

**Aus der Orthopädischen Klinik und Poliklinik / Campus  
Grosshadern  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. Dipl. Ing. V. Jansson**

**Wirkung von 3 T-Magnetresonanztomographie  
auf humane Chondrozyten in vitro**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von  
Lorenz Wanke-Jellinek  
aus Baden

2013

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Peter Müller

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Robert Stahl  
Priv. Doz. Dr. Marcus  
Schmitt-Sody

Mitbetreuung durch den  
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Susanne Mayer

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser,  
FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 16.05.2013

Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung .....	6
2. Magnetresonanztomografie–Diagnose der Osteoarthrose .....	8
2.1 Geschichte der Magnetresonanztomografie .....	9
2.2 Grundlagen der Magnetresonanztomografie .....	10
2.3 Grundlegende MRT Sequenzen .....	14
3. Auswirkungen statischer elektromagnetischer Felder auf Zellen .....	16
3.1 Auswirkungen niederfrequenter magnetischer Felder auf humane Zellen .....	17
3.2 Auswirkungen hochfrequenter magnetischer Felder auf humane Zellen .....	18
4. Ökonomische Aspekte .....	23
5. Grundlagen der humanen Chondrogenese ....	27
5.1 Zusammensetzung der Knorpel Grundsubstanz ...	28
6. Definition der Osteoarthrose .....	30
6.1 Klassifikation der Osteoarthrose .....	30
6.2 Inzidenz und Prävalenz der Osteoarthrose .....	32
6.3 Einfluss des MRTs auf Chondrozyten und Pathogenese der Osteoarthrose .....	34
6.4 Die Rolle von ADAMTS Proteinase bei der Entwicklung von Osteoarthrose .....	36
7. Bedeutung von Magnetfeldern im Rahmen der Therapie der Osteoarthrose .....	40
7.1 Medikamentöse Therapie der Osteoarthrose .....	41

8. Fragestellung der Studie .....	47
9. Material und Methoden .....	48
9.1 Applikation des 3T hochfrequenten Magnetfeldes..	49
9.2 WST-1 Proliferations Assay .....	50
9.3 RNA Extraktion und Messung der mRNA Expression mit real- time PCR .....	51
9.4 Statistische Analyse .....	53
10. Ergebnisse .....	54
10.1 Einfluss eines 3T MRTs auf die Proliferationsrate von humanen Chondrocyten .....	54
10.2 Einfluss eines 3T MRTs auf die Expression von Aggrekan .....	57
10.3 Einfluss eines 3T MRTs auf die Expression von PARP.....	59
11. Diskussion .....	61
11.1 Mögliche Ursachen der Heterogenität vorhandener Studien .....	61
11.2 Diskussion der Effekte von 3T MRT auf die Proliferationsrate .....	63
11.3 Diskussion der Ergebnisse der Aggrekanexpression .....	65
11.4 Diskussion der Ergebnisse der PARP Expression .	67
12. Zusammenfassung .....	70
13. Ausblick .....	71

Referenzen

Anhang

# 1. Einleitung

Die Errungenschaften der modernen Medizin haben die Lebenserwartung der Bewohner moderner Industrienationen in den vergangenen Jahrzehnten stetig ansteigen lassen. Der daraus resultierende demographische Wandel bewirkt eine Umkehrung der klassischen Bevölkerungspyramide und damit einen Anstieg unter anderem des Vorkommens von degenerativ bedingten Erkrankungen.

Degenerativ bedingte Arthrose ist eine Erkrankung des Alters. Arthrose entsteht durch eine Schädigung der Chondrozyten und Abnützung des Knorpelgewebes. Aufgrund der sehr unterschiedlichen Definition von Arthrose, ist eine genaue Angabe der Prävalenz und Inzidenz nur schwer möglich. In Studien zur klinisch symptomatischen Arthrose konnten Inzidenzraten von 45 bis 599 pro 100.000 Lebensjahren für eine Gonarthrose gezeigt werden (Kannus P et al., 1987; Vingard E et al., 1991). Alle Studien zeigen aber einen Anstieg der Prävalenz der Arthrose mit steigendem Lebensalter. Geht man von aktuellen Schätzungen des Statistischen Bundesamt aus, so werden im Jahr 2030 37 % der Bevölkerung 60 Jahre oder älter sein (2009: 25 % der Bevölkerung). Das entspricht einer Zunahme von 34,5 % verglichen mit dem Jahr 2009. Auch bei insgesamt sinkender Bevölkerungszahl wird sich der Anteil der über 60-jährigen bis 2050 auf 40 % der Bevölkerung in der BRD weiter erhöhen (Statistisches Bundesamt, Heft 2, Ausgabe 2010). Auch innerhalb der Gruppe der über 60-jährigen werden aufgrund der zunehmenden Lebenserwartung 2050 deutlich mehr Menschen in höhere Altersstufen aufgestiegen sein. Betrug die Zahl der über 80-jährigen 2009 noch rund 4 Millionen, werden 2050 mehr als 10 Millionen Menschen in dieser Altersgruppe zu finden sein. Die Struktur innerhalb der älteren Bevölkerungsgruppe verschiebt sich also zu Gunsten jener Altersgruppen, die ein höheres Risiko haben, in Folge einer Erkrankung behandelt werden zu müssen.

Um Arthrose frühzeitig erkennen und effektiv behandeln zu können, steht mit der Magnetresonanztomographie (MRT) eine etablierte diagnostische Methode zur Verfügung. MRT-Untersuchungen erlauben die Diagnose von kartilaginären Schäden ohne den Einsatz von radioaktiver Strahlung, wie sie im Röntgen oder Computertomographie (CT) Verwendung findet. Obwohl MRT-Untersuchungen als generell sicher gelten, gibt es bisher keine eindeutigen Untersuchungen über die Auswirkung von hochfrequenten, starken Magnetfeldern auf humane Zellen. Die Wirkung von Magnetfeldern, wie sie in der MRT Diagnostik verwendet werden, auf Chondrozyten und den unter anderem von Chondrozyten gebildeten Knorpel ist bis jetzt nur unzureichend untersucht.

## 2. Magnetresonanztomographie – Diagnose der Osteoarthrose

Ausgehend von den oben genannten Zahlen wird verständlich, warum die frühzeitige Therapie der Gelenkerkrankungen zunehmend wichtiger wird. Erkrankungen der Gelenke führen zu unwiderruflichen Einschränkungen der Leistungsfähigkeit eines Individuums und verursachen damit nicht nur eine Einschränkung der Lebensqualität der Betroffenen, sondern auch hohe volkswirtschaftliche Kosten. Neben der Prävention muss also die frühzeitige Diagnose von Knorpelschäden ein Hauptziel einer Gesellschaft sein, wenn Folgeschäden und –kosten minimiert werden sollen. Mit der Magnetresonanztomografie steht eine etablierte Methode zur Diagnose von Knorpelschäden zur Verfügung. Die Auswirkungen elektromagnetischer Felder auf den menschlichen Organismus sind jedoch nicht vollständig bekannt und Gegenstand zahlreicher Studien. Die Ergebnisse der Studien sind jedoch heterogen und variieren stark, abhängig von den untersuchten Zelltypen bis hin zu der Art der eingesetzten Magnetfelder.

Verschiedene Studien untersuchten die Auswirkungen hochfrequenter, niederfrequenter und statischer Magnetfelder unterschiedlicher Stärke auf Zellen. Während die Auswirkungen schwacher statischer und niederfrequenter Magnetfelder auf verschiedenste Zelltypen in vielen Studien beschrieben werden, finden sich nur sehr wenige Studien, die die Effekte hochfrequenter, starker Magnetfelder auf humane Zellen untersuchen. Im Folgenden werden die Grundlagen der Magnetresonanztomographie beschrieben und ein Überblick über den aktuellen Stand der Forschung gegeben.



## 2.1 Geschichte der Magnetresonanztomografie

Bereits in den 1950er Jahren gelang es dem amerikanischen Physiker Herman Carr ein eindimensionales MRT-Bild zu schaffen (Carr HY, 2004). Ab 1973 wurde die Magnetresonanztomografie von Paul C. Lauterbur und Sir Peter Mansfield weiterentwickelt, 2003 erhielten sie dafür gemeinsam den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin. Trotz seiner grundlegenden Beiträge wurde H. Carr bei der Nobelpreisvergabe 2003 nicht berücksichtigt, was bei einigen Wissenschaftlern auf Unverständnis stieß.

Paul Lauterbur entwickelte seine Idee auf der Basis der Kernspinresonanzspektroskopie (NMR). Die NMR ist eine spektroskopische Methode zur Untersuchung der elektronischen Umgebung einzelner Atome und deren Interaktion mit den Nachbaratomen. In seinem 1973 in Nature veröffentlichten Artikel beschreibt er seine grundlegenden Ideen: mit der Einführung magnetischer Gradientenfelder in die NMR ermöglichte er erstens eine räumliche Zuordnung der NMR-Signale. Zweitens ließen sich durch Rotation der Gradientenfelder verschiedene Projektionen der Probe gewinnen, aus diesen konnten anschließend mit Hilfe der gefilterten Rückprojektion ein (damals) zweidimensionales Abbild der Probe errechnet werden (Lauterbur PC., 1973). Der Beitrag von Peter Mansfield war die ab 1974 beginnende Entwicklung mathematischer Verfahren, um die gewonnenen Projektionssignale der MRT möglichst rasch in visuelle Informationen umzuwandeln.

Weitere wichtige Beiträge zur Entwicklung der modernen MRT kamen unter anderem aus deutschen Laboren: in Freiburg wurde Anfang der 1980er Jahre die „fast spin echo“ Sequenz entwickelt, die wegen ihrer Sensitivität gegenüber pathologischen Gewebsstrukturen allgemeine Anwendung findet. 1985 wurde von Wissenschaftlern der Max-Planck-Gesellschaft das FLASH-Verfahren (fast low angle shot) entwickelt, eine Gradienten-Echo-Technik, welche die Messzeiten des MRT gegenüber der herkömmlichen

Spin-Echo Sequenz deutlich verkürzte (Frahm J et al.; 1986). Durch die enorm verkürzten Messzeiten wurden Untersuchungen des schlagenden Herzens oder Techniken wie z.B. das Perfusions-MRT erst ermöglicht. Das FLASH-Patent ist bis heute eines der erfolgreichsten Patente der Max-Planck-Gesellschaft (Patent DE3504734).

## 2.2 Grundlagen der Magnetresonanztomografie

Um mögliche Wechselwirkungen von elektromagnetischen Feldern mit physiologischen Prozessen zu verstehen, ist es unerlässlich, die physikalischen Grundlagen von MRTs zu kennen und zu verstehen. Um Magnetresonanzuntersuchungen durchführen zu können, benötigt das untersuchende Gewebe Atomkerne, die ein magnetisches Kernmoment besitzen. Voraussetzung für das Vorhandensein dieses magnetischen Moments ist ein Atomkern mit ungerader Nukleonenzahl, wie ihn z.B. Wasserstoff besitzt. Wasserstoff ( $H^+$ ) bietet sich für MR-Untersuchungen als geradezu ideal an: in beinahe jedem Gewebe vorhanden, ist der  $H^+$  Atomkern mit nur einem Proton der einfachste Atomkern mit ungerader Nukleonenzahl.

Betrachtet man nun die magnetischen Momente einer Probe im Magnetfeld freien Raum, so sind diese Momente ungeordnet. Wirkt jedoch ein äußeres Magnetfeld auf die Probe, so ordnen sich die magnetischen Momente der Atomkerne, sie nehmen also einen geordneten Zustand ein, indem sie sich parallel oder antiparallel zum Magnetfeld ausrichten. Die parallele Ausrichtung überwiegt gegenüber der antiparallelen, da die parallele Ausrichtung der energieärmere magnetische Zustand ist. Die stärkere Besetzung des parallelen Zustandes führt zu einer messbaren Magnetisierung einer Probe in Richtung des äußeren Magnetfeldes ( Reiser M, Semmler W; 2002).

Strahlt man nun ein hochfrequentes elektromagnetisches Wechselfeld senkrecht zum äußeren Magnetfeld ein, wird der Gleichgewichtszustand zwischen äußerem Magnetfeld und parallel magnetisierter Probe gestört. Die Frequenz des eingestrahlten Wechselfeldes muss dafür allerdings exakt der Frequenz des Magnetfeldes entsprechen um die Resonanzbedingung zu erfüllen. Die passende Frequenz wird auch als Larmorfrequenz bezeichnet.

Wird nun ein Hochfrequenzimpuls mit der Larmorfrequenz senkrecht zum bestehenden Magnetfeld eingestrahlt, wird die Magnetisierung (oder Spin) einer Probe um  $90^\circ$  im Vergleich zum äußeren Magnetfeld ausgelenkt, beginnt aber nach dem Sistieren des Impulses um die ursprüngliche Achse zu kreisen. Diese kreisende Bewegung nennt man Präzession. Wird der äußere Impuls abgeschaltet, so nimmt die transversale Magnetisierung ab und die longitudinale Magnetisierung nimmt wieder zu, was die zuvor aufgenommene Energie wieder freisetzt. (Reiser M, Semmler W; 2002) Das Abgeben der aufgenommenen Energie erzeugt ein Hochfrequenzsignal, das außerhalb des Körpers gemessen werden kann, jedoch exponentiell abnimmt, da sich die Protonenspins zunehmend destruktiv überlagern (Man spricht hierbei auch von einer Dephasierung der Spins). Die Geschwindigkeit der Dephasierung ist von der chemischen Umgebung der Protonen abhängig und ist daher für jede Gewebsart unterschiedlich. Man spricht daher auch von der Spin-Spin-Relaxation oder  $T_2$ -Relaxationszeit. Die  $T_2$ -Relaxationszeit wird definiert als jener Zeitraum nach Abschalten des Hochfrequenzimpulses, bis zu dem 63% des ursprünglichen Signals durch Dephasierung zerfallen ist.

Durch einen so genannten  $180^\circ$ -Rephasierungsimpuls wird ein Teil der Dephasierung ( $T_2$ -Dephasierung) zum Zeitpunkt der Messung wieder rückgängig gemacht, so dass mehr Protonen in der gleichen Spin-Phase sind. Abhängig von der soeben beschriebenen  $T_2$ -Relaxationszeit werden manche Gewebearten heller dargestellt als andere. Verständlicherweise ist

eine von der  $T_2$ -Relaxationszeit abhängige Kontrastdifferenz nicht ausreichend für eine korrekte Bildrekonstruktion, zusätzlich ist eine exakte Information über den Entstehungsort des MR-Antwortsignals notwendig. Diese Ortskodierung wird durch in der Röhre befindliche Gradientenfelder (linear ortsabhängige, schwache Magnetfelder) gewonnen. (Reiser M, Semmler W; 2002)

Werden nun Hochfrequenzimpulse zusammen mit magnetischen Gradientenfeldern bestimmter Frequenz und Stärke in vorgegebener Reihenfolge ein- und ausgeschaltet, so spricht man von einer Pulssequenz. Abhängig von den Parametern der Pulssequenz hängt das gemessene Signal zusätzlich von der Spin-Gitter-Relaxation ( $T_1$ -Relaxation) ab. Die  $T_1$ -Relaxationszeit beschreibt die Stärke der Koppelung der Kernmomente an die Umgebung. Sie ist ein Maß für die Geschwindigkeit, mit der sich die ursprüngliche Längsausrichtung der Spinvektoren zum äußeren Magnetfeld wieder einstellt. Auch die  $T_1$ -Relaxationszeit ist gewebespezifisch, aber in der Regel deutlich länger als die  $T_2$ -Zeit. Durch das längere Antwortsignal bietet eine  $T_1$  gewichtete Messung eine bessere Ortsauflösung als die  $T_2$  gewichtete Messung, jedoch gleichzeitig eine geringere Kontrastintensität. Das Antwortsignal setzt sich also aus der Anzahl der Spins im untersuchten Volumenelement, der spezifische Relaxationszeiten des Gewebes ( $T_1$  und  $T_2$ ) sowie den speziellen Messparametern wie z.B. Pulswiederholzeit ( $T_R$ ) und Echozeit ( $T_E$ ) zusammen. Jedem Volumenelement wird anhand des gemessenen Antwortsignals ein Bildpunkt zugeordnet, was eine sehr zeitintensive Prozedur darstellt. Spezielle Schnellbildsequenzen (z.B. FLASH oder RARE-Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) erlauben aber Datenakquisition im Sekunden- bzw. Millisekundenbereich. ( Reiser M, Semmler W; 2002)

Zusammengefasst läßt sich Folgendes über MRT-Diagnostik sagen: MRTs verwenden starke, statische Magnetfelder zusammen mit nicht

ionisierender Strahlung im Radiofrequenz-Bereich. Die fast ubiquitär vorhandenen Protonen richten ihren Spin in dem starken Magnetfeld parallel zu diesem aus. Wird nun ein hochfrequentes Wechselfeld normal zu dem statischen Magnetfeld mit der richtigen Resonanzfrequenz eingestrahlt, vermag es den Spin der Protonen zu beeinflussen. Wird das Hochfrequenzfeld abgeschaltet, richten sich der Spin der Protonen entsprechend dem thermodynamischen Gleichgewicht wieder parallel zum statischen Magnetfeld aus. Während dieses Vorgangs, der auch als Relaxation bezeichnet wird, wird ein Signal im Radiofrequenzbereich generiert, das sich messen und in Bildinformation umsetzen läßt.

Der Vorteil von MRTs ist die gute Kontrastauflösung zur Unterscheidung unterschiedlicher Gewebetypen bei mäßiger räumlicher Auflösung (z.B. im Vergleich zu CT-Bildern). Die grundlegende Voraussetzung für die hohe Kontrastauflösung ist das Vorliegen von komplexen, gewebeabhängigen Pulssequenzen, die für eine optimale Messung von Signalantworten unerlässlich sind. Durch Kombination unterschiedlicher Pulswiederholungszeiten ( $T_R$ ) und Echozeiten ( $T_E$ ) lassen sich unterschiedliche, gewebeabhängig kontrastierte  $T_1$ - oder  $T_2$ - Sequenzen generieren. Wird die Pulssequenz des eingestrahlten Hochfrequenzfeldes zusammen mit den magnetischen Gradienten verändert, so können weitere Sequenzen erzeugt werden, die gewebespezifische Informationen vermitteln. Eine typische MRT-Untersuchung besteht also aus mehreren (i.d.R. 5-20) Sequenzen, die unterschiedliche Informationen über eine bestimmte Probe liefern.

## 2.3 Grundlegende MRT Sequenzen

- T<sub>1</sub> gewichtete Sequenzen: die Messung der Spin-Gitter Relaxationszeit erlaubt eine Unterscheidung zwischen Fettgewebe und Flüssigkeit, wobei hier Flüssigkeit dunkler und Fettgewebe heller erscheint. Die Grundlage bildet eine Gradienten-Echo Sequenz mit kurzer T<sub>R</sub> und T<sub>E</sub>. Aufgrund der kurzen Pulswiederholungszeit kann der Scan in relativ kurzer Zeit durchgeführt werden.
- T<sub>2</sub> gewichtete Sequenzen: auch die Messung der Spin-Spin-Relaxationszeit erlaubt eine Unterscheidung zwischen Flüssigkeit und Fettgewebe. In dieser Sequenz erscheint Fettgewebe allerdings dunkler, während Flüssigkeit hell imponiert. Sowohl Pulswiederholungszeit als auch Echozeit sind deutlich länger als bei T<sub>1</sub>-Sequenzen, durch den Refokussierungspuls sind T<sub>2</sub>-Sequenzen weniger anfällig für Inhomogenitäten des Magnetfeldes.
- T<sub>2</sub>\*-Sequenzen: im Unterschied zur normalen T<sub>2</sub> Sequenz wird bei T<sub>2</sub>\*-Sequenzen keine Spin-Echo- sondern eine Gradienten-Echo-Sequenz verwendet. T<sub>R</sub> und T<sub>E</sub> sind wie bei der T<sub>2</sub>-Sequenz lange. T<sub>2</sub>\*-Sequenzen werden verwendet, um den Kontrast bestimmter Gewebetypen zu verstärken, z.B. von venösem Blut.

