper zur Verfügung stehenden Quellen kann eine Serumkonzentration von > 30 µg/l erreicht werden. Somit kann eine optimale Kalziumresorption aus dem Darm gewährleistet werden, um für eine gute muskuloskeletale Gesundheit zu sorgen. Diese Mengen sind bei normalen Essgewohnheiten nicht zu erreichen [37]. Auch bei zufriedenstellenden 25(OH)D-Werten in den Sommermonaten reicht die Konzentration aufgrund starker Schwankungen nicht für die Wintermonate aus. So empfahlen Bischoff-Ferrari et al. [4] bereits 2006 die Einnahme von ≥ 1000 IE/d für alle Erwachsenen. Kinder die über dem 40. Breitengrad leben sollten 800 IE Vitamin D erhalten [64]. Es ist anzuraten wenigstens während der Wintermonate eine exogene Vitamin D Ergänzung durchzuführen [92, 93]. Der Dachverband Osteologie (DVO) hat in seiner Leitlinie (S3) von 2014 eine Supplementierung von täglich 800 bis 1000 IE Vitamin D empfohlen. Eine Vergiftung durch Vitamin D ist nicht auszuschließen, wenn die Serumkonzentration des 25-Hydroxyvitamin D Werte von 150 µg/l (374 nmol/l) übersteigt [41]. Diese sind sehr selten und nur mit einer Zufuhr von ≥ 50000 IE Vitamin D pro Tag über einen längeren Zeitraum zu erreichen. Sie geht mit Hyperkalzämie, Hyperkalziurie und Hyperphosphatämie einher. Dies kann zur Schädigung der Nieren führen, welche durch Aussetzen der Vitamin D Supplementierung zunächst reversibel ist [53]. Tägliche Vitamin D Einnahmen von bis zu 10000 IE gelten als sicher und sind nicht als schädlich anzusehen [37]. Es ist nicht möglich, dass eine Exposition gegenüber UV-Licht eine Vitamin D Vergiftung verursachen kann, da überschüssiges Vitamin D durch UV-Licht zerstört wird [41].

2.2.6. Knochenstruktur

Die Knochenstruktur kann am effektivsten durch die histomorphometrische Analyse an gefärbten, unentkalkten Biopsien unter dem Mikroskop durchgeführt werden [73]. Der Mineralisationsstatus des Osteoids kann dabei nach Empfehlung der American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR) unter anderem anhand von Strukturparametern wie Zellzahl, Osteoidvolumen (OV/BV [%]), Osteoidoberfläche (OS/BS [%]) und Osteoiddicke (O.Th [μm]) bestimmt werden und mit dem Mineralisationsgrad bereits mineralisierter Knochenmatrix verglichen werden [21, 71]. (OV/BV [%]) bezeichnet das Osteoidvolumen (OV) am gesamten, mineralisierten und unmineralisierten Knochenvolumen (BV). Osteoidoberfläche (OS/BS [%]) bezeichnet Osteoid- pro Knochenoberfläche (BS). Die Osteoiddicke (O.Th [μm]) gibt Auskunft über die durchschnittliche Osteoiddicke in μm . Diese genannten Parameter geben Aufschluss über Knochenmetabolismus und Mineralisierungsgrad des Knochens [71, 76]. Als Osteoid wird die von den Osteoblasten neu gebildete, noch nicht verkalkte, d.h. unmineralisierte Knochenmatrix bezeichnet [58, 73, 81]. Erhöhte Mengen an Osteoidgewebe, d.h. vergrößerte Osteoidoberfläche und gesteigerte Osteoiddicke sind Kennzeichen von Mineralisationstörungen des Knochens [58, 73]. Die Osteoidoberfläche ist gleichsam mit dem gesamten Osteoidvolumen verbunden und kann zusammen mit einer sichtbar gesteigerten Osteoiddicke in histologischen Schnittpräparaten gezeigt werden. Eine vermehrte Osteoklastenaktivität mit gleichzeitiger Minderung der Osteoblastenaktivität führt zu einer Reduzierung der trabekulären Knochenmasse. Auch kommt es zu einer Reduzierung der Kortikalisdicke [76].

3. Material und Methoden

3.1. Patientenkollektiv und Probengewinnung

Das gesamte Patientenkollektiv umfasst 64 Patienten mit juveniler Osteochondrosis dissecans, welche sich aufgrund von Kniebeschwerden in der Kindergelenksprechstunde der Ambulanz des Altonaer Kinderkrankenhauses (AKK) vorstellten.

Zusätzlich zur studienunabhängig durchgeführten Anamnese, körperlichen Untersuchung und MRT Diagnostik des betroffenen Kniegelenks erfolgte die Bestimmung osteologischer Parameter wie Vitamin D (25(OH)D₃), Kalzium (Ca), Phosphat (Phos), Parathormon (PTH), γ -Glutamyltransferase (γ GT) und Alkalische Phosphatase (AP). Die Blutproben wurden mittels Radioimmunassay (DiaSorin) analysiert und der Vitamin D Wert anhand des vorherrschenden Expertenkonsens als: ausreichend $\geq 30 \mu\text{g/l}$, mittelgradiger Mangel $10 - 30 \mu\text{g/l}$ und schwerer Mangel $< 10 \mu\text{g/l}$ bezeichnet [4, 34, 42, 64, 73].

Das Durchschnittsalter der Kinder und Jugendlichen betrug $12,3 (\pm 2,1)$ Jahre. $31,2 \%$ der Probanden waren weiblich und durchschnittlich $11,4 (\pm 2,3)$ Jahre alt. $68,8 \%$ der Probanden waren männlich und mit einem Durchschnittsalter von $12,7 (\pm 1,9)$ Jahren etwas älter als die Mädchen. Das jüngste Kind war sieben Jahre, das älteste 17 Jahre alt. Bei 43 Kindern war das rechte Knie, bei 31 Kindern das linke Knie von der JOCD betroffen. Zehn Kinder hatten JOCD-Läsionen an beiden Knien. D.h. das ganze Patientenkollektiv umfasste 74 Kniegelenke. 52 der JOCD-Läsionen fanden sich in *loco typico* am medialen Kondylus. 22 Knie zeigten eine JOCD-Läsion am lateralen Kondylus.

Tabelle 1: Beschreibung des Patientenkollektivs in Bezug auf das Alter und die betroffene Seite

	Biopsie	Konservativ	Gesamt
Anzahl [n]	9	55	64
Alter [Jahren]			
Mittelwert [M]	13,4	11,8	12,3
Standardabweichung [SD]	±1,2	±2,1	±2,1
Spannweite [R]	12-16	7-17	7-17
Seite [n]			
rechts	8	35	43
links	3	28	31
beidseits	2	8	10

Der Aktivitätsgrad der Kinder und Jugendlichen war im überwiegenden Teil hoch. 85,9 % der Kinder und Jugendlichen gaben an $\geq 3x$ pro Woche sportlich aktiv gewesen zu sein. 9,3 % der Probanden übten ein- bis zweimal pro Woche Sport aus. 4,6 % der Kinder und Jugendlichen gaben an, keinen Sport betrieben zu haben.

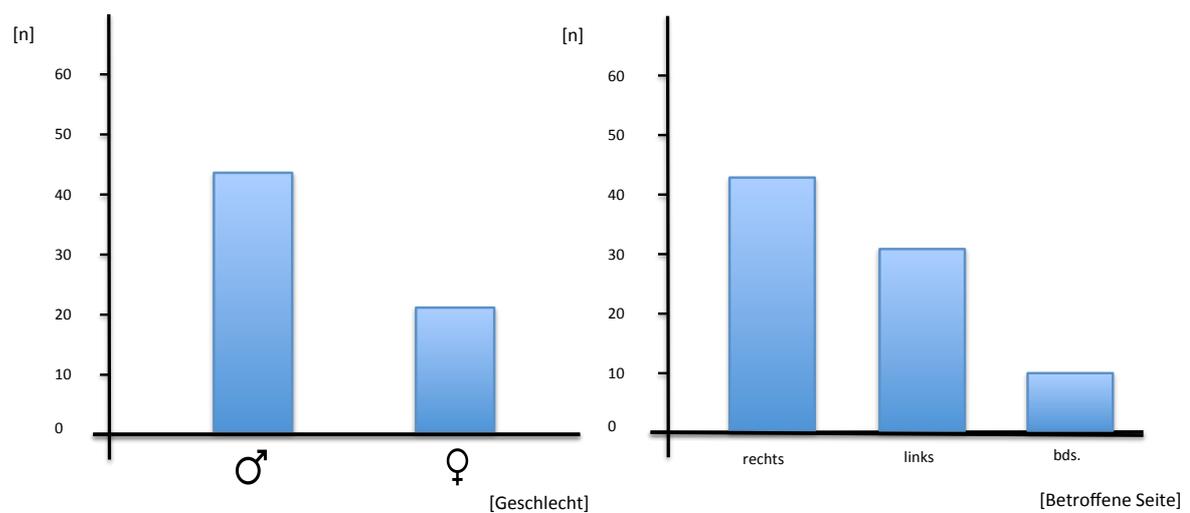


Abbildung 6: Grafische Beschreibung des Patientenkollektivs in Bezug auf Geschlecht und betroffene Seite.

Die Kinder und Jugendlichen spielten Fußball (50,1 %), Tanzen (13,1 %), Trampolin (9,3 %), Hockey (8,2 %) und Turnen (8,2 %). 32,7 % gaben sonstige Sportarten an (Basketball, Handball, Tennis, Badminton, Leichtathletik, Kampfsport). Bei den ausgeführten Sportarten waren Mehrfachnennungen möglich.

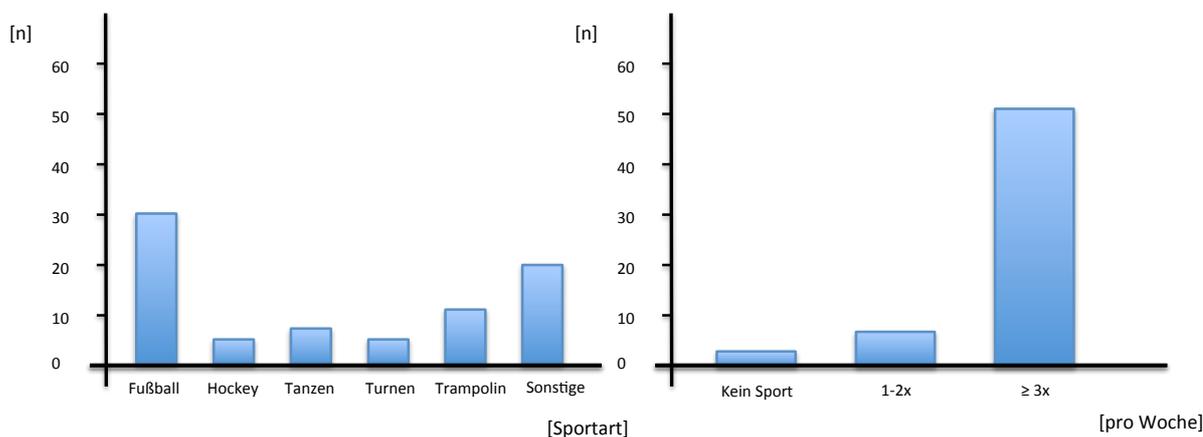


Abbildung 7: Grafische Beschreibung des Patientenkollektivs in Bezug auf die ausgeführte Sportart und den Aktivitätsgrad pro Woche.

Von den 64 Patienten bestand in neun Patienten (Durchschnittsalter: 13,4 (\pm 1,2) Jahre) die Indikation zur operativen Versorgung aufgrund progredienter Läsionsgröße, beginnender MRT-morphologischer Läsionsinstabilität sowie fehlgeschlagener, mindestens 12-monatiger konservativer Behandlung [6]. Im Rahmen der operativen Versorgung (retrograde Anbohrung) wurden elf histologische Präparate von drei weiblichen und sechs männlichen Patienten gewonnen. Da sich bei zwei Kindern die Läsionen an beiden Knien fanden, ergeben sich daraus elf zu analysierende Biopsien. Bei acht Kindern war das rechte Knie von einer JOCD betroffen, bei drei Kindern das linke Knie. Sieben Läsionen fanden sich am medialen Kondylus. In vier Fällen war der laterale Kondylus betroffen.

Durch radiologisch kontrolliert vorgebrachte Kirschnerdrähte im Bereich der JOCD-Läsion wurde ein 2,9 mm messender kanülierter Bohrer geführt, der die sklerosierte Grenzzone durchbricht, um eine Stammzelleinwanderung und eine Verbesserung der Perfusion zu bewirken. Die Bohrungen wurden mit einem Biopsiebohrer Ostycut® der Firma BARD angionmed (Karlsruhe, Germany) ausgeführt. Die arthroskopische Stadieneinteilung erfolgte nach Richtlinien der International Cartilage Repair Society (ICRS OCD) [97].

Als Kontrollen dienten zwei altersentsprechende histologische Präparate, die im Rahmen von Autopsien bei zwei 14-jährigen Mädchen entnommen wurden. Todesursache waren postoperative Sepsis bzw. Pneumonie bei Aplastischer Anämie. Die gewonnenen Kontroll-Biopsien zeigten keinen Anhalt für eine JOCD-Läsion oder andere Knochenerkrankung. Die histologische Analyse ergab einen gesunden Knochenphänotyp. Die gewonnenen histologischen Schnittpräparate wurden in Korrelation mit den osteologischen Laborwerten analysiert.

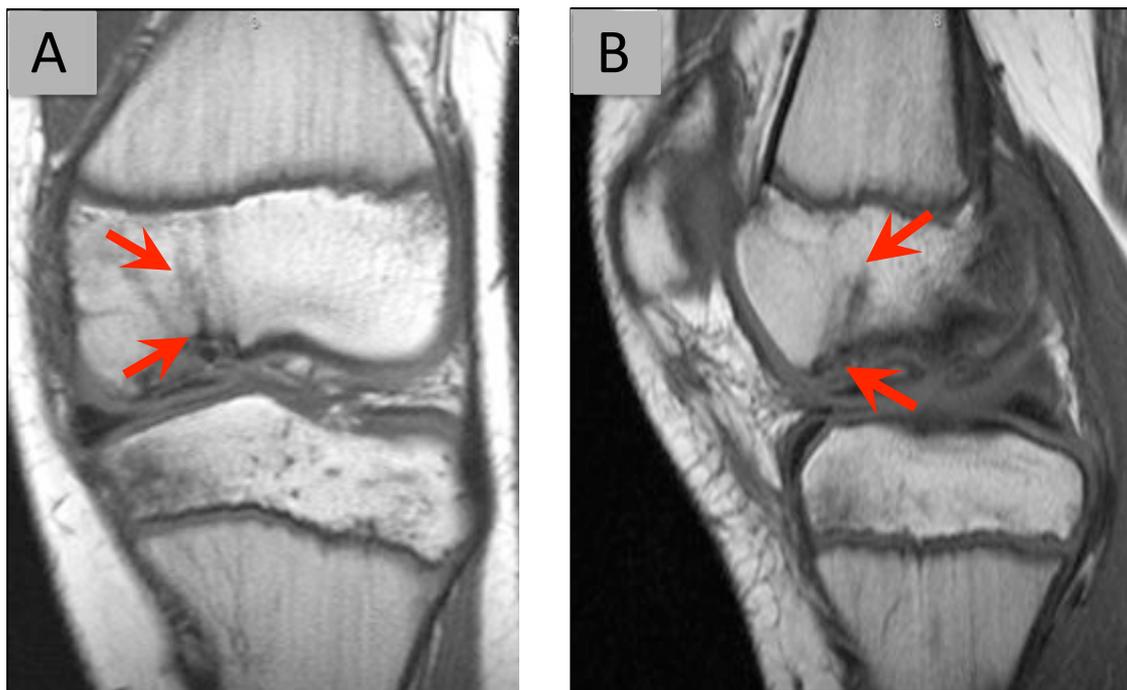


Abbildung 8: Koronares (A) und sagittales (B) MRT-Bild drei Monate nach arthroskopischer Intervention. Rote Pfeile deuten auf Bohrkanäle der histologischen Probengewinnung.

Das konservativ behandelte Kollektiv bestand aus 55 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 11,8 ($\pm 2,1$) Jahren. Acht Kinder wiesen Läsionen an beiden Knien auf. Bei 35 Kindern war das rechte Knie betroffen, bei 28 Kindern das linke Knie. D.h. das konservativ versorgte Kollektiv umfasste 63 Knie. 45 Läsionen fanden sich am medialen Kondylus, 18 am lateralen Kondylus.

Die Patienten und deren Erziehungsberechtigte haben dem Studienprotokoll vor Behandlungsbeginn schriftlich zugestimmt. Die Ethikkommission hat das Studiendesign überprüft und mit positivem Ethikvotum (PV-3795) angenommen.

3.2. Präparationstechnik

Zur Analyse der Mineralisation und subchondralen Knochenstruktur der JOCD-Läsionen wurden die zylindrischen Biopsien anhand von 4 µm dicken histologischen Schnittpräparaten untersucht. Hierzu wurden die unentkalkten histologischen Knochenpräparate aus den JOCD-Läsionen jeweils nach von Kossa, Goldner und mit Toluidinblau gefärbt.

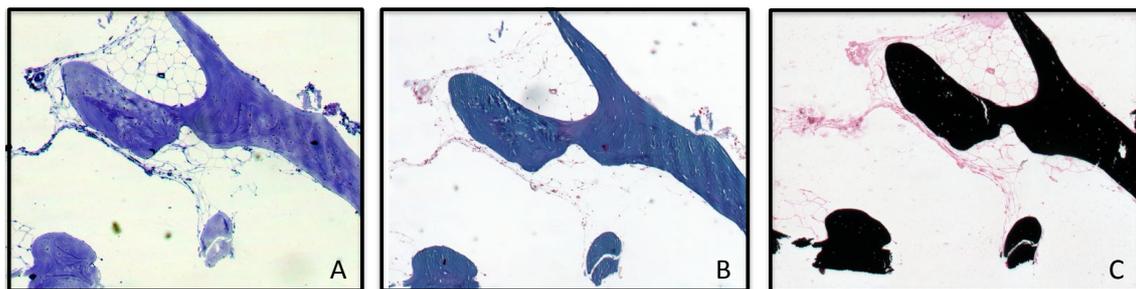


Abbildung 9: Histologische Schnittpräparate eines Spongiosatrabekels in 50-facher Vergrößerung zur Veranschaulichung der verwendeten Färbemethoden. A: gefärbt mit Toluidinblau. B: gefärbt nach Goldner C: gefärbt nach von Kossa.

3.3. Histomorphometrische Auswertung

Die histomorphometrische Auswertung erfolgte an von Kossa gefärbten, unentkalkten histologischen Schnittpräparate mit Hilfe eines Mikroskops (Axioskop 40, Carl Zeiss, Jena, Germany) und des automatischen Bildanalyse-Systems OsteoMeasure der Osteometrics Inc. (Atlanta, Georgia, USA), sowie des Osteoquant Histomorphometrie-Systems von BioQuant Image Analysis Inc. (Nashville, Tennessee, USA). Die Biopsien wurden in zwei Abschnitte (ROIs – regions of interest) gegliedert. Es wurde ein „peripheres“, zum Knochen gelegenes Segment von einem direkt subchondral „juxta-articulär“ gelegenen Segment unterschieden.

Dabei wurden Osteoidvolumen (OV/BV [%]), Osteoidoberfläche (OS/BS [%]) und Osteoiddicke (O.Th [µm]), sowie Osteoblastenzahl (N.Ob/BPm, mm⁻¹), Osteoblastenoberfläche (ObS/BS, %), Osteoklastenzahl (N.Oc/BPm, mm⁻¹), Osteoklastenoberfläche (OcS/BS, %) und Osteozytenzahl (N.Ot/BPm, mm⁻¹) und

Anzahl der leeren Osteozytenlakunen (N.Empty.Lc/BPm, mm^{-1}) nach Empfehlung der American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR) bestimmt (21, 71].