Die frühzeitige Diagnostik von traumatisch- und abnutzungsbedingten Knorpelschäden ist nicht nur im Hinblick auf das Patientenwohl, sondern auch aus ökonomischen Gründen unerlässlich. Die Magnetresonanztomografie (MRT) ist eine etablierte Untersuchungsmethode, um nicht nur Lokalisationen von Knorpelschäden, sondern auch deren Ausmaß verlässlich beurteilen zu können. MRTs verwenden wechselnde Magnetfelder in einer Stärke von 1,5 bis 10 Tesla (T) Stärke. Standard zur Untersuchung von Knorpelschäden sind

heutzutage noch 1,5 und 3 T MRTs, jedoch werden auch MRTs mit Feldstärken von 7 T und 10 T verwendet. So ist an der Medizinischen Universität der Stadt Wien bereits seit 2008 ein 7T-Ganzkörper MRT in Verwendung (MUW Hochfeld Resonanz), am Max-Planck-Institut Tübingen wird seit 2007 ein 9,4T-MRT für Kopfuntersuchungen benutzt. Im CEA-Zentrum Neurospin in Saclay (Frankreich) wird derzeit an der Entwicklung eines 11,7 Tesla-MRTs zur Durchführung von Ganzkörper-MRTs gearbeitet. Obwohl MRTs also nicht nur zur Diagnose von Knorpelschäden als unerlässliche Untersuchungsmethode gelten, sind die Auswirkungen von elektromagnetischen Feldern auf Zellen und Physiologie des menschlichen Körpers bislang nur unzureichend untersucht. Die Ergebnisse verschiedener Studien können nur als kontrovers bezeichnet werden.

### 3. Auswirkungen statischer elektromagnetischer Felder auf Zellen

Potenza et al. konnten 2004 in einer ihrer Studien zeigen, dass statische Magnetfelder einen proliferationsfördernden Effekt haben können. E.coli Kulturen, die einem 300 mT starken statischen Magnetfeld ausgesetzt waren, wiesen nicht nur eine erhöhte Proliferationsrate gegenüber der Kontrollgruppe auf, sondern exprimierten im Vergleich auch drei zusätzliche Arten von cDNA (Potenza et al., 2004). Kontrovers dazu zeigen andere Arbeiten einen zeitabhängigen Anstieg der Apoptoserate, wenn Hep G2 Zellen einem 6 mT starken, statischen Magnetfeld (MF) ausgesetzt waren. Die Autoren berichten außerdem, dass simultan zum Anstieg der Apoptoserate eine erhöhte intrazelluläre Kalziumkonzentration nachgewiesen werden konnte (Chionna A. et al., 2005). Eine andere Studie untersucht die Auswirkungen eines 6 mT statischen MF auf humane Lymphozyten, murine Thymozyten, 3DO-, U937-, HeLa- und FRTL-5 Zellen. Die Autoren kommen zu ähnlichen Ergebnissen und beschreiben die Induktion von Apoptose oben beschriebener Zelltypen sowie einen Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration, jedoch keine vermehrte Induktion von Nekrose (Tenuzzo B. et al., 2006).

Tofani et al. wiederum zeigte bereits 2001, dass sich durch Magnetfelder induzierte Apoptose nur in bestimmten Zelltypen nachweisen ließ. Während WiDr (humane Colon-Adenokarzinom)-Zellen und MCF-7 (humane Mamma-Adenokarzinom)-Zellen auf statische und wechselnde MF mit einer Stärke von über 1mT mit Apoptose reagierten, zeigten nicht kanzerogen veränderte Zellen (MCR-5, embryonale pulmonale Fibroblasten) keine Induktion von Apoptose (Tofani S. et al., 2001).

Eine Studie aus dem Jahr 2007 zeigte schließlich Steigerungen der Proliferationsrate von humanen Chondrozyten, wenn diese zuvor einem statischen Magnetfeld von 0,6 T ausgesetzt worden waren (Stolfa S. et al.,



2007). Im Gegensatz dazu fand eine andere Studie eine niedrigere Proliferationsrate bei humanen Chondrozyten, die zuvor einem statischen 3 T Magnetfeld ausgesetzt waren, im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Ein Bericht des ‚Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks‘ (SCENIHR) der Europäischen Union aus dem Jahr 2007 untersuchte die aktuelle wissenschaftliche Datenlage zu möglichen Auswirkungen verschiedener Arten von Magnetfeldern auf Organismen. Bezüglich der möglichen Gesundheitsrisiken statischer Magnetfelder kommt die Kommission unter der Leitung von Prof. Anders Ahlbom zu dem wenig überraschenden Schluss, dass es nur eine kleine Anzahl epidemiologischer Studien zu diesem Thema gibt. Der Großteil dieser Studien beschäftigt sich mit der Frage, ob statische MFs zu einer Erhöhung des kanzerogenen Risikos führen. Die Kommission hält allerdings deutlich fest, dass die zu diesem Zeitpunkt verfügbare Datenlage nicht ausreichend war, um sichere Rückschlüsse auf eine mögliche Kanzerogenität zu ziehen (‚Adequate data for proper risk assessment of static magnetic fields are almost totally lacking.‘)

### 3.1 Auswirkungen niederfrequenter magnetischer Felder auf Zellen

Als niederfrequent werden nach allgemeiner Übereinkunft Magnetfelder mit einer Frequenz unter 30 kHz bezeichnet.

Bereits 1995 untersuchte eine Arbeitsgruppe die Effekte eines 0,15 mT schwachen, 50 Hz Magnetfeld auf Jurkat T-Zellen. In der veröffentlichten Studie wurde ein Inositol 1,4,5-triphosphat (IP<sub>3</sub>)-vermittelten Anstieg von intrazellulärem Kalzium in Jurkat T-Zellen nachgewiesen, wenn diese vorher dem beschriebenen Magnetfeld ausgesetzt waren (Korzh-Sleptsova et al., 1995). Interessanterweise schien die vom MF induzierte

Kalziumfreisetzung unabhängig von der Aktivierung der Phospholipase C zu sein, was für eine noch unbekannte Aktivierung der Kalzium-freisetzenden IP<sub>3</sub>-Kaskade spricht.

2001 konnte von De Mattei et al. gezeigt werden, dass schwache, niederfrequente elektromagnetische Felder (2,3 mT; 75 Hz) ebenso wie statische Felder die Proliferationsrate in Chondrozytenkulturen steigern können (DeMattei et al., 2001).

Eine andere Studie zeigte eine Beschleunigung der chondrogenen Differenzierung im Rahmen enchondraler Ossifikationsprozesse wenn die Zellen einem schwachen, 75 Hz Magnetfeld ausgesetzt waren, im Vergleich zu nicht exponierten Zellen (Ciombor et al., 2002). Eine weitere Studie konnte zeigen, dass humane mesenchymale Stammzellen unter entsprechender Stimulation mit Hilfe von Wachstumsfaktoren eine signifikant höhere Expression von Kollagen Typ II aufwiesen, wenn sie einem niederfrequenten Magnetfeld (5 mT) ausgesetzt waren, als die Kontrollgruppe (Mayer-Wagner et al.; 2010).

Der aktuellen Studienlage zufolge scheinen niederfrequente Magnetfelder eher differenzierungsfördernde Effekte in humanen Zellen auslösen.

### 3.2 Auswirkungen hochfrequenter magnetischer Felder auf Zellen

Als die zunehmende Bedeutung der MRT-Diagnostik in der Humanmedizin erkennbar wurde, erfolgte die Durchführung erster Studien, um mögliche Folgen von hochfrequenten Magnetfeldern auf den menschlichen Körper sichtbar zu machen. So zeigten Untersuchungen, die ab Mitte der 80er Jahre des 20. Jahrhunderts durchgeführt wurden, dass eine Exposition von Individuen gegenüber starken, hochfrequenten elektromagnetischen Feldern zu einem Anstieg der Inzidenz von Leukämie und anderen Tumoren führen konnte (Barregard et al., 1985; Evans et al., 1993).

Andererseits wurde in einigen, etwas später durchgeführten Studien die Unbedenklichkeit der Verwendung von MRTs bei Menschen nachgewiesen: eine gesteigerte Inzidenz von Tumoren nach Exposition gegenüber hochfrequenten Magnetfeldern konnte dabei nicht bestätigt werden (Ahlbom et al., 2000; Nakahara et al. 2002; De Mattei et al., 2004).

Auch der Bericht des SCENIHR der Europäischen Union aus dem Jahr 2007 hält bezüglich der bei MRTs verwendeten, hochfrequenten Felder fest, dass es keine direkten Hinweise auf eine Zunahme der Tumorzinzidenz in Abhängigkeit von der Exposition gegenüber Hochfrequenz-Magnetfeldern gibt. Als einzige mögliche Ausnahme sind hierbei Langzeitnutzer von Mobiltelefonen zu nennen: bei dieser Gruppe gibt es Hinweise auf ein häufigeres Auftreten von Akustikusneurinomen im Vergleich zum Normalkollektiv (SCENIHR, 2007).

Mögliche Veränderungen auf zellulärer Ebene, welche zu einer gesteigerten Inzidenz von Tumorerkrankungen führen könnten, wurden bis jetzt nicht eindeutig beschrieben. Zwar gibt es ältere Studien, die auf eine intensitätsabhängige Beeinflussung von Onkogenen wie c-jun oder c-fos durch hochfrequente elektromagnetische Felder hindeuten (Hiraoka et al., 1992; Phillips et al., 1992), der verantwortliche Mechanismus dafür ist jedoch bis heute nicht genau bekannt. Eine entscheidende Rolle als regulativer Botenstoff scheint in diesem Zusammenhang intrazelluläres Kalzium zu spielen. Die Regulation der intrazellulären Kalziumkonzentration stellt ein wichtiges Signal der Informationsweiterleitung in Zellen dar. Die Kalzium-Freisetzung wird über Signalkaskaden vermittelt, in denen second messenger eine wichtige Rolle spielen. Second messenger leiten Signale primärer messenger weiter und verstärken sie. Bekannte, zur Kalzium Freisetzung führende Mechanismen sind die Inositol Triphosphat (IP3)-Kaskade, der Mechanismus des „calcium induced calcium release“ (CICR) oder die Freisetzung durch sogenannte ‚neue second messenger‘ wie z.B. Nikotinsäure-Adenin-

Dinukleotidphosphat (NAADP). Die Arbeitsgruppe von Korzh-Sleptsova konnte zeigen, dass die Exposition von Jurkat T-Zellen gegenüber einem Magnetfeld zu einem intrazellulären, IP<sub>3</sub>-vermittelten Kalziumanstieg führt (Korzh-Sleptsova et al., 1995). Die Aktivierung von IP<sub>3</sub> erfolgte aber nicht, wie sonst üblich, Phospholipase C-vermittelt (Abb. 1). Die Wirkung von hochfrequenten Magnetfeldern auf humane Chondrozyten ist bisher nur wenig untersucht, die Ergebnisse widersprüchlich.

Während Stolfa et al. (2007) Steigerungen der Proliferationsrate von humanen Chondrozyten durch ein statisches Magnetfeld fanden, konnte die Arbeitsgruppe keine signifikante Steigerung der Proliferation feststellen, wenn die Chondrozyten einem hochfrequenten (21,5 MHz) Magnetfeld ausgesetzt wurden (Stolfa S. et al., 2007).

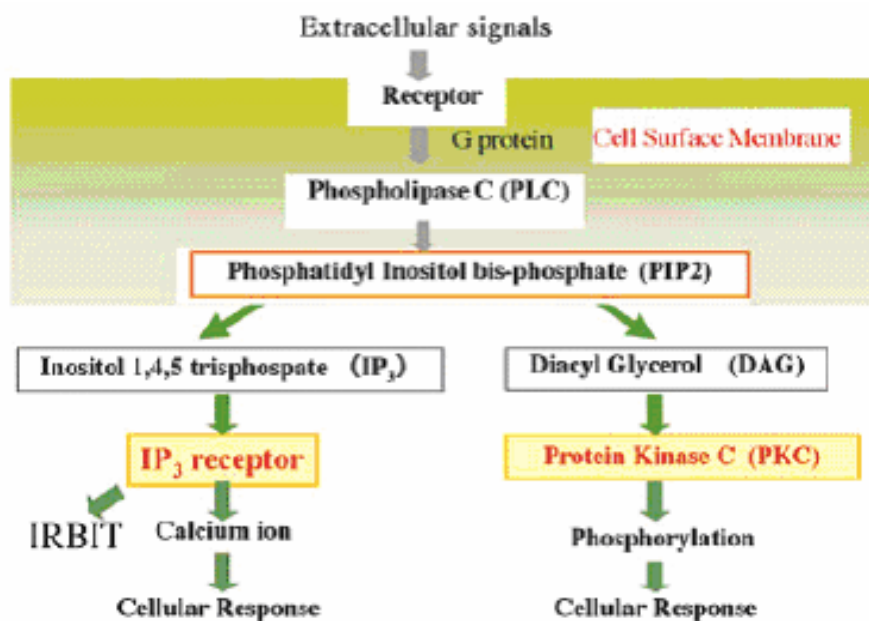


Abb. 1.: Schematische Darstellung des IP<sub>3</sub> / DAG Pathways. (Katsuhiko M et al., 2007)

Hsieh et al. (2008) verwendeten in ihrer Arbeit sowohl statische als auch hochfrequente 3T-Magnetfelder, denen humane Chondrozyten in vitro ausgesetzt wurden. Die Gruppe untersuchte nach jeweils 8, 24, 48 und 72 Stunden unter anderem die Auswirkungen auf die Proliferation der Chondrozyten. Hierbei ließ sich eine Proliferationshemmung feststellen, die sich in den ersten 8 bis 24 Stunden nach der Exposition etablierte. Im Zeitraum zwischen 24 bis 72 Stunden nach Exposition konnte die Proliferationsrate der humanen Chondrozyten zwar den initialen Verlust nicht aufholen, hielt den Abstand zu der Kontrollgruppe aber konstant. Interessanterweise führte in dieser Studie die Exposition humaner Chondrozyten gegenüber einem hochfrequenten 3T-Magnetfeld in vitro 6 Stunden nach Exposition zu einem Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration. Die Autoren führen diesen Anstieg auf eine Zunahme des Kalzium Influx aus dem extrazellulären Kompartiment zurück.

Während diese Studie also schädigende Effekte von statischen 3T- und hochfrequenten (125 MHz) 3T-Magnetfeldern auf humane Chondrozyten nachzuweisen scheint (Hsieh et al., 2008), konnte eine Arbeitsgruppe aus Wien nur einen vorübergehend hemmenden Einfluss eines hochfrequenten 3T-Magnetfelds auf die biosynthetische Aktivität von bovinen Chondrozyten feststellen (Sunk et al., 2006). Die Synthese von Glycosaminoglycanen wurde an Tag 0, 3 und 6 nach Exposition quantifiziert. Dabei zeigte sich an Tag 0 eine verminderte Syntheseleistung. Bei der nächsten Messung nach 3 Tagen konnte jedoch kein Unterschied mehr zwischen den verschiedenen Chondrozytengruppen mehr festgestellt werden. Nach nur 3 Tagen hatten die bovinen Chondrozyten also ihre Syntheseleistung nicht nur stabilisiert, sondern scheinbar auf ursprüngliche Werte hochgefahren. Die gleiche Studie zeigte, dass hochfrequente 1,5T-Magnetfelder keinen Einfluss auf die bovinen Zellen in vitro hatten. Die Datenlage zum Einfluss von hochfrequenten

elektromagnetischen Feldern auf humane Zellen im Allgemeinen und Chondrozyten im Speziellen lässt somit viele Fragen offen.

Jedoch spielen gerade hochfrequente Magnetfelder im klinischen Alltag eine entscheidende Rolle, da es genau diese Magnetfelder sind, die eine Diagnostik von Knorpelschäden z.B. im Rahmen einer Osteoarthritis ermöglichen. Eine sichere diagnostische Abklärung oder die Bestimmung des Ausmaßes von kartilaginären Defekten erscheint ohne die Verwendung der Magnetresonanztomografie heute nicht mehr vorstellbar. Trotz der diagnostischen Bedeutung sind die Effekte von MRT-Untersuchungen bzw. hochfrequenten Magnetfeldern auf Chondrozyten bis heute nicht im Detail bekannt.

## 4. Ökonomische Aspekte

Der Mangel an gesicherten Erkenntnissen über die Auswirkung von hochfrequenten Magnetfeldern auf Chondrozyten ist auch aus ökonomischer Sicht nicht gutzuheißen. Einer in verschiedenen Ländern durchgeführten Untersuchung zufolge beläuft sich die jährliche ökonomische Belastung durch Erkrankungen des Bewegungsapparats auf etwa 1 – 2.5 % des Bruttosozialprodukts (March LM et al., 1997). So ist also davon auszugehen, dass trotz insgesamt sinkender Bevölkerungszahlen aufgrund der demografischen Entwicklung die Kosten für Behandlungen von Erkrankungen stark steigen werden. Das Bundesamt für Statistik schätzt, dass die Anzahl der Krankenhausfälle im Jahr 2030 alleine aufgrund von Erkrankungen des muskulo-skelettalen Systems im Vergleich zu 2008 um 4 % bundesweit zunehmen wird. (Abb.2).

Die Zahl aller Krankenhausfälle wird bis zum Jahr 2030 von derzeit etwa 17,9 Millionen auf 19,3 Millionen ansteigen. Dies entspricht einem Anstieg von 8 % bundesweit (Abb. 3), Bayern ist mit einem Anstieg um 14 % deutlich stärker als der Durchschnitt der deutschen Bundesländer belastet.

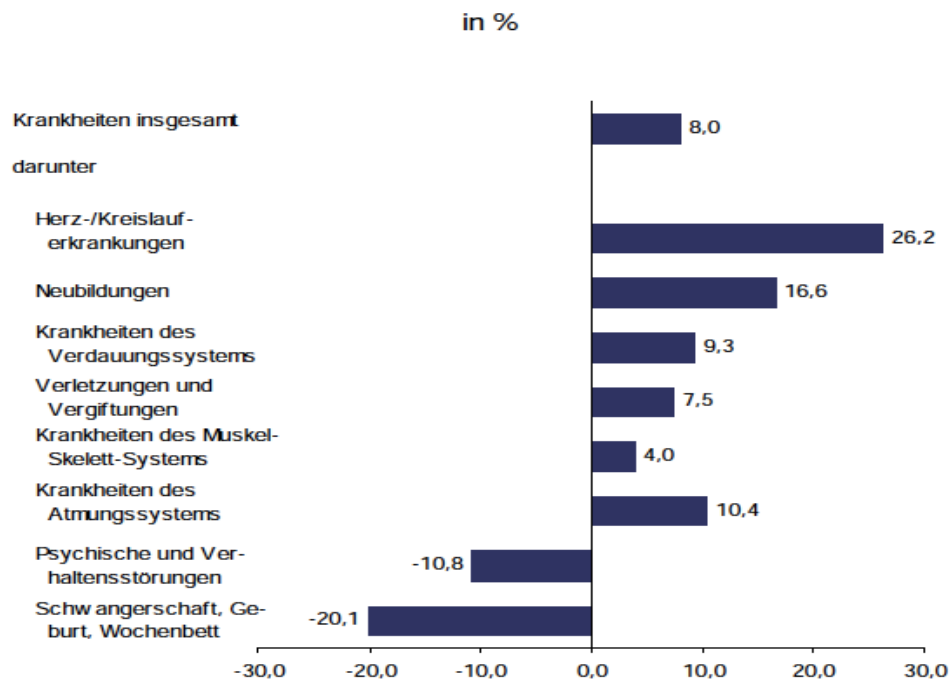


Abb. 2.: Veränderung der Anzahl der Krankenhausfälle 2030 gegenüber 2008 nach zusammengefassten Diagnosearten (Status-Quo-Szenario).  
Quelle: Statistische Ämter des Bundes und des Landes, Heft 2, Ausgabe 2010

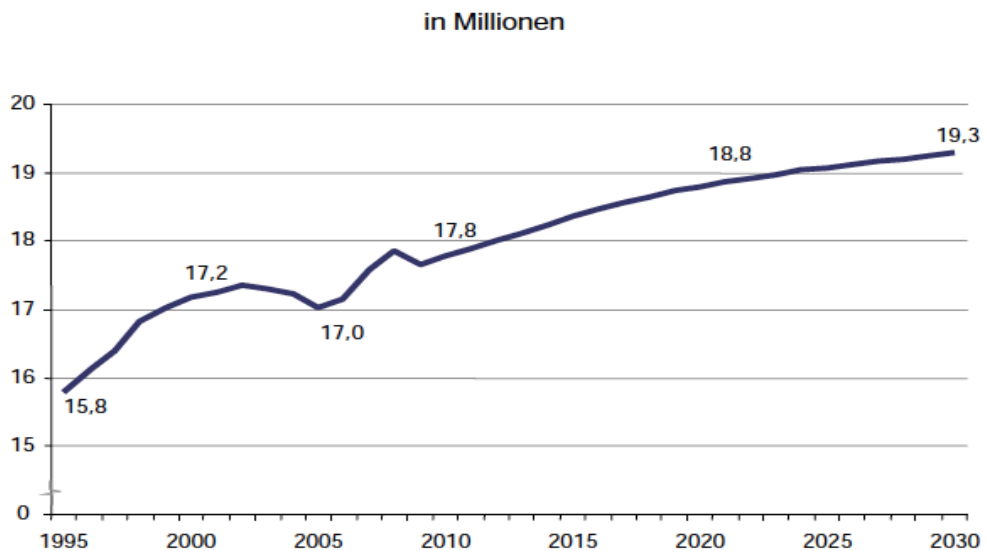


Abb. 3.: Krankenhausfälle von 1995 bis 2030 in Millionen.  
Quelle: Statistische Ämter des Bundes und des Landes, Heft 2, Ausgabe 2010



Aber nicht nur die zunehmende Lebenserwartung, auch die Änderung des Lebensstils einhergehend mit einer Zunahme der Adipositas führt zu einem deutlich früheren Auftreten von Arthrosen im Sinne von degenerativen Gelenkserkrankungen. War bis vor wenigen Jahrzehnten ausreichend Nahrung überwiegend ein Privileg der Reichen, so wurde die danach folgende Selbstverständlichkeit der ausreichenden Lebensmittelversorgung zum Grundstein für die „Volkskrankheit“ Adipositas.

Einer Untersuchung des Statistischen Bundesamt (Destatis) zufolge waren im Jahr 2009 insgesamt 51 % der erwachsenen Bevölkerung Deutschlands übergewichtig, nämlich 60 % der Männer und 43 % der Frauen (Mikrozensus Zusatzbefragung, 2009). Vergleicht man diese Zahlen mit Daten vergangener Erhebungen, so lässt sich eine Zunahme des Anteils Übergewichtiger feststellen (1999: 56 % der Männer und 40 % der Frauen). Über 16 % der Männer und 14 % der Frauen waren nach Definition der WHO sogar stark übergewichtig (Body Mass Index – BMI > 30). Auch die ökonomischen Folgen der Adipositas werden aus dieser Untersuchung heraus ersichtlich: stuften Personen sich als gesundheitlich beeinträchtigt ein, waren sie signifikant häufiger adipös als normalgewichtig. So hatten von den kranken Männern 20 % einen BMI über 30, der Anteil bei den gesunden Männern betrug 15 %. Bei Frauen lagen die entsprechenden Werte bei 20 % und 13 %. Das Hauptproblem bei Adipositas ist die grosse Zahl der Folgeerkrankungen, die mit Übergewicht einhergehen. Die Kosten der Behandlung von Adipositas in Deutschland wurden im Jahr 2008 auf 13 bis 20 Milliarden Euro geschätzt. Dies entspricht einem Anteil von etwa 6 % aller Krankheitskosten (Schulze, 2008). Die Folgekosten für Arthrose betragen dabei ca. 1 Mrd. Euro und kommen somit an dritter Stelle nach den Kosten für Diabetes mellitus (6,8 Mrd.) und Herz-Kreislauf Erkrankungen (1,9 Mrd.).

Zusammengefasst kann man also davon ausgehen, dass aufgrund der oben angeführten Gründe die Anzahl an durchgeführten MRTs in den kommenden Jahren kontinuierlich steigen wird. Auch die Auswirkungen der zunehmenden Verbreitung von MRTs mit einer Feldstärke von mehr als 3 T sind bisher nicht bekannt. Tatsache ist, dass wir bis heute nur unzureichende Informationen vorweisen können, wie sich hochfrequente, starke Magnetfelder (wie sie bei MRTs Verwendung finden) auf humane Chondrozyten und auf die Entstehung und Progredienz von Osteoarthrose beim Menschen auswirken.

Die Entstehung von Arthrose ist ein heterogener Prozess. Um zu verstehen, auf welche vielfältigen Möglichkeiten Osteoarthrose entstehen und die Proliferation von Chondrozyten beeinflusst werden kann, müssen basale Prinzipien der Chondrogenese und Osteoarthrose bekannt sein. Ein kurzer Überblick über die Grundlagen der Chondrogenese soll in dieser Arbeit vermittelt werden. Auch die verschiedenen immunologischen Prozesse, die zur Entstehung von Arthrose beitragen können, müssen erörtert werden, um eine mögliche Beeinflussung dieser Prozesse durch hochfrequente Magnetfelder verständlich zu machen. Knorpelgewebe setzt sich aus unterschiedlichen Bestandteilen zusammen; entsprechend vielfältig sind die Möglichkeiten der Beeinflussbarkeit verschiedener Bestandteile durch exogene Faktoren wie z.B. Magnetfelder. Die folgenden Seiten sollen einen Überblick über die komplexen Entstehungsprozesse von Arthrose auf zellulärer Ebene geben.

## 5. Grundlagen der humanen Chondrogenese

Knorpel ist ein druckstabiles Bindegewebe, das in Laufe der Entwicklung des menschlichen Körpers sehr unterschiedliche Aufgaben übernimmt. Knorpelgewebe besteht nicht nur aus den Chondrozyten bzw. deren Vorläufern, den Chondroblasten, sondern erhält seine besonderen Eigenschaften vor allem durch Strukturproteine, die in eine amorphe Grundsubstanz eingelagert sind. Die Versorgung des Knorpels mit Nährstoffen erfolgt im Gelenk durch die Synovialflüssigkeit. Der Mangel an suffizienter Versorgung über Blutgefäße ist einer der Gründe für das limitierte Regenerationspotenzial von hyalinem Knorpelgewebe. Defekte heilen, wenn überhaupt, mit der Bildung eines fibrösen Ersatzknorpels aus.

Am Beginn der Chondrogenese stehen pluripotente mesenchymale Stammzellen, die unter dem Einfluß von Wachstumsfaktoren (u.a. FGF -2 und -18) zu Chondroblasten differenzieren (Haque T et al., 2007). Chondroblasten beginnen mit der Bildung der Grundsubstanz, die aus Hyaluronsäure, Proteoglykanen, Glykoproteinen, Elektrolyten und Plasmazellprodukten besteht. Eingelagert in die Grundsubstanz finden sich jene von Chondrozyten gebildeten Strukturproteine, die maßgeblich die Eigenschaften des Knorpelgewebes bestimmen. Als Strukturproteine werden fibrilläre Polypeptide wie Kollagene und Elastin bezeichnet. Kollagene bilden den Hauptbestandteil nicht nur von Knorpel, sondern auch von Knochen, Basalmembran und anderen spezialisierten Geweben des menschlichen Organismus. Kollagene, die eine linksgängige Tripelhelix aus  $\alpha$ -helikalen Peptidketten aufweisen, machen ca. 25-30% des Gesamtkörperproteins aus (Fietzek PP, Kühn K; 1976). Ein interessanter Aspekt der Kollagenstruktur ist der hohe Anteil an Glycin, Prolin, Hydroxyprolin und Hydroxylysin. So ist jede dritte Aminosäure der Primärstruktur Glycin. Kollagene werden als Prokollagen synthetisiert, erst durch proteolytische Abspaltung entstehen die Kollagenmoleküle, die sich danach zu Kollagenfibrillen aggregieren (Böcker: Pathologie, 2001).

Derzeit sind 29 Typen von Kollagen bekannt, welche in verschiedenen Gewebearten vorkommen. In hyalinem Knorpel finden sich hauptsächlich Kollagenfasern vom Typ II, IX und XI. Elastin ist ein Bestandteil elastischer Fasern und in größerer Menge in Geweben mit erhöhter Gewebselastizität eingebaut. Im Gegensatz zu Kollagen ist Elastin elastisch dehnbar. Elastin ist ein Proteinnetzwerk, abwechselnd zusammengesetzt aus hydrophoben und hydrophilen Domänen. Elastin findet sich im elastischen Knorpel und verleiht ihm Druck- und Biegestabilität, nicht jedoch im hyalinen Knorpel (Böcker: Pathologie, 2001).

## 5.1 Zusammensetzung der Knorpel-Grundsubstanz

Die Grundsubstanz besteht, wie bereits oben beschrieben, neben den Strukturproteinen auch aus amorphen Anteilen. Hauptbestandteile sind Hyaluronsäure (HA), ein langkettiges Polysaccharid, und Aggrekan, ein Proteoglykan, sowie Chondroitinsulfat.

-Hyaluronsäure: sie ist die Hauptkomponente der Grundsubstanz. Als lineares Polysaccharid besteht Hyaluronsäure aus D-Glukuronsäure und N-Azetyl-D-Glucosamin, zwei Glucosederivaten. Im Gegensatz zu anderen Glycosaminoglycanen wird Hyaluronsäure nicht im endoplasmatischen Retikulum zusammengesetzt, sondern von HA-Synthasen intrazellulär synthetisiert. Der Transport in den extrazellulären Raum erfolgt über sogenannte MRP5 ABC-Transporter (Schulz T et al., 2007). Aufgrund der hohen molaren Masse der einzelnen Ketten besitzt HA die Fähigkeit, enorme Mengen an Wasser zu binden (bis zu 6 Litern pro Gramm). Der somit hohe Wasseranteil des Knorpels erklärt auch dessen grosse Druckbeständigkeit unter Belastung. Als Bestandteil der Synovialflüssigkeit verleiht sie dieser eine Strukturviskosität, das

heißt, die Viskosität der Synovialflüssigkeit nimmt mit der Stärke der einwirkenden Scherkräfte ab und wirkt damit als „Schmierflüssigkeit“ strukturellen Knorpelschäden entgegen. Zusätzlich bindet das im hyalinen Knorpel vorhandene Aggrecan an die Hyaluronsäure. Insgesamt enthält der menschliche Körper etwa 15g Hyaluronsäure, wovon 5g jeden Tag neu synthetisiert und abgebaut werden.

-Aggrecan: gehört zu der Familie der Proteoglycane und bildet einen essentiellen Bestandteil der extrazellulären Knorpelmatrix oder Grundsubstanz. Die humane Form des Aggrecan umfasst über 2000 Aminosäuren, durch alternatives splicing entstehen multiple Isoformen des Proteoglycans. Aggrecan bindet an der Basis an Hyaluronsäure, während Chondroitinsulfat- und Keratansulfatketten an das Aggrecan binden. Durch die spezielle molekulare Form weist der Komplex aus Proteoglycanen und Glycosaminoglycanen die notwendige osmotische Aktivität auf, um durch das gebundene Wasser den notwendigen Schwelldruck zu erzeugen, der dem Knorpel die erforderliche Stabilität verleiht. Die Domäne am N-terminalen Ende des Aggrecan ist sehr empfindlich gegenüber proteolytischer Aktivität durch Proteasen. Insbesondere Mitglieder der ADAMTS-Familie (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs) sind für die proteolytische Aktivität im Knorpel verantwortlich und spielen eine wichtige Rolle bei Arthrose und rheumatoider Arthritis.

-Chondroitinsulfat: gehört zur Gruppe der Glycosaminoglycanen. Wie bereits oben beschrieben, ist Chondroitinsulfat als wichtiger Bestandteil der Knorpelmatrix normalerweise an Proteoglycane gebunden. Als Ligand für CD44 T-Lymphozyten vermittelt und induziert Chondroitinsulfat proinflammatorische Reaktionen.

## 6. Definition der Osteoarthrose

Trotz des häufigen Vorkommens ist die Definition der Osteoarthrose bis heute nicht eindeutig geklärt. Die Unklarheiten fangen bei der Namensgebung an: synonym für die Osteoarthrose wird der Begriff Osteoarthritis, vor allem im englischen Sprachgebrauch, verwendet. Im deutschen Sprachgebrauch bezeichnet die Endung „-itis“ das Vorhandensein einer inflammatorischen Komponente, so dass der Begriff Osteoarthritis zumeist entweder im Rahmen einer aktivierten Arthrose oder aber bei entzündlicher Genese der Osteoarthrose verwendet wird. Osteoarthrose ist die weltweit häufigste Gelenkerkrankung (Felson DT, 1990). Untersuchungen zeigen, dass mehr als 12% der Einwohner in den USA, die älter als 25 Jahre sind, klinische Symptome einer Osteoarthrose aufweisen (Lawrence RC et al., 1998). Die Tatsache, dass Osteoarthrose für Betroffene eine massive Einschränkung der Lebensqualität bedeutet, wird behandelnde Ärzte angesichts der oben beschriebenen demografischen Änderungen in den nächsten Jahrzehnten vor große Herausforderungen stellen.

### 6.1 Klassifikation der Osteoarthrose

Die häufigste zur Beschreibung der Osteoarthrose verwendete Definition ist nach wie vor die Klassifikation nach Kellgren und Lawrence: dabei wird die Arthrose nach Vorhandensein von folgenden radiologischen Kriterien in vier Grade eingeteilt. Überprüft werden das Vorhandensein von Osteophyten, eine Verschmälerung des Gelenkspaltes, subchondrale Sklerosierung sowie das Vorhandensein von Geröllzysten (Kellgren JH, Lawrence JS, 1957). Nicht unerwähnt bleiben sollte auch die in Nordeuropa verbreitete Klassifikation der Arthrose nach Ahlbäck. Hierbei wird die Arthrose nach Gelenkspaltverschmälerung und Knochenabbau bei

Gelenken unter Belastung in fünf Grade eingeteilt (Ahlbäck S, 1968). Daneben wurden zahlreiche Scores entwickelt, die auf dem Vorkommen klinischer Symptome wie Bewegungseinschränkung, Gelenkschmerz, Morgensteifigkeit und Gelenkknirschen beruhen (Altman R et al., 1991). Die Verwendung dieser herkömmlichen radiologischen Klassifikation wirft einige Probleme auf, die interindividuellen Unterschiede bei der Beurteilung der Arthrosezeichen sind teilweise beträchtlich (Kellgren JH, Lawrence JS, 1957). Da die gebräuchlichsten Klassifikationen auf radiologischen Scores beruhen, erklärt dies teilweise die Schwierigkeit, genaue Inzidenzzahlen zur Osteoarthrose zu ermitteln. Vor allem in frühen Stadien der Arthrose kann die Beurteilung des Schweregrades anhand röntgenologischer Bilder nicht ganz unproblematisch sein. Degenerative Veränderungen am Knorpel sind arthroskopisch nachweisbar, bevor sie konventionell radiologisch zu erkennen sind (Blackburn WD et al., 1994).

Im Gegensatz dazu erlauben MRTs eine wesentlich genauere und vor allem frühzeitigere Diagnose von kartilaginären Defekten. Ein großer Vorteil der MRT-Diagnostik im Rahmen der Osteoarthrose liegt darin, differentialdiagnostische Ursachen von Gelenkschmerzen (z.B. Osteochondrosis dissecans) ausschließen zu können. Nachteile der MRT – Untersuchung sind die deutlich höheren Kosten im Vergleich zu herkömmlichen radiologischen Untersuchungen sowie die deutlich geringere Verfügbarkeit (Hart DJ, Spector TD; 2000). Unabhängig davon, ob man die aktuelle Entwicklung gutheißt oder nicht, steht außer Frage, dass die Anzahl der durchgeführten MRTs in den letzten Jahren angestiegen ist und aller Wahrscheinlichkeit nach auch in den kommenden Jahrzehnten zunehmen wird. Ob und in welcher Weise humane Chondrozyten reagieren, wenn sie einem hochfrequenten Magnetfeld ausgesetzt sind, ist, wie oben beschrieben, umstritten. Ebenso wenig geklärt ist, ob im Rahmen einer Osteoarthrose bereits geschädigtes Knorpelgewebe anders auf hochfrequente Magnetfelder reagiert als gesunder Knorpel.

## 6.2 Inzidenz und Prävalenz der Osteoarthritis

Die mangelnde Korrelation klinisch relevanter Symptomatik mit radiologisch gesicherter Arthritis stellt ein grosses Problem in der Erfassung der Prävalenz der Osteoarthritis dar. Auch die Inzidenzerfassung epidemiologischer Arthritisstudien wird dadurch erschwert (Hirsch R et al., 2000). Einer britischen Studie zufolge klagten nur 25 % der Patienten, die nach radiologischen Kriterien eine Gonarthrose aufwiesen, über klinische Beschwerden (Spector TD et al., 1991).

Allgemein gültige Aussagen über Prävalenz und Inzidenz der Arthritis zu treffen, ist also relativ schwierig. Eine schwedische Studie zeigte bei Menschen zwischen 50–70 Jahren das Vorhandensein einer klinisch signifikanten Osteoarthritis in 8,5 % der Fälle (Jacobson L et al, 1989). Grundsätzlich ist die Arthritisrate bei Frauen aller Altersgruppen höher als bei ihren männlichen Altersgenossen. Dass die Arthritisprävalenz mit steigendem Alter zunimmt, wurde bereits weiter oben angeführt und erscheint logisch (van Saase JL et al., 1989). Eine Verteilung der am häufigsten von klinischen Beschwerden der Arthritis betroffenen Gelenken zeigt [Abb. 4](#).

Neben dem Alter gibt es weitere, unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung einer klinisch relevanten Arthritis. Als nicht beeinflussbare Faktoren werden das Geschlecht und genetische Prädisposition bezeichnet.