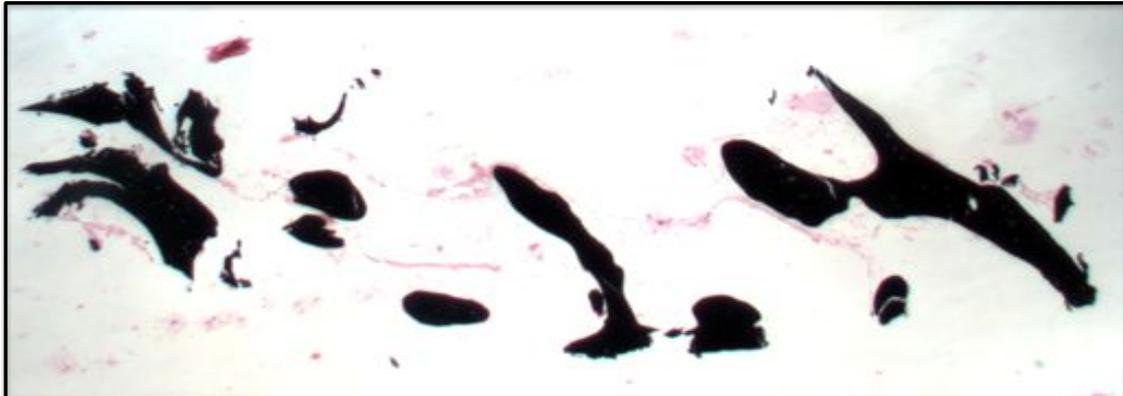


Abbildung 10: Histologisches Schnittpräparat eines gesamten biopsierten Knochenzylinders in 25-facher Vergrößerung; gefärbt nach von Kossa.

4. Ergebnisse

4.1. Histomorphometrische Auswertung

Sechs der elf Biopsien zeigten arthroskopisch normal imponierenden Knorpel ohne Hinweise auf Farbveränderungen, Fissurenbildung oder Erweichung im Bereich der Läsion und waren somit als ICRS OCD I Läsionen zu werten. In den übrigen vier Biopsien zeigte sich der Knorpel partiell oder komplett fissuriert, war aber unter Sondierung stabil (ICRS OCD II). Ein Patient benötigte eine offene Reposition und interne Fixation der osteochondralen Läsion mittels resorbierbaren PLLA (poly-L-lactide) pins (ICRS OCD III).

In den ICRS OCD I Läsionen ($n = 6$) wurden keine Knochenseparationen gefunden. Beide ROIs zeigten vitale Trabekelstrukturen mit gesteigertem Osteoidgehalt, jedoch keinen Anhalt für Osteonekrosen. Der hyaline Gelenkknorpel zeigte sich intakt. Der Osteoidgehalt war in allen gewonnenen JOCD-Biopsien signifikant höher als in den Kontroll-Biopsien. Die „peripheren“ ROIs zeigten ebenso vitale Trabekel. Die Osteozytenanzahl war vergleichbar mit den Kontrollbiopsien und den Biopsien aus ICRS OCD II und III Läsionen. Die Anzahl der leeren Osteozytenlakunen war geringer als in den Kontrollen. Die Trabekel waren mit $120 \mu\text{m}$ normal dick. Darüber hinaus

zeigten die Trabekel eine signifikante Anhäufung von nicht mineralisierter Knochenmatrix (OV/BV $p=0,015$, OS/BS $p=0,015$ und O.Th $p=0,039$) und eine ebenfalls erhöhte Osteoblastenzahl (N.Ob/BPm, mm^{-1} , $p=0,023$).

In den „juxta-articulär“ gelegenen Segmenten zeigte sich ebenfalls kein Hinweis für Osteonekrosen. Die Osteozyten waren gleichmäßig verteilt und die Anzahl der leeren Osteozytenlakunen war geringer als in den Kontrollen. Zusätzlich zeigte sich jedoch eine unerwartet hohe Menge an Osteoid (OV/BV $> 2\%$) ohne Hinweise auf aktive Reparationsmechanismen. Der Osteoidgehalt zeigte sich signifikant erhöht gegenüber den „peripheren“ ROIs (OV/BV $p=0,042$).

In drei von vier ICRS OCD II Läsionen und in der ICRS OCD III Läsion zeigte sich eine komplette oder Teilfragmentierung von proximalem und distalem Segment. Die durchschnittliche Spalttiefe betrug $3,75 (\pm 2,2)$ mm. Die „peripheren“ ROIs zeigten vitale Trabekel im proximalen Bereich. Des Weiteren präsentierte sich Osteoidanhäufung, Knochenmarksfibrose und erhöhte Osteoklastenzahlen als Zeichen erhöhten Knochenumbaus im Bereich des Fragmentspaltes. In einem Fall zeigte sich unreifes Kallusgewebe als Hinweis auf ein mögliches Heilungspotential der Läsion. Es gab keinen Hinweis auf einen erhöhten Zelltod. In den „juxta-articulären“ ROIs zeigte sich ebenfalls kein Hinweis auf eine avaskuläre Nekrose. Irregulär geformtes Trabekelwerk zeigte sich überzogen mit einer erhöhten Anzahl an Osteoblasten, welche Osteoid produzierten (N.Ob/BPm, $p = 0,046$; ObS/BS, $p = 0,032$). Im Gegensatz zu den Kontrollbiopsien (N.Oc/BPm, $p = 0,005$; OcS/BS, $p = 0,032$) und Biopsien aus ICRS OCD I Läsionen (N.Oc/BPm, $p < 0,001$; OcS/BS, $p = 0,001$) waren die ICRS OCD II und III Läsionen mit einer erhöhten Anzahl von knochenresorbierenden Osteoklasten vergesellschaftet. Der zusätzliche Befund erhöhter Vaskularisation, Lymphozyteninfiltration und Gewebefibrosierung deutet auf aktive Reparationsvorgänge innerhalb der Läsionen hin [97]. Der hyaline Gelenkknorpel zeigte in allen JOCD-Biopsien eine normale Anzahl an Chondrozyten üblicher Größe.

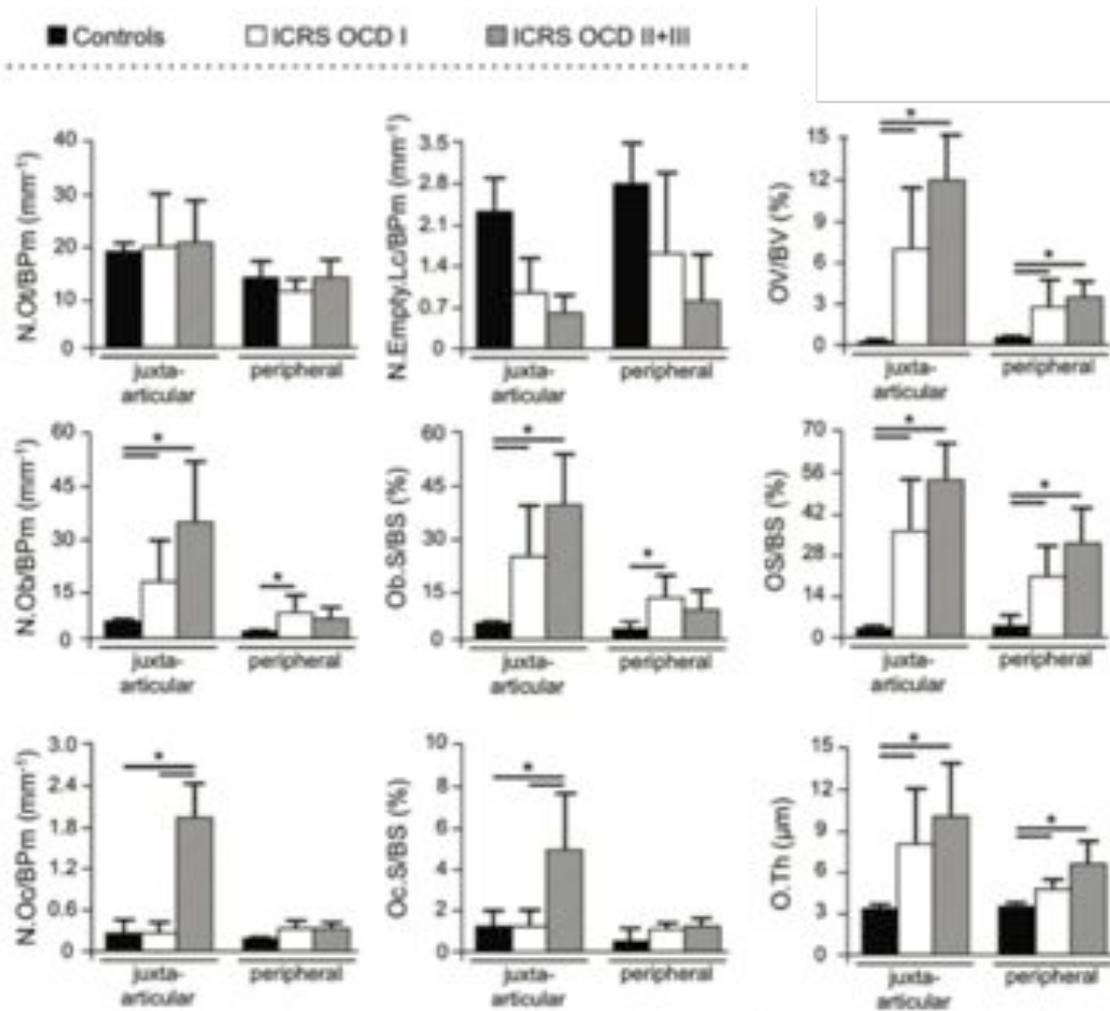


Abbildung 11: Charakterisierung der mittleren Standardabweichung (\pm) von Osteoidvolumen (OV/BV [%]), Osteoidoberfläche (OS/BS [%]) und Osteoiddicke (O.Th [μm]), sowie Osteoblastenzahl (N.Ob/BPm, mm^{-1}), Osteoblastenoberfläche (ObS/BS, %), Osteoklastenzahl (N.Oc/BPm, mm^{-1}), Osteoklastenoberfläche (OcS/BS, %), Osteozytenzahl (N.Ot/BPm, mm^{-1}) und Anzahl der leeren Osteozytenlakunen (N.Empty.Lc/BPm, mm^{-1}) in „peripheren“ und „juxta-articulären“ ROIs von ICRS OCD I (weiße Balken), II und III (graue Balken) Läsionen in Bezug zu den Kontrollbiopsien (schwarze Balken).

Alle Kontroll-Biopsien zeigten normale Beschaffenheit in Bezug auf Knorpel, Knochenmark, Osteozytengestalt- und Anzahl. Es zeigte sich nur vereinzelt eine Anhäufung nicht mineralisierter Knochenmatrix (Osteoid) in physiologischem Ausmaß. Diese Kontrollen konnten als Knochengesund gewertet werden.

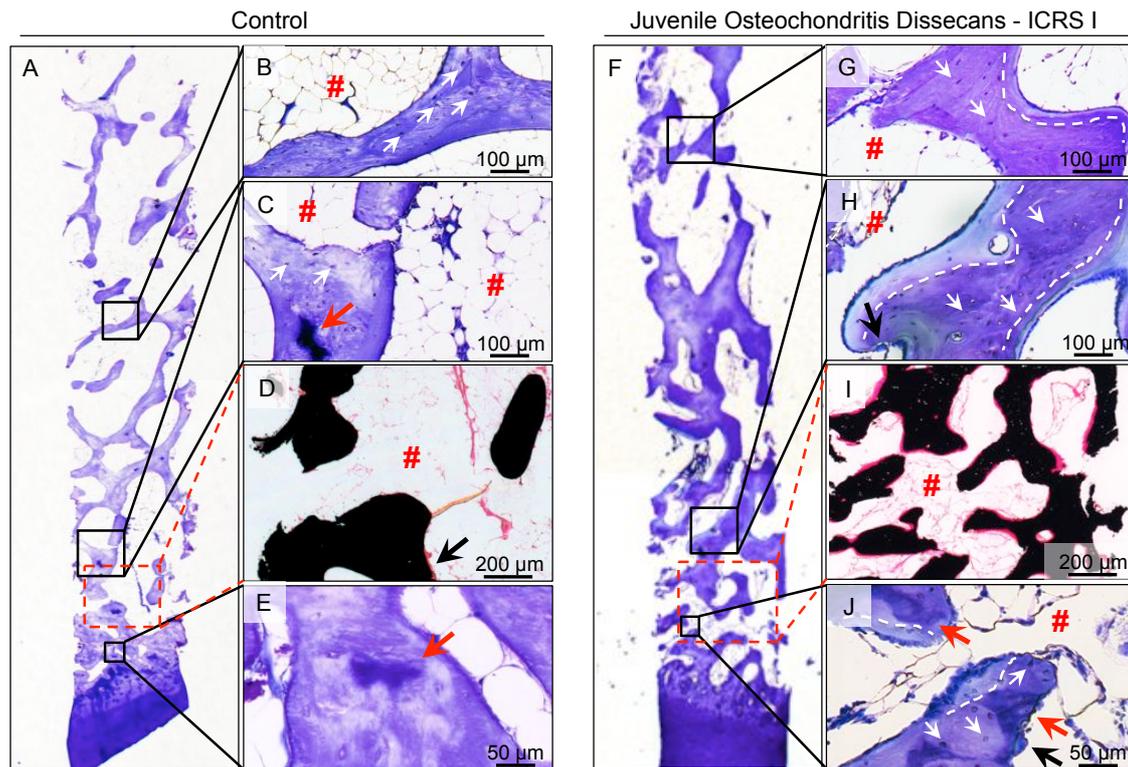


Abbildung 12: Darstellung unentkalkter histologischer Schnittpreparate einer Kontrollbiopsie und eines Biopsats aus einer JOCD-Läsion. A: Übersicht des gesamten Kontroll-Biopsats (gefärbt mit Toluidinblau), B: Proximaler Abschnitt zeigt vitale Trabekel mit Osteozyten (weiße Pfeile) und normales Knochenmark (rote Raute), C: Distaler Abschnitt zeigt vitale Trabekel (weiße Pfeile), partielle Ossifikation (roter Pfeile) und normales Knochenmark (rote Raute), D: vereinzelnde Anhäufung von Osteoid (schwarzer Pfeil, gefärbt nach von Kossa), E: Knorpel-Knochengrenze mit Resten partieller Ossifikation (roter Pfeile). F: Übersicht des JOCD-Biopsats (gefärbt mit Toluidinblau), G: Proximaler Abschnitt zeigt vitale Trabekel mit Osteozyten (weiße Pfeile), normales Knochenmark (rote Raute) und Osteoidanhäufung (gestrichelte weiße Linie), H: Distaler Abschnitt zeigt normales Knochenmark (rote Raute), vitale Trabekel (weiße Pfeile) bedeckt von reichlich Osteoidanhäufung (gestrichelte weiße Linie), mit vereinzelt auftauchenden Osteoklasten (schwarzer Pfeil), I: distaler Abschnitt zeigt eine vermehrte Anhäufung von Osteoid (roter Saum um die Trabekel, gefärbt nach von Kossa), J: Reste partieller Ossifikation (rote Pfeile), vitale Trabekel mit Osteozyten (weiße Pfeile) und normales Knochenmark ohne Zeichen entscheidender Knochenresorption (schwarzer Pfeil), dafür Osteoid mit einer Vielzahl an Osteoblasten (gestrichelte weiße Linie).

4.2. Laborergebnisse

Die Analyse der Laborergebnisse ergab eine durchschnittliche 25(OH)D-Konzentration von 18,2 (\pm 7,7) $\mu\text{g/l}$. Bei 89,1 % der untersuchten Kinder und Jugendlichen ließen sich Vitamin D Werte von unter 30 $\mu\text{g/l}$ nachweisen. 10,9 % der Kinder und Jugendlichen präsentierten mit weniger als 10 $\mu\text{g/l}$ 25(OH)D sogar Werte, die einen schweren Vitamin D Mangel darstellen. Bei den biopsierten Kindern und Jugendlichen lag die laborchemisch bestimmte 25(OH)D-Konzentration im Mittel bei circa 14,9 (\pm 1,2) $\mu\text{g/l}$. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen Mädchen und Jungen ($p = 0,352$). Die durchschnittliche 25(OH)D-Konzentration bei den histologisch untersuchten Kindern und Jugendlichen mit ICRS OCD I Läsionen lag bei 13,6 $\mu\text{g/l}$ (13,1 – 31,2 $\mu\text{g/l}$). Bei den Patienten mit ICRS OCD II und III Läsionen lag der durchschnittliche Vitamin D Serum Wert bei 15,1 $\mu\text{g/l}$ (12,5 – 24,3 $\mu\text{g/l}$).

Tabelle 2: Beschreibung des Patientenkollektivs in Bezug auf Vitamin D Konzentration. Level der Vitamin D – Konzentrationen nach González-Gross et al. [31].

	Gesamtkollektiv (n=64)	Männlich (n = 44)	Weiblich (n = 20)
Alter (Jahren)	12,3 \pm 2,1	12,7 \pm 1,9	11,4 \pm 2,4
Vitamin D - Konzentration, n (%)			
<10 $\mu\text{g/l}$	7 (10,9)	3 (6,8)	4 (20,0)
10-20 $\mu\text{g/l}$	35 (54,7)	25 (56,9)	10 (50,0)
21-30 $\mu\text{g/l}$	15 (23,5)	10 (22,7)	5 (25,0)
>30 $\mu\text{g/l}$	7 (10,9)	6 (13,6)	1 (5,0)

5. Diskussion

Es ist allgemein akzeptiert, dass die JOCD als erworbene, potentiell reversible Erkrankung des subchondralen Knochens gilt und mit der Gefahr der sekundären Knorpelaffektion vergesellschaftet ist [25, 27, 51, 77, 80]. Auch wird sie allgemein als multifaktoriell bedingte Erkrankung angesehen. Dennoch ist die Ätiologie und Pathophysiologie der JOCD aktuell weiter ungenügend geklärt und viele Ursachen und Entstehungsmechanismen sind beschrieben. Die hier vorliegende Arbeit lieferte ergänzende Hinweise um mögliche Ursachen und Entstehungsmechanismen besser zu verstehen. Dies erfolgte durch die Analyse histologischer Knochenzylinder stabiler JOCD Läsionen. Wie initial vermutet war eine Osteonekrose dabei nicht der vorherrschenden Befund in der histologischen Untersuchung.

In einer 2013 veröffentlichten Übersichtsarbeit von Shea et al. [84], beschrieben sieben von zehn Autoren Nekrosen im subchondralen Knochen von JOCD-Läsionen. Hierbei ist allerdings zu beachten, dass es Unterschiede in den untersuchten Präparaten in Bezug auf das Stadium der Läsion, die angewendeten histologischen Verfahren und die in die Studien eingeschlossenen Patienten gab. Es wurden dabei Proben von adulter OCD mit juveniler OCD verglichen. Die in der vorliegenden Arbeit analysierten Biopsien stammen bis auf eine Verlaufsbiopsie aus arthroskopisch primär stabilen JOCD-Läsionen. Sämtliche Biopsien zeigten allesamt keine Anhalte für avaskuläre Osteonekrosen, weder in den peripheren noch in den juxta-articulären ROIs. Der subchondrale Knochen zeigte sich sogar in allen untersuchten JOCD Läsionen (ICRS I, II, und III) stets vital. Daher scheint die Ausbildung von Knochennekrosen mit subchondralen Frakturen nicht der initiale ätiologische Aspekt zu sein [91]. Uozumi et al. [91] fanden nekrotischen Knochen neben vitalem Trabekelwerk und beschrieben eine avaskuläre Osteonekrose (AVN) als eben dieses initiale Ereignis, welches zu einer OCD führen könne. Doch die vorliegenden Ergebnisse stützen diese These von Uozumi et al. nicht. Vielmehr war die Anzahl leerer Osteozytenlakunen, als Zeichen einer Knochennekrose in den hier analysierten ICRS OCD I Biopsien, die ein frühes JOCD-Stadium darstellen geringer vorhanden als in den Kontrollbiopsien. Diese Erkenntnisse decken sich demzufolge mit den 2010 von Yonetani/Nakamura et al. [97] vorgelegten Ergebnissen über vitalen