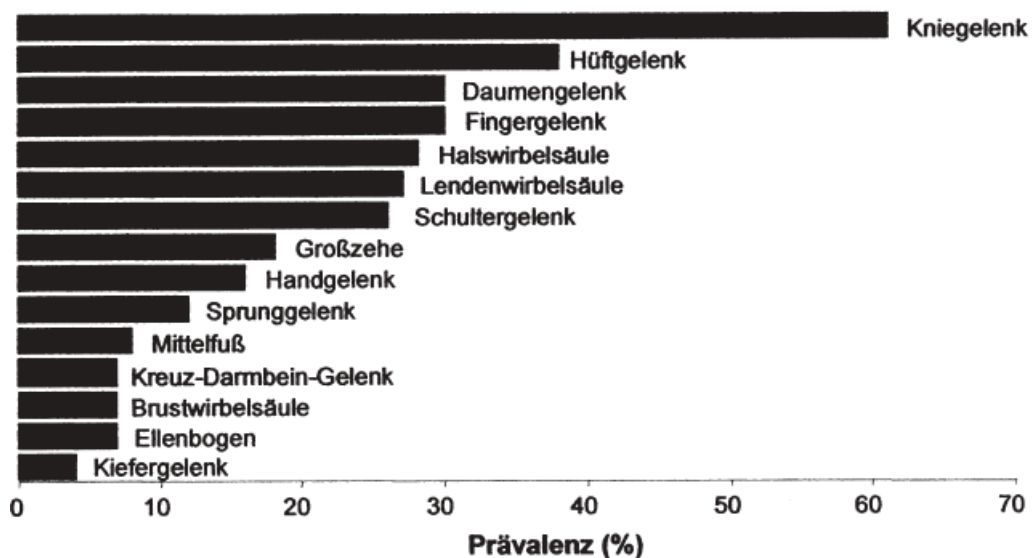


Abb. 4.: Arthrotische Beschwerden nach Lokalisation. Daten aus 25.000 Antworten, erhalten bei einer Mitgliederumfrage der Arthrose Hilfe e.V. aus dem Jahr 2000 (Quelle: Engelhardt M, 2003)

Beeinflussbare Faktoren stellen vor allem die Adipositas, hormonelle Einflüsse, Gelenktraumata, Belastung sowie frühe operative Eingriffe an Gelenken dar (Engelhardt M., 2003). So zeigten Studien, dass schwere Traumata des Kniegelenks das Risiko für die anschließende Entwicklung einer Gonarthrose um bis zu 70 % steigern können, insbesondere wenn posttraumatisch eine Meniskektomie indiziert war (Gelber AC et al., 2000).

Vor allem die Adipositas stellt einen Faktor dar, der zunehmend an Bedeutung gewinnt. Wie bereits oben dargestellt, waren 2009 erstmals mehr als die Hälfte der Bevölkerung (51 %) Deutschlands übergewichtig. Vor allem das Auftreten einer Gonarthrose ist eng an einen erhöhten BMI-Wert (body mass index) gekoppelt (Günther KP et al., 2002). Studien zufolge führt eine Reduktion des BMI-Wertes um 2 Einheiten bei Frauen zu einer 50 % Reduktion des Risikos, eine Gonarthrose zu entwickeln (Felson DT et al., 1992). Bezüglich der Coxarthrose scheint kein oder nur geringer Zusammenhang mit Adipositas zu bestehen.

### 6.3 Einfluss des MRTs auf Chondrozyten und Pathogenese der Osteoarthritis

Die Osteoarthritis als degenerative Erkrankung wird durch den Verlust gesunder Knorpelzellen und die damit verbundenen Veränderungen in der Zusammensetzung der Knorpelmatrix definiert (Sandell LJ et al., 2001). Allgemein gültige Aussagen über die Auswirkung von MRTs auf die Entstehung der Osteoarthritis sind derzeit nicht sicher möglich. Während eine Arbeitsgruppe eine Proliferationshemmung von humanen Chondrozyten innerhalb von 48 h nach Exposition gegenüber einem hochfrequenten Magnetfeld fand (Hsieh et al.; 2008), konnte eine andere Gruppe nur eine temporäre Beeinträchtigung von Chondrozyten nachweisen (Sunk et al.; 2006). Aufgrund des Mangels an Daten lassen sich bis jetzt keine verlässlichen Aussagen zur möglichen Beeinflussung von Chondrozyten durch hochfrequente Magnetfelder treffen.

Die Pathogenese der Osteoarthritis ist ein komplexerer Prozess als auf den ersten Blick scheint: durch den voranschreitenden Abbau verlieren Chondrozyten die Fähigkeit, die Balance zwischen Synthese und Abbau der Knorpelmatrix aufrecht zu erhalten. Es kommt zur Bildung von Zonen mit vermehrter Apoptoserate der Chondrozyten im Bereich von erkranktem Knorpelgewebe (Blanco FJ et al., 1998), ein wichtiges Kriterium zur Unterscheidung von gesunden Arealen. Ein Problem stellt das Fehlen von Phagozyten im Knorpel dar. Abgestorbene Zellen werden nicht phagozytiert und abgebaut, sondern geben ihre toxischen Überreste in die Umgebung ab, was wiederum zu einem Fortschreiten des Knorpelabbaus und Mineralisierung der Knorpelmatrix zu führen scheint (Hashimoto S et al., 1998).

Lange Zeit wurde die Induktion von Apoptose in Chondrozyten als Stickstoff-Monoxid (NO) vermittelt angesehen (Blanco FJ et al., 1995). Neuere Studien zeigen aber, dass eine Schlüsselrolle bei dem Fortschreiten

der Degeneration toxische Stoffwechselprodukte, sogenannte „reactive oxygen species“ (ROS) spielen. ROS entstehen im Rahmen des mitochondrialen Zellstoffwechsels und scheinen unter anderem für die Induktion von vermehrter Apoptose in Chondrozyten verantwortlich zu sein (Taskiran D et al., 1994). Erst die, unter anderem durch NO vermittelte, gesteigerte Freisetzung von ROS führt zur pathologisch gesteigerten Apoptoserate (Del CM Jr. et al., 2002). ROS führen intrazellulär zu einer vermehrten Oxidierung von membrangebundenen, ungesättigten Fettsäuren, was zu der Synthese von Aldehyden führt. Aldehyde wiederum können, ähnlich wie freie Radikale, an Proteine binden und Zellen schädigen.

Die Pathogenität von Aldehyden wird durch ihre Bindungsaffinität einerseits und ihre Halbwertszeit andererseits bestimmt. Zu den reaktivsten Aldehyden gehören solche aus der Gruppe der 4-hydroxy -2-alkenal Gruppe, wie z.B. 4- hydroxynonenal (HNE) (Vaillancourt F et al., 2008). Eine andere Studie konnte belegen, dass die Konzentration von HNE in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit Osteoarthritis im Vergleich zu gesunden Probanden deutlich erhöht war. Des Weiteren wurde gezeigt, dass vermehrtes Vorkommen von HNE die Transkription von Kollagen Typ II und Metalloproteasen (MMP-13) modifiziert, wodurch es zu einem erhöhten Abbau von Knorpelmatrix kommt. Auch kann HNE die Expression von Cyclooxygenase-2 (COX-2) vermehrt induzieren sowie die fakultative Form der NO-Synthase (iNOS) über Inaktivierung von Nuclear Factor kappa B (NFkB) inhibieren (Morquette B et al., 2006). Die Ergebnisse der Studie legen nahe, dass die Induktion von Apoptose in Chondrozyten durch HNE über eine Aktivierung des Fas/CD95-Rezeptors und der poly -ADP-ribose-Polymerase (PARP) getriggert wird. Interessanterweise ließen sich sämtliche, proapoptotische Effekte durch die Gabe von antioxidativ wirkendem N-acetyl-cystein hemmen (Vaillancourt F et al., 2008).

## 6.4 Die Rolle von ADAMTS-Proteinasen bei der Entwicklung von Osteoarthritis

ADAMTS (A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs) Proteinasen sind eine Gruppe von Enzymen, die in unter anderem in der Entwicklung der Arthritis eine entscheidende Rolle spielen. ADAMTS wurden erstmals 1997 im Mausmodell beschrieben (Kuno K et al., 1997). Bis jetzt wurden 19 verschiedene Arten von humanen ADAMTS identifiziert, wobei allen Arten gemein ist, dass die Zink-bindende katalytische Domäne einen hohen Grad an Ähnlichkeit aufweist. Die Zink-bindende Domäne wird C-terminal von einem Methionin-Überrest gefolgt, der die, für die katalytische Funktion unerlässliche, Faltung garantiert (Bode W et al., 1993). Auf die katalytische Domäne folgt eine Region, welche eine 25–45 % Ähnlichkeit mit Disintegrinen von Schlangengiften aufweist, woher auch die Namensgebung stammt, obwohl es bis jetzt keinen Beweis dafür gibt, dass diese ADAMTS-Domäne tatsächlich mit Integrinen interagieren kann (Huang TF, 1998).

Des Weiteren besteht ADAMTS aus einer gut konservierten Sequenz namens TSR (thrombospondin type 1-like repeat), die als Bindungsstelle für Glycosaminoglycane fungiert und eine CRD-Domäne (cystein rich domain), die als funktionelles Bindeglied zu Strukturen der extrazellulären Matrix zu wirken scheint (Kuno K et al., 1998). Verschiedene ADAMTS-Gruppen (-1, -4, -5, -8, -9, -15 und -20) wirken als Hyalectanasen, d.h., sie vermitteln die Abspaltung verschiedener Proteoglycane von Hyaluronsäure. Da das am häufigsten gespaltene Proteoglycan Aggrekan ist, werden ADAMTS-Proteinasen in der Literatur auch als Aggrekanasen bezeichnet (Sandy JD et al., 1991). Einzelne ADAMTS-Gruppen (u.a. ADAMTS-4 und -5) spalten neben anderen Proteoglycanen wie Hyalectan und Brevican aber auch COMP (cartilage oligomeric matrix protein), Fibromodulin und Decorin. ADAMTS-Proteinase scheinen also ein weiteres proteolytisches Spektrum zu haben als lange Zeit vermutet (Kashiwagi M et

al., 2004). Die physiologische Inhibition der Aggrekanasen erfolgt hauptsächlich durch die Familie der TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinases). TIMP-3 findet sich ausschließlich in der extrazellulären Matrix von Chondrozyten und gilt als der wichtigste Inhibitor von ADAMTS-4 und -5 (Kashiwagi M et al., 2001).

Im Rahmen der Entwicklung einer Osteoarthritis scheint Studien zufolge hauptsächlich ADAMTS-5, möglicherweise auch ADAMTS-4 eine Rolle zu spielen. Bei Mäusen konnte eine signifikante Reduktion des Fortschreitens einer zuvor chirurgisch hervorgerufenen Osteoarthritis beobachtet werden, wenn ADAMTS-5 nicht exprimiert wurde (Glasson SS et al., 2004, 2005). Ähnliches gilt für Modelle, in denen die Knorpeldefekte durch inflammatorische Prozesse vergleichbar mit einer akuten Arthritis hervorgerufen wurden (Stanton H et al., 2005).

Aggrekanasen spielen also eine entscheidende Rolle bei den pathologischen Abbauprozessen von Knorpel im Rahmen von arthritischen Erkrankungen (Lohmander LS et al., 1993; Sandy JD et al., 2001). Pratta et al. (2003) konnten in einer Arbeit zeigen, dass gebundenes Aggrekan nicht nur wichtige mechanische Funktionen im Knorpel übernimmt, sondern auch die gebundenen Kollagenfibrillen vor dem proteolytischen Abbau schützt.

Es gibt Hinweise darauf, dass die im Rahmen von entzündlichen Prozessen aktivierten und hochregulierten Zytokine zu einer vermehrten Expression von bestimmten Aggrekanasen führen. So konnte eine vermehrte Expression von ADAMTS-4 mRNA in Chondrozyten durch die Gabe von Interleukin-17 oder TGF- $\beta$  hervorgerufen werden (Sylvester J et al., 2004). Sowohl im Mausmodell als auch bei humanen Chondrozyten konnte durch die Applikation von IL-1 $\alpha$  eine vermehrte Expression von ADAMTS-5 festgestellt werden (Koshy PJ et al., 2002). Ob die Aktivierung der Aggrekanasen dabei direkt über die applizierten Zytokine erfolgt oder aber

über zwischengeschaltete, regulierende Enzyme, ist noch unklar (Patwari P et al., 2005). Jedoch scheint nicht nur die absolute Menge an exprimierter Aggrekanase eine Rolle bei der Entwicklung der Arthrose zu spielen, sondern auch das Fehlen bestimmter inhibitorischer Regionen im Protein selbst: so würde Aggrekan nicht nur teilweise von Hyaluronsäure abgespalten werden, sondern zu grossen Teilen komplett aus dem Knorpel entfernt und könnte damit weder die mechanische Schutzfunktion erfüllen, noch den Schutz von Kollagen vor proteolytischer Aktivität gewährleisten (Jones GC et al., 2005).

Dazu passend wurden Unterschiede in der Expression von ADAMTS in gesundem und osteoarthritisch verändertem humanen Knorpelgewebe untersucht. Es zeigte sich, dass normaler Knorpel das gesamte Spektrum der ADAMTS-Familie exprimiert, bis auf ADAMTS-7 und -8. Die höchste Expression im gesunden Knorpel fand sich bei ADAMTS-1, -5, -6, -15, -18 und -19. Interessanterweise war die Expression der Hyalactanasen ADAMTS-1, -5, -9 und -15 im gesunden Knorpel höher, dafür exprimierte osteoarthritisch veränderter Knorpel deutlich mehr ADAMTS-2 und -14, die als Prokollagen-Peptidasen fungieren. Die geringere Expression von Hyalactanasen in Knorpelgewebe im fortgeschrittenen Arthrosestadium bedeutet aber nicht, dass diese ADAMTS Untergruppen im Anfangsstadium der Knorpeldegeneration keine Rolle spielen (Jones et al., 2005)

Auch ADAMTS-12 und -16 waren im osteoarthritischen Knorpel erhöht. Während man weiß, dass ADAMTS-12 in der Lage ist, COMP (cartilage oligomeric matrix protein) abzubauen, kennt man die Funktion von ADAMTS-16 im Knorpel noch nicht (Liu CJ et al., 2006; SurrIDGE AK et al., 2009). Für die Entstehung degenerativer kartilaginärer Veränderungen sind sicherlich viele Faktoren zu berücksichtigen. Eine entscheidende Rolle dabei spielt jedoch sicherlich nicht nur die korrekte Regulation der Expression der Hyalactanasen, sondern auch die korrekte Transkription. Fehler in der Transkription führen in manchen Fällen nicht zu einem

Funktionsverlust, sondern zu einer Expression aggressiverer Arten von ADAMTS, die zu einem zu radikalen Abbau von Aggrekan führen. Fehlt Aggrekan schließlich im Knorpelgewebe, so kommt es neben vermehrter mechanischer Schädigung auch zu einem vermehrten Abbau von Kollagen durch Prokollagen Peptidasen, was wiederum zu einer verminderten Resistenz des verbliebenen kartilaginären Gewebes führen kann.

## 7. Bedeutung von Magnetfeldern im Rahmen der Therapie der Osteoarthritis

Die Bedeutung der Osteoarthritis als weltweit häufigste Gelenkerkrankung wurde bereits oben beschrieben. Neben der hohen Prävalenz ist vor allem die dramatische Reduktion der Lebensqualität, die Betroffene erleiden, ein grosses Problem der Erkrankung. Nach wie vor gibt es keine kurativen Therapiemöglichkeiten, die eine restitutio ad integrum ermöglichen. Vereinfacht gesagt basiert die Therapie der Osteoarthritis auf analgetisch bzw. antiinflammatorisch wirkender Medikation, um dem Patienten einen möglichst langen Zeitraum zu gewähren, bevor eine operative Versorgung mit einer Endoprothese notwendig wird. Aufgrund der Beschränktheit der konservativen Therapiemöglichkeiten wenden sich Patienten oft hilfesuchend an Anbieter alternativer Therapeutika, deren Wirkung oft nur unzureichend oder gar nicht belegt ist. Immer wieder finden sich verschiedene Geräte am Markt, die dem Patienten eine Linderung der osteoarthrotisch bedingten Beschwerden durch die Applikation von niederfrequenten Magnetfelder versprechen. Angebote finden sich von privaten Anbietern mit klingenden Namen wie „Magnetovital“ ([www.magnetovital.ppm-marburg.de](http://www.magnetovital.ppm-marburg.de)) genauso wie von niedergelassenen Ärzten. Dem Patienten wird Linderung nicht nur von arthrotischen Beschwerden versprochen, auch viele andere Beschwerden von Hypertonie bis Depression sollen durch die Anwendung der „Magnetfeldtherapie“ verschwinden.

Die aktuelle Studienlage zeichnet ein anderes Bild: in einem aktuellen Review (Cao LY et al., 2012) wurden fünf randomisiert kontrollierte Studien untersucht. Insgesamt wurden dabei 331 Patienten, die unter Gonarthrose litten, mit pulsierenden elektromagnetischen Feldern behandelt. Eine signifikante Verbesserung der Beschwerden im Vergleich zu Kontrollpatienten konnte dabei nicht gefunden werden.



## 7.1 Medikamentöse Therapie der Osteoarthritis

Aufgrund der Wichtigkeit der konservativen pharmakologischen Therapie der nicht - rheumatisch bedingten Osteoarthritis soll hier ein kurzer Überblick über die verschiedenen Möglichkeiten der medikamentösen Therapie und deren Stellenwert gegeben werden. Die folgenden Empfehlungen stammen aus den aktuellen Leitlinien des „American College of Rheumatology“ (ACR) 2012. Generell empfiehlt die ACR allen Patienten mit beginnender oder moderat fortgeschrittener Arthritis des Knies oder der Hüfte die Teilnahme an Sportgruppen sowie gegebenenfalls die Reduktion von Gewicht. Zusätzlich werden die Verordnung von Orthesen vor allem bei der Osteoarthritis der Hand, aber auch der Gon- und Coxarthrose empfohlen (Hochberg M et al, 2012).

Bezüglich der pharmakologischen Therapie können die verfügbaren Medikamente grob in fünf Subkategorien eingeteilt werden: (1) Analgetika vom nicht- NSAR Typ, (2) nicht steroidale-Antirheumatika (NSARs - im anglikanischen Sprachgebrauch auch als NSAIDs bezeichnet), (3) topische Analgetika, (4) intraartikulär applizierte Cortikosteroide und (5) experimentelle Biologika (z.B: Hyaluronsäure oder Chondroitinsulfat).

**-Analgetika vom nicht -NSAR Typ:** Als häufigster Vertreter dieser Gruppe wird Paracetamol genannt. Die Gabe von Paracetamol wird vom „American College of Rheumatology“ (ACR) initial zur Therapie der symptomatischen Osteoarthritis von Knie- und Hüftgelenk empfohlen. Keine Empfehlung für die Verwendung von Paracetamol besteht bei der symptomatischen Arthritis der Hand. Paracetamol in einer Dosierung von bis zu 2g pro Tag hat ein signifikant niedrigeres Risiko bezüglich des Auftretens gastrointestinaler Nebenwirkungen und kann auch bei Patienten mit beginnender und moderat fortgeschrittener Niereninsuffizienz eingesetzt werden. Die

analgetische Potenz bleibt in dieser Dosierung allerdings auch deutlich unter jener von NSARs. Die Dosierung von Paracetamol kann auf bis zu 4g pro Tag gesteigert werden um eine Verbesserung der analgetischen Potenz zu erreichen, jedoch steigt dabei das Risiko des Auftretens gastrointestinaler Blutungen auf ein vergleichbares Niveau wie bei der Verwendung von NSARs. Das scheint an der dosisabhängigen, vergleichsweise schwachen COX-1-Inhibierung durch Paracetamol zu liegen. Generell wird die Verwendung von Paracetamol bei Osteoarthrose-Patienten über dem 75. Lebensjahr empfohlen. Andere Vertreter dieser Gruppe sind schwach wirksame Opiode wie z.B. Tramadol. Die Verwendung von Opioiden wird für Patienten empfohlen, denen bei fortgeschrittener, schmerzhafter Arthrose aus verschiedenen Gründen keine endoprothetische Versorgung empfohlen werden kann. Keine Empfehlung wird für den manchmal verwendeten Wirkstoff Duloxetin ausgesprochen.