subchondralen Knochen in stabilen JOCD-Läsionen (ICRS I und II). Somit kann davon ausgegangen werden, dass die im Rahmen einer JOCD auftretende Osteonekrose eher sekundär, nach Dissekatbildung entstanden ist [25]. Schon 1975 von Chiroff and Cooke [19] und 1997 von Koch et al. [50] vorgelegte Resultate zeigten vitalen Knochen in JOCD-Läsionen. Sie beschrieben, dass OCD-Läsionen aus vitalem, hyalinem Gelenkknorpel als distaler Abschnitt, gefolgt von sogenannten Ossifikationskernen, mit hochmineralisiertem, reifem Knochen bestehen. Hochaktives mesenchymales Gewebe führe über enchondrale Ossifikation und fibrocartilaginäre Mineralisation zu neuer Knochensubstanz in einer OCD-Läsion. Diese enchondrale Ossifikation findet am Übergang zum fibrocartilaginären, proximalen Abschnitt an der Basis der Läsion statt. Die in den knorpeligen Anteilen der OCD-Fragmente ablaufenden Vorgänge glichen der Kalzifikation und Ossifikation der kartilaginären Wachstumsfuge des wachsenden Knochens. Sie beschrieben den Knochen aus OCD-Läsionen damit als vital und durch enchondrale Ossifikation des Faserknorpels im Bereich des proximalen Bettes entstanden [19]. Die vorgelegten Ergebnissen sind damit in Übereinstimmung mit früheren Erkenntnissen von Edmonds and Polousky zu werten [25]. Sie zeigten, dass Osteonekrosen in OCD-Läsionen eher sekundär nach Dissekatbildung auftreten als ursächlich dafür zu sein. Zusätzlich zeigten Chiroff and Cooke [19] und Koch et al. [50] das Vorhandensein vermehrter Knochenbildung, Knochenresorption, Osteoidanreicherung und Anreicherung fibrocartilaginären Abschnitten. Dies beschreibt auch die physiologisch ablaufende Situation während der Frakturheilung trabekulären Knochens [21, 25] und wurde bereits in ICRS OCD II und III Läsionen beschrieben [19, 50]. Dies deckt sich mit den von uns gewonnenen Ergebnissen der vorhandenen Biopsien aus ICRS OCD II und III Läsionen und beschreibt die Möglichkeit der Heilung subchondraler Frakturen. Demgegenüber war in allen verfügbaren ICRS OCD I Läsionen kein umschriebener Heilungsprozess erkennbar, dafür aber signifikante Osteoidakkumulation gegenüber den untersuchten Kontrollbiopsien. Diese Erkenntnis wird bekräftigt durch vorangegangene histologische Arbeiten, welche ebenfalls Präparate aus OCD-Läsionen mit Spaltbildung und freien Gelenkkörpern analysierten [33, 57, 91, 96, 97]. Interessanterweise zeigte einer der vorliegenden Fälle mit Spaltbildung zwischen peripherem und juxta-articulärem Fragment unreife Kallusbildung als potentieller Ausdruck der aktiven Frakturheilung in ICRS II und III Läsionen und bekräftigt das Heilungspotential welches auch auf MRT-Untersuchungen gesehen wird.

Demgegenüber zeigten überraschenderweise alle Biopsien aus ICRS I Läsionen keinen umschriebenen Heilungsprozess. Stattdessen zeigten sich normale Fettzellen, ohne Faserknorpel, Phagozyten, erhöhte Vaskularisierung oder erhöhte Knochenresorption. Postoperativ durchgeführte MRT-Kontrollen bestätigten dabei die korrekte Probeentnahme aus der Läsion. Jedoch zeigten sich erhöhte Mengen an Osteoidgewebe (Osteoidose), ansteigend von peripherer zur juxta-articulärer ROI. Das Auftreten erhöhter Mengen an Osteoidgewebe im Sinne einer vergrößerten Osteoidoberfläche und gesteigerten Osteoiddicke, wird als Hyperosteoidose (OV/BV >2 %) bezeichnet und gilt als Hinweis auf eine ossäre Mineralisationsstörung [58, 73]. Zeichen einer Hyperosteoidose findet man bei Erkrankungen wie der Niereninsuffizienz, dem Primären Hyperparathyreoidismus, der Osteodystrophia deformans (Paget-Krankheit) und einem Vitamin D Mangel. Sie wird aber auch im Bereich der Wachstumsfuge und in Frakturkallus vorgefunden [26, 73, 82]. Da bei den hier untersuchten Patienten keine Hinweise auf die vorher beschriebenen Krankheiten oder Zustände, wie Fibroosteoklasie (bei Hyperparathyreoidismus oder Renaler Osteodystrophie), vermehrte Knochenresorption (bei Osteodystrophia deformans und Frakturheilung), reduzierte Osteoblastenzahl (bei Demineralisation des Knochens) vorlagen, ein Vitamin D Mangel aber bei acht von neun Kindern bestand, kann dieser eine lokale Mineralisationsstörung bedingen und zumindest partiell die Entstehung von ICRS OCD I Läsionen erklären. Diese Erkenntnis deckt sich mit dem Fallbericht von Quan et al. [75] aus dem Jahr 2005, die einen Vitamin D Mangel bei einem 12-jährigen Patienten mit Rachitis und beidseitiger JOCD Manifestation in Verbindung bringen konnten.

Die laborchemischen Kontrollen des Patientenkollektivs der vorliegenden Arbeit zeigen, dass bei 89,1 % der Kinder und Jugendlichen ein Vitamin D Mangel von ≤ 30 $\mu\text{g/l}$ vorlag. Nur ca. 10 % der ausgewerteten Blutproben zeigten mit 25(OH)D-Konzentrationen von über 30 $\mu\text{g/l}$ Werte, die in der Literatur eine ausreichende Knochengesundheit markieren [4, 34, 42, 64, 73]. Bei acht von neun biopsierten Kindern und Jugendlichen lag die laborchemisch bestimmte 25(OH)D-Konzentration unter diesem als ausreichend angesehenen Level von 30 $\mu\text{g/l}$. Im Mittel lagen die 25(OH)D-Konzentrationen bei nur 14,9 ($\pm 1,2$) $\mu\text{g/l}$. Vor diesem Hintergrund ist interessant, dass Ferrari et al. [28] bereits 1998 zeigen konnten, dass besonders im Wachstum die Versorgung mit Vitamin D und Kalzium essentiell für den Aufbau und

die Aufrechterhaltung der mineralisierten Knochenmasse ist und somit wesentlich zur regelhaften Knochenentwicklung beiträgt. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten 25(OH)D-Werte decken sich mit den schon 2008 von Hintzpeter et al. [38] vorgelegten Ergebnisse 3- bis 17-jähriger Kinder und Jugendlicher. 25(OH)D-Konzentrationen von $< 30 \mu\text{g/l}$ wurden bei knapp 90 % der Kinder und Jugendlichen gefunden. Dementsprechend konnte die bekannt hohe Prävalenz eines Vitamin D Mangels in der von Hintzpeter untersuchten Altersklasse in dem hier untersuchten Kollektiv mit nahezu identischen 25(OH)D-Konzentrationen bestätigt werden. Der bei dem hier untersuchten Kollektiv beschriebene Vitamin D Mangel ist jedoch keine Besonderheit allein orthopädischer Patienten. Es ist vielmehr ein häufig auftretender Befund bei vermeintlichen knochengesunden Kindern und Jugendlichen und tritt bei bis zu 94 % der Untersuchten in Deutschland auf [38]. Ein bestehender Vitamin D Mangel ist damit nicht als alleiniger Risikofaktor für das Auftreten einer JOCD anzunehmen, denn ein Großteil der Kinder und Jugendlichen mit einem Vitamin D Mangel weisen diesen auf, ohne dabei zwangsläufig eine JOCD zu entwickeln. Dennoch konnte in der vorliegenden Studie der Hinweis auf Kallusbildung im Sinne eines Frakturheilungsprozesses in den untersuchten Proben gesehen werden. In Zusammenschau mit der Kenntnis, dass Vitamin D-Metabolite in Frakturkallus anreichern wird die essentielle Rolle bei der Frakturheilung weiter verdeutlicht [46]. Das heißt, der im beschriebenen Kollektiv gesehene Vitamin D Mangel ist nicht die alleinige Erklärung für die Genese einer JOCD, dennoch Unterstreicht er die Wichtigkeit eines ausgeglichenen Vitamin D Spiegels für am Knochen ablaufende Reparaturprozesse im Sinne einer Frakturheilung. Dies ist besonders vor dem Hintergrund der in den vorliegenden Biopsien beobachteten subchondralen Frakturheilung bei ICRS OCD II und III Läsionen interessant.

Ein anhaltender Vitamin D Mangel führt zu typischen Veränderungen im Knochen. Diese reichen von diffusen Knochenschmerzen über verringerte Mineralisation des Knochens bis zur Ausbildung einer Rachitis oder Osteomalazie [40, 79, 89, 92]. In Zusammenhang mit einem Vitamin D Mangel kommt es zu vermehrter Knochenresorption mit steigendem Frakturrisiko [79]. Der Grund für das steigende Frakturrisiko bei fortwährendem Vitamin D Mangel ist wie erwähnt der nicht mineralisierte Knochen, das Osteoid selbst und das damit einhergehende erschwerte Remodeling des bereits mineralisierten Knochens durch mit Osteoid überdeckten

Knochen [9]. In den analysierten Biopsien zeigte sich mit Osteoid überdecktes Trabekelwerk im gesamten Knochenzylinder mit signifikant steigender Anhäufung mit zunehmender Annäherung zum subchondralen Segment, was Vitalität signalisiert und für einen hohen Knochenumsatz spricht, aber bei zusätzlich vorliegendem Vitamin D Mangel das Remodeling weiter erschwert. Zusätzlich ist beim Vorliegen der bereits zuvor beschriebenen Osteoidose die Belastbarkeit des Knochens reduziert und kann bei Überbeanspruchung somit eher zu Frakturen führen. In diesem Zusammenhang ist ein vorliegender Vitamin D Mangel als Risikofaktor für das Auftreten von Insuffizienzfrakturen beschrieben [55, 78]. Unter der Vermutung, dass die in den vorliegenden Biopsien gesehene Mineralisationsstörung den Knochen anfälliger für mechanischen Stress macht, könnte eine subchondrale Insuffizienzfraktur entstehen und in der Folge zu einer JOCD führen.

Kommt es zur Zerstörung des subchondralen Knochens durch eine Fraktur wäre die Frakturheilung die physiologische Konsequenz. Diese läuft ähnlich dem normalen Knochenwachstum ab. Einhorn [26] zeigte schon 1998, dass primäre Spongiosa der Wachstumsfuge nahezu identisch mit kalzifiziertem Knorpel in Frakturkallus ist, und dass neu entstandener Knochen an einer Frakturstelle der sekundären Spongiosa der Wachstumsfuge gleicht. Parallelen können zu den in dieser Arbeit untersuchten Biopsien gefunden werden. Kallusbildung wurde in einer der analysierten Biopsien zwischen peripherem und juxta-articulärem Fragment gefunden. In Zusammenschau mit dem Auftreten von Gefäßeinsprossung und der Bildung von Fasergewebe unterstreicht dies die Heilungsmöglichkeit des JOCD-Fragments.

Weiter sind Frequenz und Art der Belastung sowie nicht eingehaltene Ruhezeiten als wesentliche Faktoren zu benennen, die zu Läsionen führen können [24]. Dies deckt sich mit Beobachtungen von Field et al. [29] aus dem Jahr 2011, die zeigten, dass es eine signifikante Erhöhung des Risikos für die Entstehung von Stressfrakturen bei sehr aktiven Mädchen gab. Besonders gilt dies für Laufsport und Springen, da repetitiv ein mehrfaches des Körpergewichts einwirkt [59]. Auch in Bezug auf die JOCD gelten repetitive Traumata bei hochaktiven Kindern und Jugendlichen als wesentliche, prädisponierende Faktoren bei der Entstehung [1, 57]. So kommt es auch im Bereich der medialen Femurkondyle mit Kontakt zur Eminentia intercondylaris

[12, 27, 86] und im Gebiet der lateralen Femurrolle z.B. bei Vorhandensein eines Scheibenmeniskusses oder Meniskusrisses zur vermehrten Entstehung einer JOCD [65, 98]. Aufgrund der angeführten Erkenntnisse kann angenommen werden, dass Überaktivität mit repetitiv einwirkenden Kräften und nicht eingehaltene Ruhezeiten zur begünstigten Entstehung einer JOCD beitragen und mögliche Heilungstendenzen einer bereits bestehenden JOCD-Läsion erschwert werden. Vor diesem Hintergrund war interessant, dass knapp 86 % der betreuten Kinder und Jugendlichen hochaktiv waren und $\geq 3x$ pro Woche einem Sport nachgingen. Weitere 9,3 % der Untersuchten machten ein- bis zweimal pro Woche Sport bevor sie sich mit Beschwerden in der orthopädischen Sprechstunde vorstellten. Dies impliziert, dass ausreichende Ruhezeiten nicht gegeben waren. Die hauptsächlich ausgeübten Sportarten waren mit Fußball, Laufsport und Trampolin springen solche, die mit hoher repetitiver, mechanischer Belastung einhergehen und daher als ursächlich bei der Entstehung einer Stressfraktur angesehen werden können. Dies deckt sich mit den 2006 von Ruohola et al. [78] vorgestellten Ergebnissen, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem Vitamin D Mangel und dem gehäuftem Auftreten von Stressfrakturen zeigten. Ebenso wird dadurch die von Cahill und Ahten [13] 2001 aufgestellte These, die Ähnlichkeiten in den histologischen Proben von JOCD-Läsionen und Stressfrakturen beschrieben haben unterstützt. Sie zeigten Osteoidanreicherung und Knochenreparaturprozesse und sahen subchondrale Stressfrakturen nach repetitiven Mikrotraumata als mögliche Ursache für die Entstehung einer JOCD, ohne dies jedoch an strukturierten histologischen Analysen zu beweisen. In Zusammenschau mit der Kenntnis, dass sich bei 89,1 % der untersuchten Kinder und Jugendlichen ein Vitamin D Mangel zeigte und dass der Großteil des Patientenkollektivs hochaktiv war, kann die JOCD zumindest partiell als Folge einer Insuffizienzfraktur aufgrund einer Vitamin D Mangelversorgung angesehen werden. Da die Häufigkeit von Stressfrakturen jedoch durch Substitution von Vitamin D [87] und Kalzium reduziert wird [55], kann weiter angenommen werden, dass für die Prävention und Heilung einer JOCD ähnlich dem physiologischen Knochenwachstum eine ausreichende 25(OH)D-Serumkonzentration von über 30 $\mu\text{g/l}$ angestrebt werden muss und eine Restriktion der Belastung mit ausreichenden Entlastungszeiten verlangt werden sollte.

Diese Arbeit weist einige Limitationen auf. Zunächst beruhen die Ergebnisse der JOCD- und Kontroll-Biopsien nur auf einer geringen Anzahl von Biopsien.

Wünschenswert wäre in diesem Zusammenhang eine Prüfung der gewonnenen Daten an einem größeren Kollektiv. Eine Gewinnung von Kontrollbiopsien aus Kniegelenken primär gesunder Kinder und Jugendlicher war und ist aber ethisch nicht vertretbar. Dennoch ist diese Arbeit wahrscheinlich die Erste, welche eine Analyse an unentkalkten Biopsien durchführte und histologische Proben aus JOCD-Läsionen mit gesunden Kontrollen verglich. Des Weiteren wurde jeweils nur eine Biopsie pro JOCD-Läsion entnommen, was möglicherweise die Läsion nicht ausreichend histologisch beschreibt [84]. Ferner ist zur Erkennung einer Mineralisationstörung gemeinhin die Analyse einer Beckenkammbiopsie das Mittel der Wahl, was jedoch im Rahmen dieses Studiendesigns wiederum aus ethischen Gesichtspunkten nicht möglich war. Dennoch zeigten die Laborergebnisse einen Vitamin D Mangel bei acht von neun biopsierten Probanden. Mittel der Wahl zur Beurteilung mineralisierten Knochens ist die Tetrazyklin-Labelung vor Biopsieentnahme, was im vorliegenden Fall nicht zum Studienprotokoll gehörte. Allerdings kann eine Mineralisationstörung als mögliche Ursache für die erfolgte Osteoidose auch angenommen werden, wenn wie in den vorliegenden Biopsien aus ICRS OCD I Läsionen erhöhte Osteoidmengen gegenüber den Kontrollbiopsien, reduzierte Osteoklastenzahlen mit einem laborchemisch festgestellten Vitamin D Mangel einhergehen.

Da die Vitamin D Konzentrationen saisonal variieren und sich die niedrigsten Werte nach den Wintermonaten im März zeigen, schlagen Hintzpeter et al. [38] eine exogene Vitamin D Zufuhr wenigstens in den Wintermonaten vor. Dies scheint vor allem sinnvoll, da Webb et al. [93] schon 1988 zeigten, dass die endogen synthetisierte Menge an Vitamin D in Edmonton, Kanada (52° N) selbst an sonnigen Tagen während der Wintermonate von Oktober bis März nicht ausreicht um eine optimale Knochengesundheit zu gewährleisten. Vergleicht man die geographische Breite von Hamburg (53° N) mit der von Edmonton, muss man annehmen, dass auch hier keine endogene Vitamin D-Synthese stattfinden kann und somit keine optimale Versorgung mit Vitamin D besonders in den Wintermonaten gesichert ist. Bereits 2004 beschrieb Greer [34] die Wichtigkeit der täglichen, routinemäßigen Vitamin-D Substitution für Kinder und Jugendliche, um der Entstehung einer Rachitis vorzuzugun und chronische Erkrankungen zu minimieren. Ebenso ist bekannt, dass die Häufigkeit von Stressfrakturen durch Substitution von Vitamin D und Kalzium

reduziert werden kann [55, 87].

Mit der Kenntnis, dass Vitamin D eine zentrale Rolle bei dem Aufbau und der Aufrechterhaltung eines gesunden Knochenstoffwechsels spielt und in der Zusammenschau mit den gewonnenen Ergebnissen in Bezug auf die fokalen Mineralisationsdefizite in ICRS OCD I Läsionen scheint der vorhandene Vitamin D Mangel des untersuchten Kollektivs einen weiteren potentiellen Risikofaktor bei der Ätiopathologie einer JOCD darzustellen und sollten bei der Prävention und Therapie dieser zwingend beachtet werden. Eine Supplementierung mit Vitamin D scheint sinnvoll, um 25(OH)D-Serumkonzentrationen von über 30 µg/l zu erreichen und dadurch eine ausreichende Knochenmineralisation und Knochengesundheit zu gewährleisten. Dementsprechend ist nicht nur während des Knochenwachstums, sondern ebenso bei am Knochen ablaufenden Reparationsprozessen auch im Sinne der hier gesehenen aktiven Frakturheilung in ICRS OCD II und III Läsionen, eine optimale Versorgung mit Vitamin D von Bedeutung. Darüber hinaus sollten ausreichende Erholungszeiten für Kinder und Jugendliche gewährleistet sein, um die Möglichkeiten der Entstehung einer JOCD zu reduzieren und ggf. eine konservative Therapie zu ermöglichen und zu unterstützen. Um die Wirksamkeit und den Einfluss der Vitamin D Supplementierung in Bezug auf die Prävention und Therapie einer JOCD zu untersuchen sollte dies in weiteren Studien untersucht werden.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich der subchondrale Knochen in allen untersuchten JOCD-Läsionen (ICRS OCD I, II und III) vital darstellte und keine Hinweise für eine primäre avaskuläre Nekrose vorlagen. Weiter konnten signifikante Osteoidanhäufungen als Zeichen einer bestehenden Osteoidose in ICRS OCD I Läsionen gegenüber den Kontrollbiopsien gesehen werden. Diese lokale Mineralisationsstörung reduziert die Belastbarkeit des Knochens und kann bei mechanischem Stress die Entstehung subchondraler Insuffizienzfrakturen begünstigen. Interessanterweise zeigte einer der vorliegenden Fälle mit Spaltbildung zwischen peripherem und juxta-articulärem Fragment unreife Kallusbildung als potentieller Ausdruck der aktiven Frakturheilung in ICRS II und III Läsionen und bekräftigt das Heilungspotential welches auch auf MRT-Untersuchungen gesehen wird. Dies beschreibt die Möglichkeit der Heilung subchondraler Frakturen was bereits in ICRS OCD II und III Läsionen beschrieben wurde [19, 50]. Überdies konnte laborchemisch bei 89,1 % der untersuchten Kinder und Jugendlichen ein Vitamin D Mangel mit 25(OH)D-Serumwerten von $\leq 30 \mu\text{g/l}$ gemessen werden. Dieser gilt bekanntermaßen als Risikofaktor für die Entstehung von Insuffizienzfrakturen. Daher kann angenommen werden, dass die JOCD des Kniegelenks multifaktoriell bedingt ist; eine Osteonekrose aber nicht als primär ursächlich für die Entstehung einer JOCD anzusehen ist, diese vielmehr sekundär nach subchondraler Insuffizienzfraktur mit folgender Dissekatbildung entstehen könnte. Dementsprechend ist nicht nur während des Knochenwachstums, sondern ebenso bei am Knochen ablaufenden Reparaturprozessen auch im Sinne der aktiven Frakturheilung, wie in ICRS OCD II und III Läsionen beschrieben, eine optimale Versorgung mit Vitamin D von Bedeutung. Außerdem sind ausreichende Erholungszeiten für Kinder und Jugendliche zu gewährleisten, um die Entstehung einer JOCD präventiv zu verhindern oder eine Ausheilung suffizient zu unterstützen. Es sind weitere Studien nötig, um die Wirksamkeit und den Einfluss der Vitamin D Supplementierung in Bezug auf die Therapie und Prävention der JOCD zu untersuchen.

7. Abkürzungsverzeichnis

AE-Komplex – articulo-epiphysärer Komplex

AKK – Altonaer Kinderkrankenhaus

AP – Alkalische Phosphatase

ASBMR – American Society of Bone and Mineral Research

ATP – Adenosintriphosphat

AV – Avaskuläre Nekrose

BMD – bone mineral density

BMU – basic multicellular unit

BS – Osteoid pro Knochenoberfläche

BV – gesamtes mineralisiertes und unmineralisiertes Knochenvolumen

Ca – Kalzium

DVO – Dachverband Osteologie e.V.