**-Nicht-steroidale Antirheumatika (NSARs):** die ACR-Leitlinien empfehlen bei Patienten, die von der Gabe von Paracetamol nicht adäquat profitieren, die Gabe von NSARs. Die Wirksamkeit von NSARs im Vergleich zu Placebos oder Paracetamol wurde in Studien hinreichend belegt (Watson MC et al., 2000). Kein Unterschied konnte in der Wirksamkeit der unterschiedlichen Präparate gefunden werden. Die möglichen Nebenwirkungen von NSARs sind hinreichend bekannt. So können NSARs neben gastrointestinalen Blutungen und Ulzerationen auch zu nephrotoxischen Syndromen und kongestiver Herzinsuffizienz führen (Hernandez-Diaz S et al., 2001). So wird bei Patienten mit Gonarthrose und aktuellen gastrointestinalen oder renalen Beschwerden oder bei Patienten über 75 Jahren die topische Anwendung von NSARs empfohlen. Bei Patienten mit anamnestisch bekannten gastrointestinalen Ulzerationen, welche länger als ein Jahr zurückliegen, können NSARs zusammen mit Protonenpumpen-Inhibitoren (PPIs) gegeben werden. Eine interessante Alternative stellt

die Gruppe der Coxibe dar. Coxibe blockieren selektiv die fakultativ exprimierte Cyclooxygenase-2 (COX-2). Obwohl das Risiko für die Entwicklung gastrointestinaler Ulzerationen bei COX-2 Hemmern deutlich geringer ist als bei herkömmlichen NSARs, empfiehlt die ACR in den aktuellen Leitlinien eine Kombination mit PPIs bei Patienten mit anamnestisch bekannten gastrointestinalen Blutungen (Rostom A et al., 2009). Bei Osteoarthritis-Patienten mit gleichzeitiger Einnahme von niedrig dosierter Acetylsalicylsäure (ASS, < 325mg /d) aus kardioprotektiven Gründen empfiehlt die ACR die Verwendung von einem nicht-selektiven NSARs (mit Ausnahme von Ibuprofen) zusammen mit einem PPI. Diese Empfehlung basiert auf einer Aussage der FDA (Food and Drug Administration), wonach die gleichzeitige Einnahme von Ibuprofen mit ASS die kardioprotektive Wirkung von ASS verringern kann (Ellison J et al., 2007). Obwohl keine Interaktion von Coxiben mit ASS nachgewiesen werden konnten, wird die Verwendung von selektiven COX-2-Inhibitoren bei gleichzeitiger, regelmäßiger ASS Einnahme nicht empfohlen (Wilner KD et al., 2002). Bezüglich des allgemeinen kardivaskulären Risikos von Coxiben konnte gezeigt werden, dass selektive COX-2-Hemmer über einen Anstieg des mittleren arteriellen Drucks vor allem bei Patienten mit vorbestehender Hypertension im Vergleich mit Placebos und Naproxen zu einem Anstieg kardiovaskulärer Ereignisse führt. Vergleicht man jedoch selektive COX-2-Inhibitoren mit nicht-selektiven NSARs wie Diclofenac, findet sich kein erhöhtes Risiko, ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden (Cannon CP et al., 2006; Laine L et al., 2008). Wie alle Vertreter der nicht-selektiven NSARs können auch Coxibe in seltenen Fällen über eine arterielle Hypertension zu renaler Dysfunktion oder kongestiver Herzinsuffizienz führen. Zusammengefasst stellen Coxibe eine Alternative zu herkömmlichen, nicht-selektiven NSARs dar. Bei gleicher Effektivität in der Reduktion von Osteoarthritis-bedingten Schmerzen weisen COX-2-Inhibitoren bezüglich gastrointestinaler Nebenwirkungen ein deutlich günstigeres

Risikoprofil auf. Andere Nebenwirkungen und Komplikationen treten nicht häufiger als bei traditionellen NSARs auf.

**-Intraartikulär applizierte Corticosteroide:** Die ACR empfiehlt die zusätzliche Anwendung von intraartikulär applizierten Corticosteroiden bei Patienten mit symptomatischer Gonarthrose oder Coxarthrose neben der Gabe von oralen Analgetika. Vor allem im Rahmen einer aktivierten Arthrose kann die intraartikuläre Therapie rasche Schmerzlinderung verschaffen. Gerade bei Gonarthrose ist die intraartikuläre Anwendung von Corticosteroiden ein häufig genutztes Mittel. Allerdings geben nur etwa 60% der Patienten eine kurz anhaltende (< 2 Wochen) Verbesserung und nur 20% der Patienten eine lang anhaltende Verbesserung der Beschwerden an. In neueren Studien konnte gezeigt werden, dass eine genetische Variante des MIF (macrophage inflammatory factor) für eine schwache oder ausbleibende Verbesserung der Beschwerden verantwortlich sein könnte. MIF fungiert im Körper als natürlicher Gegenspieler der von Corticosteroiden vermittelten anti-inflammatorischen Wirkung. Ein spezifischer Polymorphismus im MIF-Gen scheint diese Wirkung von Corticosteroiden zu unterdrücken (Gatha M et al., 2011). Über die Risiken einer intraartikulären Infektion müssen Patienten vor der Anwendung natürlich gründlich aufgeklärt werden.

**-Experimentelle Biologika:** Die perorale Anwendung von Glucosamin und Chondroitin sowie die intraartikuläre Gabe von Hyaluronsäurepräparaten gelten als umstritten. In den Leitlinien spricht sich die ACR klar gegen eine orale Anwendung von Chondroitinsulfat- und Glucosaminpräparaten aus, da entsprechende Nachweise der Wirksamkeit fehlen. Was die intraartikuläre Anwendung von Hyaluronsäure betrifft, gibt die ACR keine Empfehlung ab. Betrachtet man die derzeit vorhandenen Studien und Metaanalysen, so finden sich recht heterogene Resultate. Eine aktuelle

kanadische Arbeit berichtet von Ergebnissen einer randomisiert-kontrollierten, doppelblinden Studie über die Wirkung von oral verabreichtem Chondroitinsulfat. 69 Patienten mit Gonarthrose und klinischen Zeichen einer Synovialitis erhielten 800mg Chondroitinsulfat (CS) pro Tag oder ein Placebo über einen Zeitraum von 6 Monaten, gefolgt von einer open-label Phase, in der alle Patienten der Studie für weitere 6 Monate 800mg CS verabreicht bekamen. Knorpeldicke und Knochenmarks-Läsionen (bone marrow lesions -BML) wurden mit MRT nach 6 und 12 Monaten untersucht und mit Ausgangswerten verglichen. Nach der Aussage der Autoren fand sich sowohl ein signifikant geringerer Knorpelverlust als auch ein niedrigerer Score für BMLs in der Verum-Gruppe. Die Autoren räumen allerdings auch ein, dass sich die klinische Symptomatik in der CS-Gruppe nicht besserte (Wildi L et al., 2011). Andere Multicenter-Studien und meta-Analysen mit weitaus größeren Fall- und Patientenzahlen konnten in ihren Untersuchungen keinen Effekt von Glucosaminen oder Chondroitinsulfat auf die Veränderung des Gelenkspaltes oder die Reduktion von klinischen Symptomen finden. Lediglich bei der Subgruppe von Patienten mit moderaten bis schweren klinischen Symptomen zu Studienbeginn fand sich in einer grossen Studie eine signifikante Besserung der Schmerzen im Vergleich zur Placebogabe wenn Glucosamin und Chondroitinsulfat gemeinsam verabreicht wurden (Wandel S et al., 2010; Clegg DO et al., 2006). Eine weitere Metaanalyse untersuchte die Placebo-kontrollierte Wirksamkeit von intraartikulär verabreichter Hyaluronsäure in das Kniegelenk. Inkludiert wurden 54 Studien mit insgesamt 7545 Patienten. Die Auswirkung auf klinische Symptome (Knieschmerz) wurde nach 4,8,12,16,20 und 24 Wochen untersucht. Eine signifikante Reduktion der Schmerzen bei Patienten mit Gonarthrose wurde nach 4 Wochen beobachtet, wobei die maximale Schmerzreduktion nach 8 Wochen eintrat. Nach 24 Wochen war nur mehr ein minimaler Effekt feststellbar. Die Autoren stellen fest, dass

die Effektgröße (peaksized) deutlich über den als klinisch relevant angesehenen 20% liegt. Die relative Symptomlinderung zwischen der 4. und 8. Woche lag der Studie zufolge sogar über jener von NSARs und Coxiben. Betont werden muss aber, dass die absolute Schmerzreduktion durch herkömmliche Analgetika (NSARs und COX-2-Inhibitoren) deutlich größer war, als jene, die durch die intraartikuläre Gabe von Hyaluronsäure hervorgerufen werden konnte (Bannuru RR et al., 2010). Zusammenfassend muss man Patienten mit klinisch symptomatischer Arthrose von einer oralen Therapie mit Chondroitinsulfat oder Glucosaminen eher abraten, da die von Herstellern versprochene Wirkung in grossen Studien nicht nachgewiesen werden konnte. Bezüglich der intraartikulären Gabe läßt sich ein Symptom-lindernder Effekt nicht ausschließen, dieser liegt jedoch deutlich unter jenem von herkömmlichen analgetisch und anti-inflammatorisch wirkenden Medikamenten. Auch hier werden die Therapiekosten in der Regel nicht von Krankenkassen übernommen.

Nicht außer Acht lassen sollte man konservative Methoden, die auf Änderung des Lebensstils des Patienten basieren. Ein grosser Teil der Patienten mit Osteoarthrose leidet unter Adipositas. Der positive Einfluss von Gewichtsreduktion und moderater Bewegung ist hinreichend untersucht und belegt (Jordan KM et al., 2003; Messier SP et al., 2004) . Problematisch jedoch ist nach wie vor die mangelnde Compliance der Patienten bei der Umsetzung der Empfehlungen zur Modifikation des Lebensstils.

Scheitern konservative Therapieansätze, ist die operative Versorgung von arthrotischen Gelenken das Mittel der Wahl. Indikationen der operativen Therapie sind Einschränkungen der Patienten bei der Arbeit oder der Mobilität, soweit diese nicht kompensiert werden können, als auch konservativ nicht beherrschbare Schmerzen. Trotz hervorragender Ergebnisse und generell hoher Patientenzufriedenheit darf nicht vergessen

werden, dass jeder operative Eingriff Risiken beinhaltet. Ein Faktor, der mit der Änderung der Demographie zunehmend diskutiert wird, sind die vergleichsweise hohen Kosten der operativen Therapie gegenüber der konservativen Therapie. Zu beachten ist auch, dass der in der Orthopädie am häufigsten durchgeführte Eingriff, das arthroskopische Debridement des Kniegelenks und der Menisken, nur bei exakter Indikationsstellung zu einer Besserung der Beschwerden führt (Kirkley A et al., 2008).

## 8. Fragestellung der Studie

Trotz der zunehmenden Bedeutung von Hochfrequenz-Magnetfeldern bei der Diagnostik der Osteoarthrose sind die Auswirkungen von MRTs auf humane Zellen nicht ausreichend untersucht. Eine Arbeitsgruppe fand Hinweise auf proliferationshemmende Auswirkungen von 3T-Magnetfeldern auf humane Chondrozyten (Hsieh et al., 2008). Ziel der vorliegenden Studie war es zu klären, ob hochfrequente magnetische Felder schädigend auf humane Chondrozyten wirken können. Wir entschieden uns für die Verwendung von hochfrequenten 3T-Magnetfeldern, wie sie in der Humanmedizin bei der Verwendung von MRTs jeden Tag zum Einsatz kommen. Da eine Vielzahl der MRT-Untersuchungen mit der Fragestellung nach kartilaginären Schäden durchgeführt werden, wurden Chondrozyten als Probenmaterial zu verwendet. Fragestellungen waren:

- (i) Weisen Chondrozyten eine Änderung des Proliferationsverhaltens auf, wenn sie einem 3 T Magnetfeld ausgesetzt werden, das in Art und Dauer einer typischen Untersuchungssequenz des Kniegelenks entspricht?
- (ii) Kann im Falle einer Proliferationshemmung die Aktivierung eines Apoptosemechanismus nachgewiesen werden?

- (iii) Für den Fall einer Proliferationssteigerung, wird das Wachstum von Chondrozyten angeregt, oder findet sich ein vermehrter Anteil an dedifferenzierten Zellen?

## 9. Material und Methoden

Chondrozyten wurden von toten Spendern gewonnen, ein Ethikvotum der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) lag vor. Die Spender waren männlich und zwischen 25 und 55 Jahren alt. Bereiche von unversehrtem, hyalinen Knorpel im Kniegelenk wurden ausgewählt und unter sterilen Bedingungen entfernt. Die Gewebeteile wurden im Labor in 1–3 mm<sup>2</sup> kleine Teile zerschnitten bevor sie mit PBS (phosphate buffered saline) gespült wurden. Danach wurden die Proben mit Typ II Kollagenase (Invitrogen™) für 4 h bei 37° C inkubiert. Chondrozyten der Passage 1 wurden in T150 Flasks (2x10<sup>5</sup> Zellen pro Flask) mit je 20ml DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, Invitrogen™) angesetzt. Dem Zellmedium wurden 10 % fetal calf serum sowie 1 % Streptomycin zugesetzt. Die Chondrozytenkulturen wurden im Inkubator bei 37° C mit 5 % CO<sub>2</sub> gelagert, bis sie eine Dichte von 65–75 % erreicht hatten. Das Proliferationsmedium wurde alle 3–4 Tage gewechselt. Zwei Tage vor der eigentlichen Versuchsdurchführung wurden die Chondrocyten nochmals gesplittet: ein Teil der Chondrozyten wurde in 96-well Platten ausgebracht, um später die Viabilität der Zellen mit Hilfe eines WST-1 Proliferationstest (Roche™) zu überprüfen. Der andere Teil der Zellen wurde wiederum in insgesamt vier T150 flasks ausgebracht, um später die RNA-Analyse der Chondrozyten durchzuführen. Vor der Versuchsdurchführung wurde die Viabilität der Zellen mikroskopisch und mit Hilfe des WST-1 Proliferations-Assays überprüft.



## 9.1 Applikation des hochfrequenten 3T-Magnetfeldes

In-vitro-Chondrozytenkulturen wurden nach dem Zufallsprinzip in zwei Gruppen unterteilt. Gruppe A diente als Kontrollgruppe. In dieser Gruppe wurden Chondrozyten zusammen mit den Zellen der Gruppe B an den Ort transportiert, wo die Magnetfeld (MF)-Exposition stattfinden sollte. Zellen der Gruppe A wurden allerdings so gelagert, dass keine Exposition gegenüber einem MF stattfinden konnte.

In Gruppe B wurden Chondrozytenkulturen zusammen mit Zellen der Gruppe A an den Ort der MF-Exposition transportiert, wo sie für exakt 27 Minuten einem hochfrequenten, 3 Tesla starken Magnetfeld ausgesetzt waren. Das Protokoll des Magnetfeldes entsprach dabei jenem, das bei MRT Untersuchungen des Kniegelenks angewendet wird (siehe Anhang). Nach dem Versuch wurden Zellen der Gruppe B zusammen mit jenen der Gruppe A wieder an den Ort der Lagerung zurückgebracht. Die Transportzeit betrug ca. 2 Minuten. Während des Transports waren sämtliche Chondrozyten in einem sicheren Transportbehälter untergebracht, der sowohl die Schockbelastung des Transports minimieren sollte, als auch den Temperaturverlust auf ein geringstmögliches Maß reduzieren sollte. Nach der Versuchsdurchführung wurden alle Zellen im Zellinkubator bei 37° C und 5 % CO<sub>2</sub> gelagert.

## 9.2 WST-1 Proliferations-Assay

Zu Bestimmung der Zellproliferation der Chondrozyten verwendeten wir den WST-1 Assay (4-[3-(4-Iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-2H-5tetrazolio]-1.3-benzendisulfonat – (Roche™, Indianapolis). Der WST-1 Assay verwendet ein colorimetrisches Verfahren basierend auf der Spaltung des Tetrazolium-Salzes WST-1 durch mitochondriale Dehydrogenasen in lebenden Zellen. Dieser Assay gilt als sicheres Verfahren zur Quantifizierung von Proliferation und Viabilität der überprüften Zellen, sagt aber nichts über den Zelltypus aus.

Im Rahmen unseres Versuchs verwendeten wir den WST-1 Assay zu drei verschiedenen Zeitpunkten nach der eigentlichen Versuchsdurchführung. Nach einer Ruhezeit von 24 h wurden der erste Proliferationstest an Tag 1 nach der Magnetfeldexposition durchgeführt, gefolgt von weiteren Tests an den Tagen 5 und 10. In diesem Zeitraum wurden die Chondrozytenkulturen im Zellinkubator bei 37° C und 5 % CO<sub>2</sub> aufbewahrt. Der Wechsel des Nährmediums erfolgte alle 3 Tage, die Viabilität der Chondrozytenkulturen wurde regelmäßig mikroskopisch überprüft.

Chondrozyten der Passage 2 wurden in 96-well Platten ausgebracht (n = 5). Pro well wurden  $3 \times 10^4$  Chondrozyten in 100 µl Nährmedium (DMEM, Invitrogen™) ausgebracht. Vor der eigentlichen Durchführung des WST-1 Assays an den Tagen 1, 5 und 10 wurde WST-1 Lösung in einer 1:10 Verdünnung gemäß den Angaben des Herstellers zu den Chondrozyten hinzugefügt. Nach einer Inkubationszeit von 2 h (37° C, 5 % CO<sub>2</sub>) wurden die 96-well Platten auf einem Microplate Reader bei 450nm Wellenlänge und einer Referenzwellenlänge von 690nm ausgelesen.

### 9.3 RNA-Extraktion und Messung der mRNA-Expression mit rt – PCR

Chondrozyten der Passage 2 wurden in T150 flasks kultiviert und randomisiert einer Gruppe (A und B) zugeordnet. Die Chondrozytenkulturen wurden während des gesamten Studienverlaufes bei 37° C und 5 % CO<sub>2</sub> im Inkubator kultiviert. Nachdem die Chondrozyten einem 3T-Hochfrequenz Magnetfeld (Gruppe B) bzw. nur dem Transport (Gruppe A) ausgesetzt worden waren, wurden nach 24 h Ruhezeit an den Tagen 1, 5 und 10 post expositionem die Expression von mRNA evaluiert. Zu jedem oben beschriebenen Zeitpunkt wurden die Chondrozyten nach einem evaluierten Protokoll zuerst trypsinisiert und zentrifugiert, danach wurden die Zellen gewaschen und in PBS resuspendiert. Zur Quantifizierung der Chondrozyten erfolgte die Färbung mit Trypanblau, danach wurden die Zellen jeder Gruppe mit Hilfe eines Hemocytometers gezählt. Die Isolierung der Chondrozyten-RNA aus den Zellpellets erfolgte unter Verwendung des RNeasy Mini Kit (Quiagen™).

Um die erforderliche cDNA zu synthetisieren wurden 0.5 µg Gesamt-RNA mit dem QuantiTect Reverse Transcription Kit (with included DNase treatment – Quiagen™) behandelt. Unter Verwendung des Protokolls von Varras et al. (2007) wurden die Expressionslevel von Aggrekan (als spezifischer Marker für hyalinen Knorpel) mit folgender Sequenz ermittelt: 5'- CAG CAC CAG CAT CCC AGA-3' als antegrade und 5'- CAG CAG TTG ATT CTG ATT CAC G-3' als retrograde Sequenz. Zur Evaluierung der GAPDH-Expression (als housekeeping Referenz-Gen) verwendeten wir 5'- TGCACCACCAACTGCTTAGC -3' als antegrade und 5'- GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3' als retrograde Sequenz nach dem Protokoll von Vandesompele et al. (2002). Als Apoptosemarker diente das Expressionslevel von hPARP (humane poly ADP-ribose polymerase). Nach dem Protokoll von Gao et al. (2010) verwendeten wir 5' - CCC AGG GTC TTC GGA TAG-3' als antegrade und 5'-AGC GTG CTT CAG TTC ATA CA-3'

als retrograde Sequenz. Für die quantitative real-time PCR wurde der LightCycler® (Roche™) mit 2 µL SYBR Green MasterMix, 1 µL cDNA und 500 nM Primer-Konzentration für Aggrekan und PARP sowie 300 nM für GAPDH verwendet. Das Endvolumen betrug 20 µl. Die Amplifikationsparameter wurden für Aggrekan bei 10 Minuten Polymerase-Aktivierung bei 95° C eingestellt, es folgten 40 Zyklen von 95° C für 10 Sekunden, 65°C für 5 Sekunden und 72° C über 15 Sekunden. Für GAPDH wurden nach 10 Minuten Polymerase-Aktivierung bei 95°C 40 Zyklen 95° C für 10 Sekunden, danach 60° C für 60 Sekunden, gefolgt von 72° C für 15 Sekunden. Parameter für PARP waren nach 10 Minuten Polymerase-Aktivierung bei 95° C 40 Zyklen bei 95° C für 10 Sekunden, 60° C über 5 Sekunden gefolgt von 72° C über 15 Sekunden. Übermäßige DNA-Schädigung führt zu einer Aktivierung von PARP-1, einem Enzym, das über die Bildung von poly ADP-ribose zum programmierten Zelltod führt. PARP wird daher oft als Apoptosemarker verwendet. Die Schmelzkurven von Amplicons konnten eine erfolgreiche Amplifikation der jeweiligen Primer bestätigen.

## 9.4 Statistische Analyse

Für die Auswertung der gewonnenen Daten wurde das GraphPad Prism (Graph Pad Software, Inc.) verwendet. Um die Signifikanz der Ergebnisse zu ermitteln wurden der Kruskal–Wallis Test sowie Dunn's multiple comparing test verwendet. Das Signifikanz–Level wurde mit  $p < 0.05$  festgesetzt. Alle Darstellungen sind als  $\text{mean} \pm \text{S.E.M}$  (standard error of the mean) dargestellt. Um die Daten der real–time–PCR zu analysieren und darzustellen verwendeten wir ein mathematisches Modell, das von Michael W. Pfaffl beschrieben wurde (Pfaffel MW, 2001). Die so genannte Delta–Delta Methode wurde entwickelt, um Ergebnisse der rtPCR von relativen Expressionsunterschieden darzustellen.

Die Methode beschreibt den relativen Unterschied der Expression eines Zielgens in der Verumgruppe verglichen mit der Kontrollgruppe, normalisiert auf ein Referenzgen ( $\text{Ratio} = 2^{-\Delta\Delta\text{CP}}$ ).

## 10. Ergebnisse

### 10.1 Einfluss eines 3T-MRTs auf die Proliferationsrate von humanen Chondrocyten

Chondrozyten der Gruppe B wurden, wie oben beschrieben, einem hochfrequenten, 3 Tesla starken Magnetfeld ausgesetzt. Verglichen mit der Kontrollgruppe (Gruppe A) zeigten sich 1 und 5 Tage nach Exposition folgende, jedoch nicht signifikante Unterschiede im WST-1 Proliferations-Assay: Am ersten Tag post expositionem finden sich in der Kontrollgruppe eine nicht signifikant höhere Proliferationsrate ( $0,33 \pm 0,02$  S.E.M.) als in Gruppe B ( $0,23 \pm 0,02$  S.E.M.). Dieses Bild ändert sich nach fünf Tagen, nun beträgt die Proliferationsrate der Kontrollgruppe  $0,43 \pm 0,01$  S.E.M. während Chondrozyten der Gruppe B eine nicht signifikant höhere Proliferationsrate von  $0,49 \pm 0,02$  S.E.M. aufweisen. Zehn Tage nach Exposition läßt sich dieser Trend zur gesteigerten Proliferationsrate der MRT-exponierten Chondrozyten an signifikant unterschiedlichen Proliferationsraten ablesen. Während die Proliferationsrate bei Chondrozyten der Gruppe A (Kontrollgruppe)  $0,54 \pm 0,04$  S.E.M. beträgt, findet sich bei Chondrozyten der Gruppe B eine statistisch hoch signifikant gesteigerte Proliferationsrate von  $0,84 \pm 0,07$  S.E.M. ( $p < 0,01$ ) (Abb.5)

### Proliferation von Chondrozyten der Gruppe A und Gruppe B

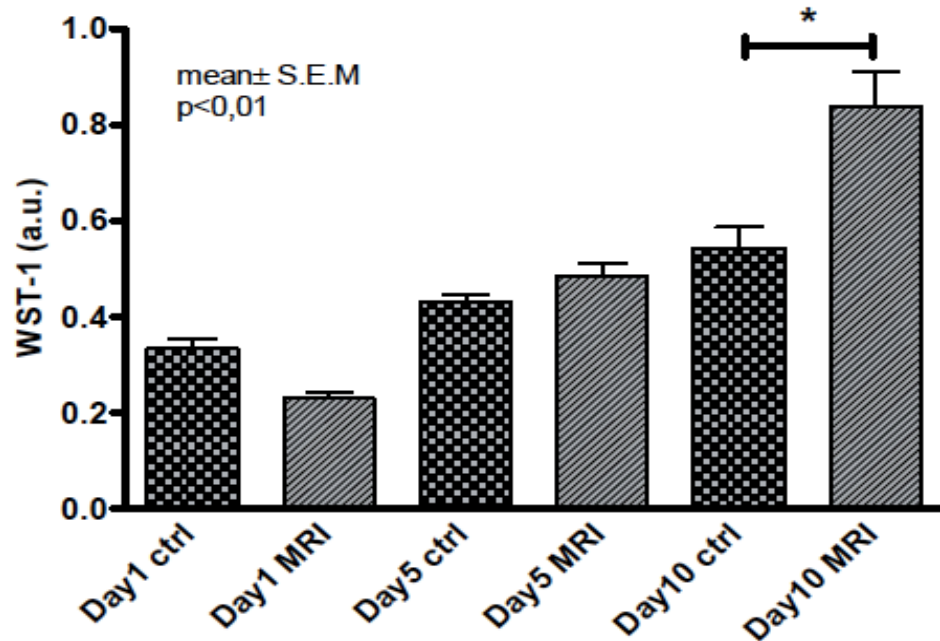


Abb. 5.: Humane Chondrozyten, die einem hochfrequenten, 3 T starken Magnetfeld ausgesetzt werden, weisen 10 Tage nach Exposition eine signifikant höhere Proliferationsrate auf als Chondrozyten ohne vergleichbare Exposition. ( $0,84 \pm 0,07$  S.E.M. gegenüber  $0,54 \pm 0,04$  S.E.M.). a.u.: arbitrary units

ctrl: Kontrollgruppe (Gruppe A)

MRI: exponierte Gruppe (Gruppe B)

Die hoch signifikant gesteigerte Proliferationsrate von Chondrozyten der Gruppe B verglichen mit jenen der Gruppe A nach 10 Tagen lässt sich sehr gut anhand des relativen Anstiegs der Proliferationsraten darstellen. Während der Anstieg der WST-1 ermittelten relativen Wachstumskurve bei Chondrozyten der Kontrollgruppe über 10 Tage lediglich  $0,07 \pm 0,002$  S.E.M. beträgt, findet sich bei Chondrozyten der Gruppe B ein Anstieg von  $0,3 \pm 0,007$  S.E.M. über 10 Tage. ( $p < 0,01$ ; Abb. 6).

### Relative Proliferationsdifferenz in Chondrozyten der Gruppe A und Gruppe B

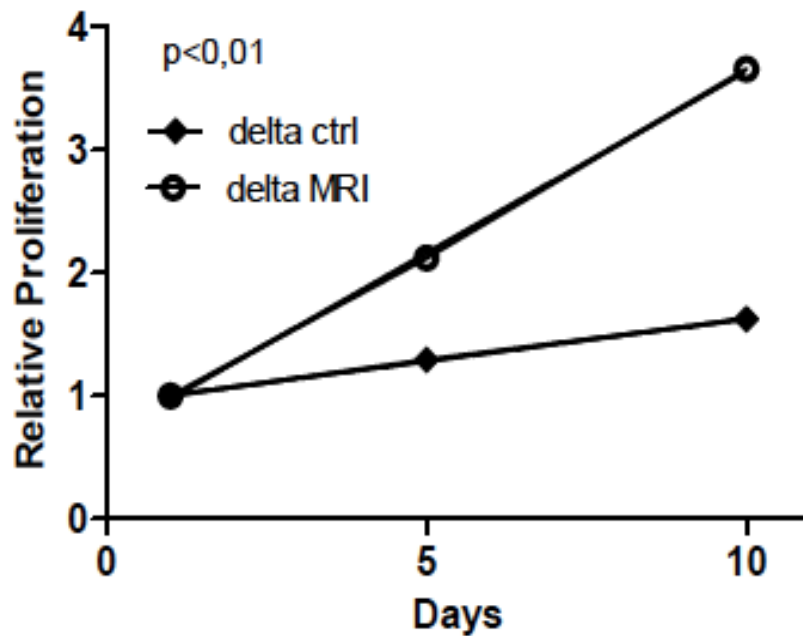


Abb. 6.: Die Darstellung der relativen Zunahme der Proliferationsrate von humanen Chondrozyten zeigt einen signifikant stärkeren Anstieg über 10 Tage, wenn die Zellpopulation zuvor einem 3T starken, hochfrequenten Magnetfeld ausgesetzt war ( $0,3 \pm 0,007$  S.E.M. gegenüber  $0,07 \pm 0,002$  S.E.M.)

delta ctrl: Proliferationsänderung der Kontrollgruppe (Gruppe A)

delta MRI: Proliferationsänderung der exponierten Gruppe (Gruppe B)



## 10.2 Einfluss eines 3T-MRTs auf die Expression von Aggrekan

Wie oben beschrieben, weisen humane Chondrozyten eine gesteigerte Proliferationsrate auf, wenn sie zuvor einem 3 Tesla-Hochfrequenzmagnetfeld ausgesetzt worden sind. Wurden mit Hilfe des WST-1 Proliferationsassays höhere Wachstumsraten festgestellt, mussten wir nun nachweisen, dass die Proliferation auch tatsächlich durch Chondrozyten generiert wurde, und nicht z.B. durch Fibroblasten. Zu diesem Zweck untersuchten wir die Aggrekanexpression in den Proben. Wie weiter oben bereits ausführlich beschrieben, ist Aggrekan ein wichtiger Bestandteil der extrazellulären Matrix von hyalinem Knorpel und eignet sich daher hervorragend zum Nachweis von reifen, hyalinen Knorpel formenden Chondrozyten.

Um Unterschiede in der Expression von Aggrekan aufzuzeigen, eignet sich die Delta-Delta-Methode hervorragend. Damit kann der Expressionsunterschied von Aggrekan zwischen Gruppe A und B unter Berücksichtigung der Viabilität der gesamten Population korrekt dargestellt werden. Wir ermittelten also den relativen Expressionsunterschied ( $\Delta CP$ ) von Aggrekan zwischen Chondrozyten der Kontrollgruppe (Gruppe A) und MF exponierten Chondrozyten der Gruppe B und normalisierten die Werte auf ein Referenzgen, in unserem Falle GAPDH ( $\Delta\Delta CP$  Wert). Vereinfacht gesagt würde ein Nullwert bedeuten, dass es keinen Expressionsunterschied eines Zielgens zwischen zwei Gruppen gibt. Ein positiver Wert bedeutet eine vermehrte Expression eines Zielgens in Gruppe B verglichen mit Gruppe A, ein negativer Wert stellt eine geringere Expression in Gruppe B verglichen mit Gruppe A dar.

Der  $\Delta\Delta CP$  Wert an Tag 1 liegt bei  $0,73 \pm 0,04$  S.E.M., das heißt, Chondrozyten der Gruppe B exprimieren signifikant mehr Aggrekan als Chondrozyten, welche keinem Magnetfeld ausgesetzt waren ( $p < 0,01$ ). An Tag 5 findet sich ein  $\Delta\Delta CP$  Wert von  $-0,99 \pm 0,13$ , was gleichbedeutend

mit einer vergleichsweise geringeren Expression von Aggrecan zu sein scheint ( $p < 0,05$ ). An Tag 10 findet sich ein  $\Delta\Delta\text{CP}$  Wert von  $0,87 \pm 0,06$  S.E.M., das entspricht einer erhöhten Aggrecan-Expression in Chondrozyten, die einem dem 3T-Magnetfeld ausgesetzt waren ( $p < 0,01$ ) (Abb. 7).

### Relativer Expressionsunterschied von Aggrecan in Chondrozyten der Gruppe A zu Gruppe B

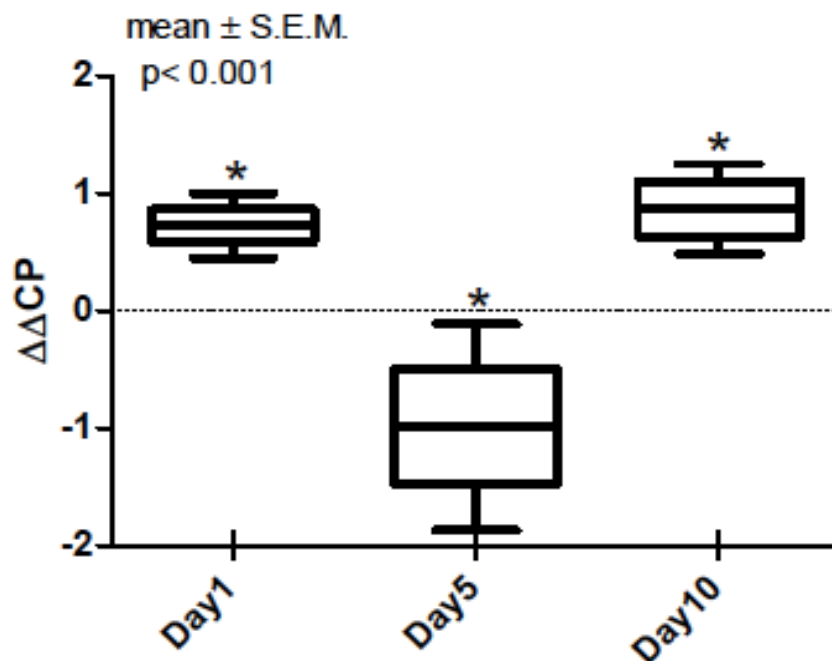


Abb. 7.: Darstellung der Expression von Aggrecan mit Hilfe der Delta-Delta-Methode. Ein Wert größer Null stellt eine relativ höhere Expression von Aggrecan in der dem 3T-Magnetfeld exponierten Gruppe dar, ein Wert unter Null eine relativ höhere Aggrecanexpression der Kontrollgruppe. Die Normierung der Werte erfolgte gegenüber GAPDH. Die Expression von Aggrecan bestätigt das konstante Vorhandensein von Chondrozyten in beiden Gruppen.

$\Delta\Delta\text{CP}$ : beschreibt den relativen Unterschied der Expression von Aggrecan der Gruppe B verglichen mit der Kontrollgruppe (A), normalisiert auf GAPDH

### 10.3 Einfluss eines 3T-MRTs auf die Expression von PARP

Zusätzlich untersuchten wir die Unterschiede in der Expression von humaner poly ADP-ribose polymerase (PARP) in den Chondrozytenkulturen.

#### Relativer Expressionsunterschied von PARP in Chondrozyten der Gruppe A zu Gruppe B

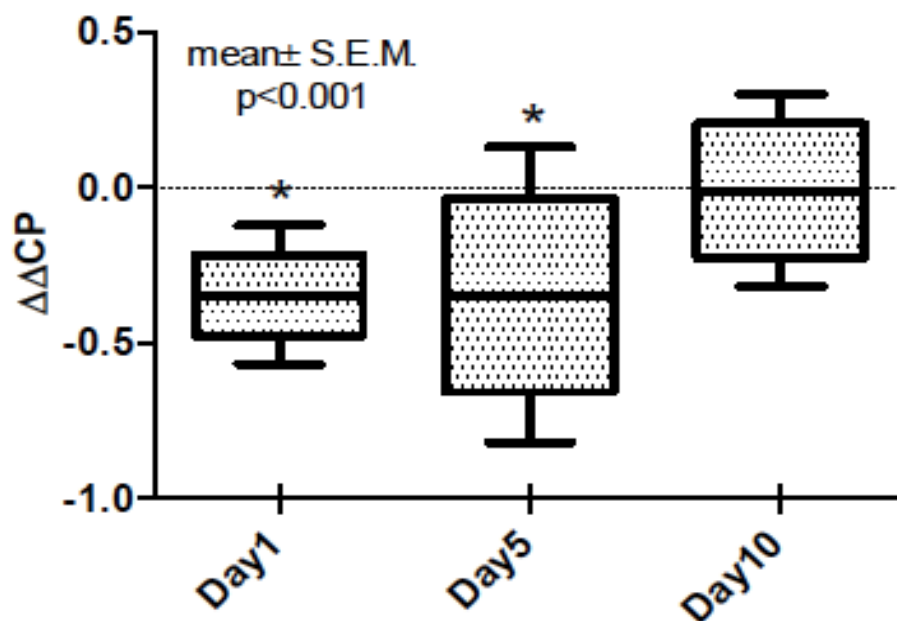


Abb. 8.: Darstellung der Expression des Apoptosemarkers PARP mit Hilfe der Delta-Delta-Methode. Ein Wert größer Null stellt eine relativ höhere Expression von PARP in der dem 3T-Magnetfeld exponierten Gruppe dar, ein Wert unter Null eine relativ höhere Expression von PARP in der Kontrollgruppe. Die Normierung der Werte erfolgte gegenüber GAPDH.

$\Delta\Delta CP$ : beschreibt den relativen Unterschied der Expression von PARP der Gruppe B verglichen mit der Kontrollgruppe (A), normalisiert auf GAPDH

Wie Abb. 8 zeigt, exprimieren Chondrozyten, die einem 3T-Magnetfeld ausgesetzt waren, sowohl nach 24h Ruhezeit an Tag 1 ( $-0,35 \pm 0,04$  S.E.M.) als auch an Tag 5 nach Exposition ( $-0,35 \pm 0,08$  S.E.M.) signifikant geringere Mengen des Apoptose-induzierenden PARP als nicht exponierte Chondrozyten ( $p < 0,001$ ). Erst an Tag 10 post expositionem findet sich zwischen Gruppe A und B kein signifikanter Unterschied in der Expression von PARP mehr ( $-0,01 \pm 0,06$  S.E.M.) (Abb. 8).

# 11. Diskussion

## 11.1 Mögliche Ursachen der Heterogenität vorhandener Studien

MRT-Untersuchungen haben in der Diagnostik von traumatischen oder degenerativen chondralen Defekten einen hohen Stellenwert. Obwohl die Unbedenklichkeit der Untersuchungsmethode in der Anwendung beim Menschen mehrfach untersucht wurde und als belegt gilt (Ahlbom et al., 2000; Nakahara et al. 2002; De Mattei et al., 2004), zeigen in vitro Studien an verschiedenen Zellen und Organismen eine Beeinflussung der Zellphysiologie durch Magnetfelder (Potenza et al., 2004; Chionna et al., 2005 ).