ICRS – International Cartilage Repair Society

IE – Internationale Einheit

JOCD – Juvenile Osteochondrosis dissecans

MRT – Magnetresonanztomographie

OCD – Osteochondrosis dissecans

O.Th – Osteoiddicke

OV – Osteoidvolumen

PBM – peak bone mass

Phos – Phosphat

PTH – Parathormon

RANK – Receptor Activator of NF- κ B

RANKL – Receptor Activator of NF- κ B Ligand

REM – Rasterelektronenmikroskop

RKI – Robert Koch Institut

ROI – region of interest

VDR – Vitamin D Rezeptor

γ GT – γ -Glutamyltransferase

8. Literaturverzeichnis

1. **Aichroth P (1971)** Osteochondritis dissecans of the knee: a clinical survey. *J Bone Joint Surg Br.* 53(3):440-447
2. **Berndt AL, Harty M (1959)** Transchondral fractures (osteochondritis dissecans) of the talus. *J Bone Joint Surg.* 41A:988
3. **Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG (2001)** Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells.* 19(3):180-92
4. **Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B (2006)** Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 84(1):18-28
5. **Blair HC, Teitelbaum SL, Ghiselli R, Gluck S (1989)** Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. *Science.* 245(4920):855-857. DOI: 10.1126/science.2528207
6. **Bohndorf K (1998)** Osteochondritis (osteochondrosis) dissecans: a review and new MRI classification. *Eur Radiol.* 8:103-112
7. **Brittberg M, Winalski CS (2003)** Evaluation of cartilage injuries and repair. *J Bone Joint Surg Am.* 85-A Suppl 2:58-69
8. **Brückl R, Rosemeyer B, Thiermann G (1984)** Osteochondrosis Dissecans of the Knee. *Arch Orthop Trauma Surg.* 102(4):221-224
9. **Busse B, Bale HA, Zimmermann EA, Panganiban B, Barth HD, Carriero A, Vettorazzi E, Zustin J, Hahn M, Ager III JW, Püschel K, Amling M, Ritchie RO (2013)** Vitamin D deficiency induces early signs of aging in human bone, increasing the risk of fracture. *Sci Transl Med.* 5(193):193ra188

10. **Caffey J, Madell SH, Royer C, Morales P (1958)** Ossification of the distal femoral epiphysis. *J Bone Joint Surg Am.* 40:647-714
11. **Cahill BR, Phillips MR, Navarro R (1989)** The results of conservative management of juvenile osteochondritis dissecans using joint scintigraphy. *Am J Sports Med.* 17: 601. DOI: 10.1177/036354658901700502
12. **Cahill BR (1995)** Osteochondritis Dissecans of the Knee: Treatment of Juvenile and Adult Forms. *J Am Acad Orthop Surg.* 3(4):237-247
13. **Cahill BR, Ahten SM (2001)** The three critical components in the conservative treatment of juvenile osteochondritis dissecans (JOCD). Physician, parent, and child. *Clin Sports Med.* 20:287-98
14. **Canalis E, Giustina A (2001)** Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: Summary of a Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 86(12):5681
15. **Carlson CS, Hilley HD, Henrikson CK (1985)** Ultrastructure of normal epiphyseal cartilage of the articular-epiphyseal cartilage complex in growing swine. *Am J Vet Res.* 46(2):306-13
16. **Carlson CS, Hilley HD, Henrikson CK, Meuten DJ (1986)** The ultrastructure of osteochondrosis of the articular-epiphyseal cartilage complex in growing swine. *Calcif Tissue.* 38(1):44-51
17. **Carlson CS, Hilley HD, Meuten DJ (1989)** Degeneration of Cartilage Canal Vessels Associated With Lesions of Osteochondrosis in Swine. *Vet Pathol* 26:47-54 DOI: 10.1177/030098588902600108
18. **Cashman KD, Hill TR, Cotter AA, Boreham CA, Dubitzky W, Murray L, Strain J, Flynn A, Robson PJ, Wallace JM, Kiely M (2008)** Low vitamin D status adversely affects bone health parameters in adolescents. *Am J Clin Nutr.* 87(4):1039-1044

19. **Chiroff RT, Cooke CP (1975)** Osteochondritis dissecans: A histologic and microradiographic analysis of surgically excised lesions. *J Trauma*. 15(8):689-696
20. **De Luca HF(2004)** Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 80(6):1689S-1696S
21. **Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR, Parfitt AM (2013)** Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*. 28(1):2-17
22. **Doga M, Bonadonna S, Giustina A (2004)** Glucocorticoids and bone: cellular, metabolic and endocrine effects. *Hormones*. 3(3):184-90
23. **Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E (2005)** Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*. 289(1):F8-28
24. **Dye S (1996)** The knee as a biologic transmission with an envelope of function. *Clin Orthop*. 323:10-18
25. **Edmonds EW, Polousky J (2013)** A review of knowledge in osteochondritis dissecans: 123 years of minimal evolution from Konig to the ROCK study group. *Clin Orthop Relat Res*. 471(4):1118-1126
26. **Einhorn TA (1998)** The Cell and Molecular Biology of Fracture Healing. *Clin Orthop Relat Res*. 355:S7-21
27. **Fairbanks H (1933)** Osteochondritis dissecans. *Br J Surg*. 21:67-82

28. **Ferrari S, Bonjour JP, Rizzoli R (1998)** The Vitamin D Receptor Gene and Calcium Metabolism. Trends in Endocrinol Änderungen Metabolism. 9(7):259-265
29. **Field AE, Gordon CM, Pierce LM, Ramappa A, Kocher MS (2011)** Prospective study of physical activity and risk of developing a stress fracture among preadolescent and adolescent girls. Arch Pediatr Adolesc Med. 165(8):723-8. doi: 10.1001/archpediatrics.2011.34
30. **Gensure RC, Gardella TJ, Jüppner H (2005)** Parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide, and their receptors. Biochem Biophys Res Commun. 328(3):666-78
31. **González-Gross M, Valtuena J, Breidenassel C, Moreno LA, Ferrari M, Kersting M, De Henauw S, Gottrand F, Azzini E, Widhalm K, Kafatos A, Manios Y, Stehle P (2012)** Vitamin D status among adolescents in Europe: the Healthy Lifestyle in Europe by Nutrition in Adolescence study. Br J Nutr. 107(5):755-764
32. **Grant WB, Holick MF (2005)** Benefits and Requirements of Vitamin D for Optimal Health: A Review. Altern Med Rev. 10(2):94-111
33. **Green WT, Banks HH (1953)** Osteochondritis Dissencans in Children. J Bone Joint Surg Am. 35:26-64
34. **Greer FR (2004)** Issues in establishing vitamin D recommendations for infants and children. Am J Clin Nutr. 80(6):1759S-1762S
35. **Heaney RP, Abrahams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C (2000)** Peak Bone Mass. Osteoporos Int. 11:985-1009

36. **Heaney RP (2004)** Functional indices of vitamin D status and ramifications of vitamin D deficiency. *Am J Clin Nutr.* 80(6):1706S-9S
37. **Heaney RP (2007)** Vitamin D endocrine physiology. *J Bone Miner Res.* 22(2):V25-7
38. **Hintzpeter B, Scheidt-Nave C, Müller MJ, Schenk L, Mensink GB (2008)** Higher Prevalence of Vitamin D Deficiency Is Associated with Immigrant Background among Children and Adolescents in Germany. *J Nutr.* 138(8):1482-1490
39. **Hintzpeter B, Mensink GB, Thierfelder W, Müller MJ, Scheidt-Nave C (2008)** Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr.* 62(9):1079-89
40. **Holick MF (2006)** Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 116(8):2062-72
41. **Holick MF (2007)** Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 357(3):266-81
42. **Holick MF, Chen TC (2008)** Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr.* 87(4):1080S-6S
43. **Horne WC, Shyu JF, Chakraborty M, Baron R (1994)** Signal transduction by calcitonin: Multiple ligands, receptors, and signaling pathways. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 5(10):395-401
44. **Hughston JC, Hergenroeder PT, Courtenay BG (1984)** Osteochondritis dissecans of the femoral condyles. *J Bone Joint Surg Am.* 66:1340–1348

45. **Jans L, Jaremko J, Ditchfield M, De Coninck T, Huysse W, Moon A, Verstraete K (2012)** Ossification variants of the femoral condyles are not associated with osteochondritis dissecans. *Eur J Radiol.* 81(11):3384-9. doi:10.1016/j.ejrad.2012.01.009

46. **Jingushi S, Iwaki A, Higuchi O, Azuma Y, Ohta T, Shida JI, Izumi T, Ikenoue T, Sugioka Y, Iwamoto Y (1998)** Serum 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 accumulates into the fracture callus during rat femoral fracture healing. *Endocrinology.* 139(4):1467-1473

47. **Karsenty G (1999)** The genetic transformation of bone biology. *Genes Dev.* 13(23): 3037-51

48. **Karsenty G. (2003)** The complexities of skeletal biology. *Nature.* 423(6937):316-8

49. **Kessler JI, Nikizad H, Shea KG, Jacobs JC, Bebhuk JD, Weiss JM (2014)** The Demographics and Epidemiology of Osteochondritis Dissecans of the Knee in Children and Adolescents. *Am J Sports Med.* 42(2):320-326. DOI: 10.1177/0363546513510390

50. **Koch S, Kampen WU, Laprell H (1997)** Cartilage and bone morphology in osteochondritis dissecans. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 5(1):42-45

51. **Kocher MS, Tucker R, Ganley TJ, Flynn JM (2006)** Management of Osteochondritis Dissecans of the Knee. *Am J Sports Med.* 34(7):1181-1191

52. **König F. (1888)** Ueber freie Körper in den Gelenken. *Dtsch Z Chir.* 27:90-109

53. **Koutkia P, Chen TC, Holick MF (2001)** Vitamin D intoxication associated with an over-the-counter supplement. *N Engl J Med.* 345(1):66-7