Problematisch bei der Beurteilung der Ergebnisse zu diesem Thema ist die Heterogenität der Studienergebnisse. Die Wirkung eines Magnetfeldes auf die Proliferationsrate einer Zellpopulation könnte im Wesentlichen von drei Faktoren abhängig zu sein:

**-Stärke und Art des Magnetfeldes:** grob vereinfacht lassen sich Studien, die sich mit der Auswirkung von Magnetfeldern auf Zellen beschäftigen, in zwei Untergruppen kategorisieren. So hat sich die Mehrzahl der bisher durchgeführten Studien mit den Auswirkungen von schwachen Magnetfeldern im Milli-Tesla-Bereich auseinandergesetzt (Tofani et al., 2001; Tenuzzo et al., 2006). Des Weiteren wurden überwiegend statische Felder eingesetzt. Die zweite, allerdings wesentlich kleinere Gruppe der Studien beschäftigt sich mit den Auswirkungen „starker“ Magnetfelder im Bereich von 0.5 bis 7 Tesla. Diese werden von MRTs erzeugt und sind in der Regel hochfrequent variierend. Das Forschungsfeld um die Auswirkungen starker Magnetfelder wurde insbesondere in den letzten Jahren zunehmend als interessant erachtet, als die Stärke der kommerziell erhältlichen MRT-Geräte immer weiter zunahm. Ein klarer

Zusammenhang zwischen Stärke des Magnetfeldes und Auswirkung auf das Proliferations- bzw. Apoptoseverhalten von Zellen läßt sich nicht erkennen. Auch die Art des verwendeten Magnetfelds (statisch vs. hochfrequent) läßt keine eindeutigen Rückschlüsse auf die Beeinflußung von Zellen zu (Hiraoka et al., 1992; Stolfa et al., 2007).

-**Zelltyp:** Eine weitere Ursache für die Heterogenität der Ergebnisse bisheriger Studien ist sicherlich, dass oben angeführte Studien verschiedenen Zelltypen verwenden. Man kann davon ausgehen, dass jede Zellgruppe unterschiedlich auf Magnetfelder reagiert. In diesem Zusammenhang sei nochmals auf die Studie von Tofani et al. hingewiesen, der bereits 2001 nachweisen konnten, dass vor allem kanzerogen veränderte Zelllinien mit Induktion von Apoptose reagieren, wenn sie Magnetfeldern ausgesetzt werden. Nicht außer Acht lassen sollte man auch die Tatsache, dass Chondrozyten höherer Passagen möglicherweise schwächer auf externe Reize wie zum Beispiel Magnetfelder reagieren könnten, als Chondrozyten niedriger Passagen.

-**Intervall der Proliferations- Evaluierung:** Hsieh et al. zeigten in ihrer Studie von 2008, dass die Proliferationsrate von Chondrozyten innerhalb der ersten 8 bis 24 Stunden abfällt, wenn die Zellen einem 3T-MRT ausgesetzt waren, danach jedoch bis 72 Stunden nach Exposition stabil bleibt. Ähnliches wurde bei bovinen Chondrozyten durch Sunk et al. im Jahre 2006 nachgewiesen. Hier zeigte sich eine verminderte Syntheseleistung der Chondrozyten am Tag 0 nach Exposition, ab Tag 3 bis Tag 6 war die Syntheseleistung jedoch nicht nur stabil, sie erholte sich sogar auf Werte, welche keine signifikanten Unterschiede zu der Kontrollgruppe mehr feststellen ließen. Genaugenommen müsste man also von einer verbesserten Syntheseleistung nach MRT-Exposition sprechen, da die initial bestehende Differenz nicht nur stabil im Verlauf gehalten wurde,

sondern sich wieder ausglich. Zusammengefasst scheint das Intervall der durchgeführten Nachuntersuchungen einen entscheidenden Einfluß darauf zu haben, ob die Auswirkungen von Magnetfeldern auf Chondrozyten als eher proliferationsfördernd oder eher –hemmend beschrieben werden.

## 11.2 Diskussion der Effekte von 3T-MRT auf die Proliferationsrate

In unserer Studie konnten wir nachweisen, dass hochfrequente Magnetfelder, wie sie im MRT verwendet werden, keine Hemmung der Proliferation von humanen Chondrozyten verursachen. Anders als in einigen bisher durchgeführten Studien (Sunk et al, 2006; Hsieh et al., 2008) fanden wir eine signifikante Steigerung der Proliferationsrate von humanen Chondrozyten nach 3T-MRT-Exposition nach einem Zeitraum von 10 Tagen. Dieses Ergebnis steht aber nur auf den ersten Blick im Widerspruch zu bisher durchgeführten Studien. Wie bereits oben beschrieben, zeigt die Arbeit von Hsieh et al (2008) eine Proliferationshemmung im Vergleich zur Kontrollgruppe nur in dem Zeitraum 8 bis 24 Stunden nach Exposition. Sunk et al. (2006) kommen zumindest am Anfang der Nachuntersuchungsperiode zu ganz ähnlichen Ergebnissen, auch hier zeigt sich eine Hemmung der Proliferation boviner Chondrozyten unmittelbar nach Exposition (Tag 0) im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Der Nachuntersuchungszeitraum ist bei der zuletzt genannten Studie doppelt so lange wie bei Hsieh et al. (2008) gewählt, nämlich 6 Tage. Bereits ab Tag 3 ist für Sunk et al. keine signifikante Proliferationshemmung mehr nachweisbar. Vergleicht man diese Ergebnisse mit den von uns gesammelten Daten, so finden sich ähnliche Ergebnisse. Am ersten Tag post expositionem findet sich auch in unserer Studie eine Reduktion der Proliferationsrate von Chondrozyten, die einem

Magnetfeld ausgesetzt waren. Dieser Unterschied ist deutlich sichtbar, jedoch nicht signifikant.

Die Proliferationsrate von humanen Chondrozyten 5 Tage nach Exposition weist keinen Unterschied zu jener der Kontrollgruppe auf. Vergleicht man dieses Ergebnis mit jenen der Studie von Sunk et al., so findet sich auch hier eine überraschend deutliche Korrelation: auch in dieser Arbeit waren 6 Tage nach Exposition keine signifikanten Unterschiede der Proliferation zwischen den einzelnen Gruppen der Chondrozyten mehr nachweisbar. In unserer Arbeit können wir erstmals zeigen, dass die Proliferationsrate humaner Chondrozyten 10 Tagen nach 3T-MRT Exposition signifikant ansteigt. Die Ergebnisse sind somit nicht widersprüchlich, sondern ein Ausdruck der unterschiedlichen Dauer und Intervalle der Nachuntersuchungen. Während es kurz nach der Exposition von humanen Chondrozyten zu einer kurzfristig messbaren Hemmung der Proliferation kommt, scheint dieses initiale Defizit eine gesteigerte Proliferationsrate nach sich zu ziehen. Bereits nach 5 Tagen ist kein Unterschied mehr zwischen exponierten Zellen und Kontrollgruppe feststellbar. Bereits zu diesem Zeitpunkt läßt sich eine gesteigerte Proliferationsrate nach MRT-Exposition feststellen: wäre die Proliferationsrate nach der initialen Proliferationshemmung nur auf das normale Niveau der Kontrollgruppe zurückgekehrt, müsste die negative Proliferationsdifferenz noch weiter sichtbar sein. Bereits nach 10 Tagen ist die Anzahl der humanen Chondrozyten der exponierten Gruppe weiter angestiegen, die Differenz zu der Proliferationsrate der Kontrollgruppe ist signifikant.

Wodurch es zu der anfänglichen beobachtbaren Proliferationshemmung kommt, die später in eine signifikant gesteigerte Proliferationsrate umschlägt, bleibt vorläufig unklar. Mögliche Hinweise auf eine Erhöhung der Proliferationsrate durch Aktivierung von intrazellulären Kalzium-Signalkaskaden finden sich in der Literatur (Korzh-Sleptsova et al., 1995; Hsieh et al., 2008). Welche Mechanismen zu einer Veränderung der



intrazellulären Kalziumfreisetzung führen, ist bis zu diesem Zeitpunkt nicht geklärt. Wie Khorzh-Sleptsova 1995 zeigte, führt die Exposition von T-Zellen gegenüber einem Magnetfeld zwar zu einer Kalziumfreisetzung über die IP<sub>3</sub>-Signalkaskade, diese wurde aber nicht wie sonst durch Phospholipase C aktiviert. Eine Aufklärung der tatsächlich aktivierten Signalkaskade muss daher der nächste Schritt sein, um die Wirkung von Hochfrequenz-Magnetfeldern auf Zellen besser zu verstehen.

### 11.3 Diskussion der Ergebnisse der Aggrekanexpression

Um das konstante Vorhandensein von Chondrozyten zu bestätigen, wurde die Expression von Aggrekan zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem oben beschriebenen Protokoll bestimmt. Zur Darstellung der Expressionsunterschiede verwendeten wir die Delta-Delta-Methode. Diese bietet die Möglichkeit, nicht nur alleine die Expressionsunterschiede zwischen verschiedenen Gruppen von Zellen darzustellen, die Werte werden gleichzeitig auch als relative Werte angegeben, da eine Normierung durch ein Referenzgen bereits in der Gleichung enthalten ist (Pfaffel MW, 2001). Diese Methode bietet einerseits die Chance einer übersichtlichen Darstellung komplexer Zusammenhänge. Andererseits bedeutet eine Relativierung der Daten auch, dass in die Darstellung eben nicht nur die Expression des Zielgens einfließt, sondern auch ein Unterschied der exprimierten Menge des Referenzgens die Darstellung beeinflusst. Dieser Aspekt ist bei der Bewertung der Abbildung 7 über die Expression von Aggrekan zu beachten. Generell beweist die Untersuchung das Vorhandensein von Aggrekan und damit das Vorliegen einer Chondrozytenpopulation. Auffällig ist sicherlich der, im Vergleich mit der Kontrollgruppe erniedrigte, Aggrekan-Expressionswert am 5. Tag nach Exposition. Dieser relative Abfall ist jedoch wahrscheinlich damit zu erklären, dass es gerade in diesem Zeitfenster um den fünften Tag zu

einer deutlichen Vermehrung der Chondrozytenpopulation kommt. Unreife oder neu gebildete Chondrozyten wären noch nicht in der Lage, eine adäquate Aggrekanexpression in gleichem Ausmass wie reife Chondrozyten zu vollbringen (Stokes et al., 2001; Yagi et al., 2005). Unabhängig davon allerdings kann man einen Anstieg der Expression des Referenzgens GAPDH erwarten. Die vermehrte Expression von GAPDH ist am ehesten durch eine Zunahme der Zellzahl zu erklären, die mikroskopisch bestätigt werden konnte. Durch die Normierung des Zielgens (Aggrekan) mit dem Referenzgen (GAPDH) ist eine Beeinflußung des rechnerisch ermittelten Expressionswertes des Zielgens durch einen einseitigen Anstieg des Referenzgens zu erwarten.

An Tag 10 nach Exposition findet sich ein Aggrekan-Expressionsverhältnis ähnlich jenem von Tag 1 zugunsten der Chondrozyten aus Gruppe B. Diese rasche „Normalisierung“ der Expression von Aggrekan spricht daher wahrscheinlich für den abgeschlossenen Reifungsprozess der Chondrozyten mit einer relativ normalisierten Expression von Aggrekan.

Der Nachweis der Aggrekan-mRNA-Expression an Tag 10 auf einem Level, das vergleichbar ist mit dem Expressionlevel von Tag 1 ist noch aus einem anderen Grund bemerkbar. Wie in mehreren Arbeiten gezeigt wurde, sinkt bei humanen Chondrozyten im Laufe der zunehmenden Dedifferenzierung die gesamte Expression von Chondrozyten-spezifischen Genen wie zum Beispiel Aggrekan oder auch Kollagen Typ 2 (Elima et al., 1989). Wie man in Abbildung 7 deutlich sehen kann, ist das Level der Aggrekanexpression an Tag 10 nicht niedriger als an Tag 1. Aufgrund dieser erneuten „Normalisierung“ der Aggrekanexpression an Tag 10 verglichen mit Tag 1 kann davon ausgegangen werden, dass es zu keiner Dedifferenzierung der Chondrozytenpopulation kam. Weitere Untersuchungen über längere Zeiträume sind notwendig, um den Einfluß von hochfrequenten Magnetfeldern auf die Dedifferenzierung von Chondrozyten genauer zu bestimmen.

Ein Unsicherheitsfaktor in der Untersuchung der Aggrekanexpression ist ohne Zweifel das Alter der Chondrozytenspender. Die Quantität der Aggrekansynthese ebenso wie ihre Qualität (gemessen an der Molekülgröße der zusammengesetzten Aggrekankomplexe) nimmt mit zunehmendem Alter der Spender beträchtlich ab. Verglichen mit der Syntheseleistung von Chondrozyten eines 20-jährigen Spenders sinkt die Syntheseleistung bei 45-jährigen auf 50 %, bei 69-jährigen sogar auf 25 % des ursprünglichen Levels (Verbruggen et al., 2000). Diese Faktoren können die gemessenen Level der Aggrekanexpression mit beeinflussen. Aufgrund der randomisierten Zuteilung der Chondrozytenpopulationen ist das Risiko einer signifikanten Beeinflussung allerdings gering.

#### 11.4 Diskussion der Ergebnisse der PARP-Expression

Die Aktivierung von Poly-ADP-Ribose-Polymerase (PARP) ist im physiologischen Zellstoffwechsel eine Reaktion auf die Exposition von Zellen gegenüber endogenen und exogenen mutagenen Substanzen (Herceg et al., 2001). Ein anderer, bekannter Mechanismus, der zum Schutz des Genoms vor übermäßiger Mutation dient, ist zum Beispiel p53. Die Aktivierung von PARP induziert verschiedene Kaskaden, die primär zu einer Reparatur von geschädigter DNA führen soll, aber auch Apoptose einleiten kann, wenn die Schädigung der Zell-DNA ein bestimmtes Ausmaß überschreitet. Wird die PAR-Polymerase durch DNA-Strang-Brüche aktiviert, führt das zu einer post-translationellen Modifizierung von Kernproteinen (Amé et al., 2004).

Der Hauptvertreter der PARP-Familie, PARP-1, wirkt in Zellen einerseits über eine Aktivierung von NF- $\kappa$ B und andererseits über eine Sensibilisierung der Zellen gegenüber Sauerstoffradikalen, was zu Inflammation und Apoptose führt (Hassa et al., 1999). Die Apoptose wird

dabei durch die Freisetzung eines mitochondrialen, proapoptotischen Proteins induziert, dem Apoptose-induzierendem Faktor (AIF) (Yu et al., 2002). Nach Aktivierung wandert AIF in den Zellkern und führt dort zu Chromatinkondensation und DNA-Fragmentierung. Dieser Vorgang wird als Chromatinolyse bezeichnet und unterscheidet sich von davor bekannten Apoptose-induzierenden Kaskaden durch die Unabhängigkeit von Caspase-Aktivierung (Penninger et al., 2003).

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der Expression des Apoptosemarkers sollten die Daten der Proliferation in die Überlegung mit eingeschlossen werden. Betrachtet man Abbildung 8, so findet sich eine signifikant geringere Expression des Apoptosemarkers PARP an Tag 1 und Tag 5 nach MRT-Exposition in Chondrozyten der Gruppe B. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit den gesteigerten Proliferationswerten der entsprechenden Tage.

Die Exposition einer Population von humanen Chondrozyten gegenüber einem hochfrequentem 3T-Magnetfeld führt zu einer Steigerung der Proliferationsrate. Parallel dazu scheint die Induktion von Apoptose an Tag 1 und 5 nach Exposition verringert zu werden. Wie vergleichbare Arbeiten anderer Gruppen belegen, scheint die Schädigung einer Chondrozytenpopulation durch ein Hochfrequenzmagnetfeld unmittelbar nach Exposition bis etwa 24 Stunden nach Exposition am Größten zu sein (Hsieh et al., 2008; Sunk et al., 2006). Betrachtet man die weiteren Effekte jedoch über einen Zeitraum von einigen Tagen, zeigt sich ein gänzlich anderes Bild: unsere Daten zeigen eine Induktion der Proliferation rund um den 5. Tag nach Exposition. Dementsprechend findet sich 10 Tage nach Exposition eine Annäherung der PARP-Expressionswerte der exponierten Zellen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Diese Daten entsprechen den Ergebnissen anderer Untersuchungen, die keine erhöhte, PARP-induzierte, Apoptoserate nach Exposition von Neuroblastomzellen gegenüber 900 MHz elektromagnetischen Feldern finden konnten (Merola et al., 2006).

Wurden Neuroblastom-Zellen einem 1 mT Magnetfeld (50 Hz) ausgesetzt, konnte nicht nur ein protektiver Effekt gegenüber Apoptoseinduktion beobachtet werden, nach sieben Tagen kontinuierlicher Magnetfeld-Exposition fand sich auch ein Anstieg des Proliferationsindex (Pirozzoli et al., 2003). Diese Daten werden durch unsere Untersuchungen bestätigt.

## 12. Zusammenfassung

Die Magnetresonanztomografie als diagnostisches Mittel zur Evaluierung von Knorpeldefekten nach traumatischen Ereignissen oder im Rahmen von Osteoarthritis hat in den vergangenen Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Während die Effekte von schwachen Magnetfeldern auf Zellen gut untersucht wurden, gibt es trotz der enormen Bedeutung des MRTs im klinischen Alltag nur eine Handvoll Studien, die sich mit den Auswirkungen von Hochfrequenz-Magnetfeldern auf humane Zellen, insbesondere Chondrozyten, beschäftigen. Die Ergebnisse dieser Studien waren heterogen. Das Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der Auswirkungen eines 3T-MRTs auf Proliferation und Gen-Expression von humanen Chondrozyten in vitro. Dafür wurden humane Chondrozyten einem hochfrequenten 3T-Magnetfeld ausgesetzt, wie es auch im Rahmen von Knie-Untersuchungen verwendet wird. An den Tagen 1, 5 und 10 nach Exposition untersuchten wir die Auswirkungen auf Proliferation sowie die Expression von Chondrozyten-spezifischer RNA und proapoptotischen Proteinen. Exponierte Zellen zeigten 10 Tage nach Exposition eine signifikant gesteigerte Proliferationsrate verglichen mit Chondrozyten der Kontrollgruppe. Eine initiale Proliferationshemmung der exponierten Chondrozyten konnte an Tag 1 beobachtet werden. Chondrozyten-spezifische RNA war während des gesamten Zeitraums in Zellpopulationen nachweisbar. Die Expression von proapoptotischem PARP war an Tag 1 und 5 nach Exposition verringert.

In dieser Arbeit zeigen wir zum ersten Mal, dass humanen Chondrozyten nach 10 Tagen eine signifikante Steigerung der Proliferation aufweisen, wenn sie zuvor einem hochfrequenten 3T-Magnetfeld ausgesetzt waren. Unsere Ergebnisse unterstützen die Ergebnisse früherer Untersuchungen, die eine initiale Hemmung der Zellproliferation nach Exposition gegenüber einem hochfrequenten Magnetfeld vermuten lassen.

## 13. Ausblick

Die technische Entwicklung macht den Einsatz immer stärkerer hochfrequenter Magnetfelder in der Diagnostik möglich. MRTs mit einer Feldstärke von 7 Tesla werden demnächst als diagnostischer Standard gelten. Ein Ende dieser Entwicklung ist derzeit noch nicht absehbar, Geräte mit einer Feldstärke von bis zu 11 Tesla sind bereits vereinzelt in Verwendung. Eine Begrenzung der Feldstärke ist theoretisch nur durch eine Zunahme der Nebenwirkungen bei Patienten zu erwarten. Die Auswirkungen dieser extrem leistungsstarken MRTs auf den menschlichen Organismus sind bis jetzt nicht ausreichend untersucht. Entsprechende Studien werden in den nächsten Jahren mit Sicherheit erforderlich sein.

In unserer Studie konnten wir erstmals eine Zunahme der Proliferation humaner Chondrozyten nach MRT-Exposition nachweisen. Die zellphysiologischen Grundlagen dieser Reaktion sind bisher nicht bekannt. Vorhergehende Arbeiten legen eine mögliche Veränderung der intrazellulären Kalziumfreisetzung nahe. Weiterführende Studien zur Überprüfung dieser Hypothese müssen folgen, um möglich Folgen von hochfrequenten Magnetfeldern im Teslabereich abschätzen zu können .

# Referenzen

Abatangelo, G., and Weigel, P. H. (2000) Redefining Hyaluronan, Elsevier, Amsterdam

Ahlbäck S: Osteoarthritis of the knee. A radiographic investigation. *Acta Radiol Diagn* 1968, 277 Suppl, 7-15, 45-72

Ahlbom A, Day N, Feychting M, Roman E, Skinner J, Dockerty J, et al. A pooled analysis of magnetic fields and childhood leukaemia. *Br J Cancer* 2000;83:692e8

Altman R, Alarcon G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, Brown C, Cooke TD, Daniel W, Feldman D. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 1991, 34: 505-514

Amé JC, Spenlehauer C, Murcia G de. The PARP superfamily. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*. 2004;26(8):882-93

American Psychiatric Association: *Psychiatric News* 2003; 38/14:19

Bannuru RR, Natov NS, Dasi UR, Schmid CH, McAlindon TE. Therapeutic trajectory following intra-articular hyaluronic acid injection in knee osteoarthritis- meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage* 2010; 19, 6: 611-619

Barregard L, Jarvholm B, Ungethum E. Cancer among workers exposed to strong static magnetic fields. *Lancet* 1985;2:892

Blackburn WD Jr, Bernreuter WK, Rominger M, Loose LL. Arthroscopic evaluation of knee articular cartilage: a comparison with plain radiographs and magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 1994, 21: 675-679

Blanco FJ, Ochs RL, Schwarz H, Lotz M: Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. *Am J Pathol* 1995, 146:75-85.

Blanco FJ, Guitian R, Vazquez-Martul E, de Toro FJ, Galdo F: Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. A possible pathway for osteoarthritis pathology. *Arthritis Rheum* 1998, 41:284-289

Bode W, Gomis-Ruth FX, Stockler W: Astacins, serralysins, snake venom and matrix metalloproteinases exhibit identical zinc-binding environments (HEXXHXXGXXH and Met-turn) and topologies and should be grouped into a common family, the 'metzincins'. *FEBS Lett* 1993, 331:134-140

Böcker, Denk, Heitz: *Pathologie*, 2. Auflage. 2001. ISBN: 3-437-42380-0

Bourguignon LY, Lokeshwar VB, Chen X, Kerrick WG. Hyaluronic acid-induced lymphocyte signal transduction and HA receptor (GP85/CD44)-cytoskeleton interaction. *The Journal of Immunology* 1993; Vol 151, Issue 12 6634-6644

Cannon CP, Curtis SP, FitzGerald G, Krum H, Kaur A, Bolognese J, Reicin AS. Cardiovascular outcomes with etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison. *Lancet* 2006; 368 (9549): 1771-81

Cao LY, Jiang MJ, Yang SP, Zhao L, Wang JM. Pulsed electromagnetic field therapy for the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review. *Zhongguo Gu Shang*. 2012; 25(5): 384-8.



- Carafoli E. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003; 4: 326–332
- Carr HY. Field gradients in early MRI. *Physics Today* 2004; Volume 57, Issue 7, pp. 83–83
- Ciombor, DMck, Lester G, Aaron RK, Neame P, Caterson B. Low Frequency EMF Regulates Chondrocyte Differentiation and Expression of Matrix Proteins. *Journal of Orthopaedic Research* 2002; 20 (1) (January): 40–50.
- Chionna A, Tenuzzo B, Panzarini E, Dwikat MB, Abbro L, Dini L. Time dependent modifications of Hep G2 cells during exposure to static magnetic fields. *Bioelectromagnetics*. 2005 May;26(4):275–86
- Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein MA. Glucosamine, Chondroitin Sulfate, and the Two in Combination for Painful Knee Osteoarthritis. *NEJM* 2006; 354 (8): 795–808
- Croft DR, Dall P, Davies D, Jackson DG, McIntyre P, Kramer IM. Complex CD44 splicing combinations in synovial fibroblasts from arthritic joints. *Eur J Immunol* 1997, 27:1680–1684
- Damadian RV. Tumor Detection by Nuclear Magnetic Resonance. *Science* 1971; 171: 1151–1153
- Del CM Jr, Loeser RF: Nitric oxide-mediated chondrocyte cell death requires the generation of additional reactive oxygen species. *Arthritis Rheum* 2002, 46:394–403
- De Mattei M, Pellati A, Pasello M, Ongaro A, Setti S, Massari L. Effects of physical stimulation with electromagnetic field and insulin growth factor-I treatment on proteoglycan synthesis of bovine articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2004, 12:793e800
- De Mattei, M, a Caruso, F Pezzetti, a Pellati, G Stabellini, V Sollazzo, and G C Traina. Effects of pulsed electromagnetic fields on human articular chondrocyte proliferation. *Connective tissue research* 2001, 42 (4) (January): 269–79
- Elima K, Vuorio E. Expression of mRNAs for collagens and other matrix components in dedifferentiating and redifferentiating human chondrocytes in culture. *FEBS letters*. 1989;258(2):195–8.
- Ellison J, Dager W. Recent FDA warning of the concomitant use of aspirin and ibuprofen and the effects on platelet aggregation. *Prev Cardiol* 2007;10:61–3
- Engelhardt, M. Epidemiologie der Arthrose in Westeuropa. *Deutsche Zeitschrift Für Sportmedizin* 2003, 54 (6): 171–175
- Evans JA, Savitz DA, Kanal E, Gillen J. Infertility and pregnancy out- come among magnetic resonance imaging workers. *J Occup Med* 1993, 35:1191e
- Felson DT: Osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1990, 16: 499–512
- Felson DT, Ahange Y, Anthony JM, Nairmark A, Anderson JJ. Weight loss reduces the risk for symptomatic knee osteoarthritis in women. *Ann Intern Med* 1992, 116: 535–539
- Fietzek PP, Kühn K. The primary structure of collagen. *Int Rev Connect Tissue Res*. 1976;7:1–60
- Frahm J, Haase A, Matthaei D. Rapid NMR imaging of dynamic processes using the FLASH technique. In: *Magnetic Resonance in Medicine*. 1986; 3, 321–327

- Fujimoto, T, H Kawashima, T Tanaka, M Hirose, N Toyama-Sorimachi, Y Matsuzawa, and M Miyasaka. CD44 binds a chondroitin sulfate proteoglycan, Aggrecan. *International immunology* 2001; 13 (3) (March): 359-66.
- Fujii K, Tanaka Y, Hubscher S, Saito K, Ota T, Eto S. Cross-linking of CD44 on rheumatoid synovial cells up-regulates VCAM-1. *J. Immunol.* 1999; 162:2391
- Gatha M, Noftall F, Martin RD, Rockwood P, Rahman P. The Role of Genetic Variants in Predicting Response to Steroid Injections for Knee Osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Br* 2011; 93-B no. SUPP IV 559
- Gelber AC, Hochberg MC, Mead LA, Wang NY, Wigley FM, Klag MJ. Joint injury in young adults and risk for subsequent knee and hip osteoarthritis. *Ann Intern Med* 2000; 133: 321-328
- Glasson SS, Askew R, Sheppard B, Carito BA, Blanchet T, Ma HL, Flannery CR, Kanki K, Wang E, Peluso D. Characterization of and osteoarthritis susceptibility in ADAMTS-4-knockout mice. *Arthritis Rheum* 2004, 50:2547-2558
- Glasson SS, Askew R, Sheppard B, Carito B, Blanchet T, Ma HL, Flannery CR, Peluso D, Kanki K, Yang Z. Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis. *Nature* 2005, 434:644-648
- Goldberg RL, Huff JP, Lenz ME, Glickman P, Katz R, Thonar EJMA. Elevated plasma levels of hyaluronate in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991, 34:799-807
- Günther KP, Puhl W, Brenner H, Stürmer T: Klinische Epidemiologie von Hüft- und Kniegelenkarthrosen: Eine Übersicht über Ergebnisse der "Ulm Osteoarthrose-Studie". *Z Rheumatol* 2002, 61: 244-249
- Haque T, Nakada S, Hamdy RC: A review of FGF18: Its expression, signaling pathways and possible functions during embryogenesis and post-natal development. *Histology and Histopathology* 2007; Vol 22, 1, p. 97-105
- Hart DJ, Spector TD. Definition and Epidemiology of Osteoarthritis of the Hand: a Review. *Osteoarthritis and Cartilage* 2000; 8: 2-7.
- Hashimoto S, Ochs RL, Komiya S, Lotz M: Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998, 41:1632-1638
- Hassa PO, Hottiger MO. A role of poly (ADP-ribose) polymerase in NF-kappaB transcriptional activation. *Biol Chem* 1999; 380:953-959
- Haynes BF, Hale LP, Patton KL, Martin ME, McCallum RM. Measurement of an adhesion molecule as an indicator of inflammatory disease activity. Up-regulation of the receptor for hyaluronate (CD44) in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1991; 34:1434.
- Herceg Z, Wang ZQ. Functions of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) in DNA repair, genomic integrity and cell death. *Mutation Research* 2001; 477(1-2):97-110
- Hernandez-Diaz S, Garcia Rodriguez LA. Epidemiological assessment of the safety of conventional nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J of Med* 2001; 110: 20S-27S
- Hiraoka M, Miyakoshi J, Li YP, Shung B, Takebe H, Abe M. Induction of c-fos gene expression by exposure to a static magnetic field in HeLaS3 cells. *Cancer Res* 1992;52:6522e4

- Hirsch R, Guralnik JM, Ling SM, Fried LP, Hochberg MC. The patterns and prevalence of hand osteoarthritis in a population of disabled older women: The Women's Health and Aging Study. *Osteoarthritis Cartilage* 2000, 8 Suppl A :16-21
- Hochberg, MC, Altman RD, April KT, Benkhalti M, Guyatt G, McGowan J, Towheed T, Welch V, Wells G, Tugwell P. American College of Rheumatology 2012 recommendations for the use of nonpharmacologic and pharmacologic therapies in osteoarthritis of the hand, hip, and knee." *Arthritis Care & Research* 2012; 64 (4): 465-474
- Hsieh, C-H, M-C Lee, J-J Tsai-Wu, M-H Chen, H-S Lee, H Chiang, C H Herbert Wu, and C-C Jiang. "Deleterious effects of MRI on chondrocytes." *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society* 2008;16 (3) (March): 343-51.
- Huang TF. What have snakes taught us about integrins? *Cell Mol Life Sci* 1998, 54:527-540
- Hunter, David J, Tuhina Neogi, and Marc C Hochberg. Quality of osteoarthritis management and the need for reform in the US. *Arthritis care & research* 2011; 63 (1) : 31-8
- Ialenti A., Di Rosa M. Hyaluronic acid modulates acute and chronic inflammation. *Inflammation Research* 1994: 43, 1-2; 44-47
- Jacobsson L, Lindgarde F, Manthorpe R. The commonest rheumatic complaints over six weeks' duration in a twelve-month period in a defined Swedish population. Prevalences and relationships. *Scand J Rheum* 1989, 18: 353-360
- Johnson BA, Haines GK, Harlow LA, Koch AE: Adhesion molecule expression in human synovial tissue. *Arthritis Rheum* 1993, 36:137-146
- Jones GC, Graham PR. ADAMTS proteinases: a multi-domain, multi-functional family with roles in extracellular matrix turnover and arthritis. *Arthritis research & therapy* 2005; 7 (4) (January): 160-9
- Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JW, Dieppe P. EULAR recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis. Report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis* 2003; 62:1145-55
- Kannus P, Järvinen M, Kontiala H, Bergius L, Hyssy E, Salminen E, Tuomi A, Unkila T, Valtanen I: Occurrence of symptomatic knee osteoarthritis in rural Finland: a prospective follow up study. *Ann Rheum Dis* 1987, 46: 804-808
- Kashiwagi M, Tortorella M, Nagase H, Brew K. TIMP-3 is a potent inhibitor of Aggrecanase 1 (ADAM-TS4) and aggrecanase 2 (ADAM-TS5). *J Biol Chem* 2001, 276:12501-12504
- Kashiwagi M, Enghild JJ, Gendron C, Hughes C, Caterson B, Itoh Y, Nagase H. Altered proteolytic activities of ADAMTS-4 expressed by C-terminal processing. *J Biol Chem* 2004, 279: 10109-10119
- Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957, 16: 494-501
- Kirkley A, Birmingham TB, Litchfield RB, Giffin JR, Willits KR, Wong CJ. A randomized trial of arthroscopic surgery for osteoarthritis of the knee. *N Engl J Med* 2008; 359: 1097-107
- Knoll KP , Hauner H: Kosten der Adipositas in der Bundesrepublik Deutschland – Eine aktuelle Krankheitskostenstudie. *Adipositas – Ursachen, Folgeerkrankungen.* 2/4: 204-210 (2008)

- Korzh-Sleptsova IL, Lindstrom E, Mild KH, Berglund A, Lundgren E. Low frequency MFs increased inositol 1,4,5-trisphosphate levels in the Jurkat cell line. *FEBS Lett* 1995;359:151e4
- Koshy PJ, Lundy CJ, Rowan AD, Porter S, Edwards DR, Hogan A, Clark IM, Cawston TE. The modulation of matrix metalloproteinase and ADAM gene expression in human chondrocytes by interleukin-1 and oncostatin M: a time-course study using real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Arthritis Rheum* 2002, 46:961-967
- Kuno K, Kanada N, Nakashima E, Fujiki F, Ichimura F, Matsushima K. Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *J Biol Chem* 1997, 272:556-562
- Kuno K, Matsushima K. ADAMTS-1 protein anchors at the extracellular matrix through the thrombospondin type I motifs and its spacing region. *J Biol Chem* 1998, 273:13912-13917.
- Laine L, White WB, Rostom A, Hochberg M. COX-2 selective inhibitors in the treatment of osteoarthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism* 2008; 38 (3): 165-87
- Lauterbur PC. Image Formation By Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature* 1973; Vol 242
- Lawrence RC, Helmick CG, Arnett FC, Deyo RA, Felson DT, Giannini EH. Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. *Arthritis and Rheumatism* 1998; 41(5):778-99
- Liu CJ, Kong W, Xu K, Luan Y, Ilalov K, Sehgal B, Howell RD, Di Cesare PD. ADAMTS-12 Associates with and Degrades Cartilage Oligomeric Matrix Protein. *J Biol Chem* 2006; 281 (23): 15800-15808.
- Lohmander LS, Neame PJ, Sandy JD. The structure of Aggrecan fragments in human synovial fluid. Evidence that Aggrecanase mediates cartilage degradation in inflammatory joint disease, joint injury, and osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1993, 36:1214-1222
- March LM, Bachmeier CMJ. Economics of osteoarthritis: a global perspective. *Baillieres Clin Rheumatol* 1997, 11: 817-834
- Mayer-Wagner S, Paßberger A, Sievers B, Aigner J, Summer B, Schiergens TS, Jansson V, and Müller PE. Effects of Low Frequency Emf on Chondrogenic Differentiation of hMSC. *Bioelectromagnetics* 2010.
- McKee CM, Penno MB, Cowman M, Burdick MD, Strieter RM, Bao C, Noble PW: Hyaluronan (HA) fragments induce chemokine gene expression in alveolar macrophages. *J Clin Invest* 1996, 98:2403-2413
- McKee CM, Lowenstein CJ, Horton MR, Wu J, Bao C, Chin BY, Choi AMK, Noble PW: Hyaluronan fragments induce nitric oxide synthase in murine macrophages through a nuclear factor  $\kappa$ B-dependent mechanism. *J Biol Chem* 1997, 272: 8013-8018
- Merola P, Marino C, Lovisolo GA, et al. Proliferation and apoptosis in a neuroblastoma cell line exposed to 900 MHz modulated radiofrequency field. *Bioelectromagnetics*. 2006;27 (3):164-171
- Messier SP, Loeser RF, Miller GD, Morgan TM, Rejeski WJ, Sevick MA. Exercise and dietary weight loss in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis: the Arthritis, Diet, and Activity Promotion Trial. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1501-10

Moller, H. J. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1998; 58, 269–277

Morquette B, Shi Q, Lavigne P, Ranger P, Fernandes JC, Bender-  
dour M: Production of lipid peroxidation products in osteoar-  
thritic tissues: new evidence linking 4-  
hydroxynonenal to cartilage degradation. *Arthritis Rheum* 2006, 54:271–281

MUW Hochfeld Resonanz: <http://www.meduniwien.ac.at/hochfeld-mr/>

Nakahara T, Yaguchi H, Yoshida M, Miyakoshi J. Effects of exposure of CHO-K1 cells to a 10-T static magnetic field. *Radiology* 2002;224: 817e22.

Nishida Y., Knudson W., Knudson C. B., and Ishiguro N. *Exp. Cell Res.* 2005, 307, 194–203

Noble PW, McKee CM, Cowman M, Shin HS: Hyaluronan fragments activate an NF- $\kappa$ B/I- $\kappa$ B $\alpha$  autoregulatory loop in murine macrophages. *J Exp Med* 1996, 183:2373–2378

Paimela L, Heiskanen A, Kurki P, Helve T, Leirisalo-Repo M. Serum hyaluronate level as a predictor of radiologic progressions in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1991, 34: 815–821

Patwari P, Gao G, Lee JH, Grodzinsky AJ, Sandy JD. Analysis of ADAMTS4 and MT4-MMP indicates that both are involved in Aggrekanolysis in interleukin-1-treated bovine cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2005, 13:269–277

Penninger JM, Kroemer G. Mitochondria, AIF and caspases- rivaling for cell death execution. *Nat Cell Biol* 2003; 5:97–99.

Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic acids research* 2001; 29 (9): e45.

Phillips JL, Haggren W, Thomas WJ, Ishida-Jones T, Adey WR. Magnetic field-induced changes in specific gene transcription. *Biochim Biophys Acta* 1992;1132

Pirozzoli MC, Marino C, Lovisolo GA, et al. Effects of 50 Hz electromagnetic field exposure on apoptosis and differentiation in a neuroblastoma cell line. *Bioelectromagnetics.* 2003;24(7):510–516.

Pitsillides AA, Worrall JG, Wilkinson LS, Bayliss MT, Edwards JCW. Hyaluronan concentrations in non-inflamed and rheumatoid synovium. *Br J Rheum* 1994, 33:5–10.

Potenza L, Ubaldi L, De Sanctis R, De Bellis R, Cucchiari L, Dachà M. Effects of a static magnetic field on cell growth and gene expression in *Escherichia coli*. *Mutat Res.* 2004 Jul 11;561(1-2):53–62.

Pratta MA, Yao W, Decicco C, Tortorella MD, Liu RQ, Copeland RA, Magolda R, Newton RC, Trzaskos JM, Arner EC: Aggrekan protects cartilage collagen from proteolytic cleavage. *J Biol Chem* 2003, 278:45539–45545.

Reiser M, Semmler W. *Magnetresonanztomografie.* Springer Verlag 2002; ISBN 3540666680

Richmond J, Hunter D, Irrgang J, Jones MH, Levy B, Marx R. Treatment of osteoarthritis of the knee (nonarthroplasty). *J Am Acad Orthop Surg* 2009; 17:591–600

Rostom A, Muir K, Dube C, Lanan A, Jolicoeur E, Tugwell P. Prevention of NSAID-related upper gastrointestinal toxicity: a meta-analysis of traditional NSAIDs with gastroprotection and COX-2 inhibitors. *Drug Healthc Patient Saf* 2009;1:47–71

- van Saase JL, van Romunde LK, Cats A, Vandenbroucke JP, Valkenburg HA: Epidemiology of osteoarthritis: Zoetermeer survey. Comparison of radiological osteoarthritis in a Dutch population with that in 10 other populations. *Ann Rheum Dis* 1989, 48 : 271–280
- Sandy JD, Neame PJ, Boynton RE, Flannery CR: Catabolism of Aggrecan in cartilage explants