54. **Krause M, Hapfelmeier A, Moller M, Amling M, Bohndorf K, Meenen NM (2013)** Healing predictors of stable juvenile osteochondritis dissecans knee lesions after 6 and 12 months of nonoperative treatment. *Am J Sports Med.* 41(10):2384-2391
55. **Lappe J, Cullen D, Haynatzki G, Recker R, Ahlf R, Thompson K (2008)** Calcium and vitamin d supplementation decreases incidence of stress fractures in female navy recruits. *J Bone Miner Res.* 23(5):741-749
56. **Linden B (1976)** The incidence of osteochondritis dissecans in the condyles of the femur. *Acta Orthop. Scand.* 47:664
57. **Linden B, Telhag H (1977)** Osteochondritis dissecans. A histologic and autoradiographic study in man. *Acta Orthop Scand.* 48(6):682-686
58. **Lips P (2001)** Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev.* 22(4):477-501
59. **Loud KJ, Gordon CM, Micheli LJ, Field AE (2005)** Correlates of Stress Fractures Among Preadolescent and Adolescent Girls *Pediatrics.* 115:e399
DOI: 10.1542/peds.2004-1868
60. **Madry H, van Dijk CN, Mueller-Gerbl M (2010)** The basic science of the subchondral bone. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 18(4):419-433. doi: 10.1007/s00167-010-1054-z
61. **Mann RA, Hagy J (1980)** Biomechanics of walking, running, and sprinting. *Am J Sports Med.* 8(5):345-350
62. **Manolagas SC, Kousteni S, Jilka RL (2002)** Sex Steroids and Bone. *Recent Prog Horm Res.* 57:385-409

63. **Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, Ilich JZ, Goel PK, Wright JK, Andon MB, Smith KT, Heaney RP (1994)** Timing of Peak Bone Mass in Caucasian Females and Its Implication for the Prevention of Osteoporosis - Inference from a Cross-sectional Model. *J Clin Invest.* 93(2):799-808
64. **Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M (2008)** Vitamin D Deficiency in Children and Its Management: Review of Current Knowledge and Recommendations. *Pediatrics.* 122(2):398-417. doi: 10.1542/peds.2007-1894
65. **Mizuta H, Nakamura E, Otsuka Y, Kudo S, Takagi K (2001)** Osteochondritis Dissecans of the Lateral Femoral Condyle Following Total Resection of the Discoid Lateral Meniscus. *Journal of Arthroscopic and Related Surgery.* 17(6):608-612
66. **Morrison JB (1970)** The mechanics of the knee joint in relation to normal walking. *J Biomech.* 3(1):51-61
67. **Mubarak SJ, Carroll NC (1981)** Juvenile osteochondritis dissecans of the knee: etiology. *Clin Orthop.* 157:200-211
68. **O'Brien CA , Jia D, Plotkin LI, Bellido T, Powers CC, Stewart SA, Manolagas SC, Weinstein RS (2004)** Glucocorticoids Act Directly on Osteoblasts and Osteocytes to Induce Their Apoptosis and Reduce Bone Formation and Strength. *Endocrinology.* 145(4):1835-1841 doi: 10.1210/en.2003-0990
69. **Olstad K, Hendrikson EH, Carlson CS, Ekman S, Dolvik NI (2013)** Transection of vessels in epiphyseal cartilage canals leads to osteochondrosis and osteochondrosis dissecans in the femoro-patellar joint of foals; a potential model of juvenile osteochondritis dissecans. 21(5):730-8. doi: 10.1016/j.joca.2013.02.005

70. **Parfitt AM (1976)** The Actions of Parathyroid Hormone on Bone: Relation to Bone Remodeling and Turnover, Calcium Homeostasis, and Metabolic Bone Disease. Part I of IV Parts: Mechanisms of Calcium Transfer Between Blood and Bone and Their Cellular Basis: Morphological and Kinetic Approaches to Bone Turnover *Mefobofism*. 25(7):809-844
71. **Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, Ott SM, Recker RR (1987)** Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*. 2(6):595-610
72. **Parfitt AM (1994)** Osteonal and hemi-osteonal remodeling: The spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J Cell Biochem*. 55:273-286. doi: 10.1002/jcb.240550303
73. **Priemel M, von Domarus C, Klätte TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, Proksch N, Pastor F, Netter C, Streichert T, Püschel K, Amling M. (2010)** Bone Mineralization Defects and Vitamin D Deficiency: Histomorphometric Analysis of Iliac Crest Bone Biopsies and Circulating 25-Hydroxyvitamin D in 675 Patients. *J Bone Miner Res*. 25(2):305-312
74. **Pugh JW, Rose RM, Radin EL (1973)** A structural model for the mechanical behavior of trabecular bone. *J Biomech*. 6(6):657-670
75. **Quan AW, Beall DP, Berry ER, Ly JQ, Sweet CF, Fish JR (2005)** A case of osteochondritis dissecans in rickets. *Emerg Radiol*. 11(4):219-221
76. **Rehman MT, Hoyland JA, Denton J, Freemont AJ (1994)** Age related histomorphometric changes in bone in normal British men and women. *J Clin Pathol*. 47(6):529-34
77. **Robertson W, Kelly BT, Green DW (2003)** Osteochondritis dissecans of the knee in children. *Curr Opin Pediatr*. 15:38-44

78. **Ruohola JP, Laaksi I, Ylikomi T, Haataja R, Mattila VM, Sahi T, Tuohimaa P, Pihlajamäki H (2006)** Association between serum 25(OH)D concentrations and bone stress fractures in Finnish young men. *J Bone Miner Res.* 21(9):1483-1488
79. **Sai AJ, Walters RW, Fang X, Gallagher JC (2011)** Relationship between Vitamin D, Parathyroid Hormone, and Bone Health. *J Clin Endocrinol Metab.* 96(3):E436-E446. doi: 10.1210/jc.2010-1886
80. **Schenck RC, Goodnight JM (1996)** Current concepts review. Osteochondritis dissecans. *J Bone Joint Surg Am.* 78:439-456
81. **Schiebler TH, Korf HW (2007)** Anatomie: Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie. 10. Aufl., Steinkopff-Verlag
82. **Seitz S, Priemel M, Zustin J, Beil FT, Semler J, Minne H, Schinke T, Amling M (2009)** Paget's disease of bone: histologic analysis of 754 patients. *J Bone Miner Res.* 24(1):62-69
83. **Shea KG, Jacobs JC, Jr., Grimm NL, Pfeiffer RP (2012)** Osteochondritis dissecans development after bone contusion of the knee in the skeletally immature: a case series. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 21(2):403-407
84. **Shea KG, Jacobs JC Jr, Carey JL, Anderson AF, Oxford JT (2013)** Osteochondritis dissecans knee histology studies have variable findings and theories of etiology. *Clin Orthop Relat Res.* 471(4):1127-36. doi: 10.1007/s11999-012-2619-6
85. **Singh I (1978)** The architecture of cancellous bone. *J Anat.* 127(2):305-310
86. **Smillie I (1957)** Treatment of osteochondritis dissecans. *J Bone Joint Surg Br.* 39:248-260

87. **Sonneville KR, Gordon CM, Kocher MS, Pierce LM, Ramappa A, Field AE.** (2012) Vitamin d, calcium, and dairy intakes and stress fractures among female adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 166(7):595-600. doi: 10.1001/archpediatrics.2012.5
88. **Stránský M, Rysavá, L (2009)** Nutrition as prevention and treatment of osteoporosis. *Physiol Res.* 58(1):S7-S11
89. **Suda T, Ueno Y, Fujii K, Shinki T (2003).** Vitamin D and bone. *J Cell Biochem.* 88(2):259-266
90. **Turner CH, Pavalko FM (1998)** Mechanotransduction and functional response of the skeleton to physical stress: The mechanisms and mechanics of bone adaptation. *J Orthop Sci.* 3:346-355
91. **Uozumi H, Sugita T, Aizawa T, Takahashi A, Ohnuma M, Itoi E (2009)** Histologic findings and possible causes of osteochondritis dissecans of the knee. *Am J Sports Med.* 37(10):2003-8. doi: 10.1177/0363546509346542
92. **Voloc A, Esterle L, Nguyen TM, Walrant-Debray O, Colofitchi A, Jehan F, Garabedian M (2010)** High prevalence of genu varum/valgum in European children with low vitamin D status and insufficient dairy products/calcium intakes. *Eur J Endocrinol.* 163:811-817
93. **Webb AR, Kline L, Holick MF (1988)** Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D₃ synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab.* 67(2):373-378
94. **Weise M, De-Levi S, Barnes KM, Gafni RI, Abad V, Baron J (2001)** Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. *Proc Natl Acad Sci.* 98:6871-6876

95. **Wilson JN (1967)** A diagnostic sign in osteochondritis dissecans of the knee. *J Bone Joint Surg Am.* 49(3):477-480

96. **Yonetani Y, Matsuo T, Nakamura N, Natsuume T, Tanaka Y, Shiozaki Y, Wakitani S, Horibe S (2010)** Fixation of detached osteochondritis dissecans lesions with bioabsorbable pins: clinical and histologic evaluation. *Arthrosc.* 26(6):782-789

97. **Yonetani Y, Nakamura N, Natsuume T, Shiozaki Y, Tanaka Y, Horibe S (2010)** Histological evaluation of juvenile osteochondritis dissecans of the knee: a case series. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 18(6):723-30. doi: 10.1007/s00167-009-0898-6

98. **Yoshida S, Ikata T, Takai H, Kashiwaguchi S, Katoh S, Takeda Y (1998)** Osteochondritis dissecans of the femoral condyle in the growth stage. *Clin Orthop.* 346:162-170

99. **Ytrehus B, Carlson CS, Ekman S (2007)** Etiology and Pathogenesis of Osteochondrosis. *Vet Pathol.* 44:429-448

9. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Norbert M. Meenen danke ich für die Überlassung dieses überaus packenden Dissertationsthemas, das in mir die Freude an wissenschaftlicher Tätigkeit und an Orthopädie bei Kindern geweckt hat. Darüber hinaus danke ich für die Einblicke, die ich über diese Arbeit hinaus in seiner Kinderorthopädischen Sprechstunde sammeln konnte.

Herrn Privatdozent Dr. med. Matthias Krause gilt mein besonderer Dank für die intensive und professionelle Betreuung und Beantwortung aller meiner für ihn wohl manchmal sehr einfach erscheinenden Fragen.

Bedanken möchte ich auch bei den Mitarbeiterinnen in der Orthopädischen Sprechstunde im Altonaer Kinderkrankenhaus und allen beteiligten Mitarbeitern des Instituts für Osteologie und Biomechanik am UKE.

Bei allen untersuchten Kindern, Jugendlichen und deren Eltern bedanke ich mich für die Einwilligung zur Teilnahme und deren oft sehr interessierte Kooperation.

Danke.

10. Lebenslauf

Lebenslauf aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten

11. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: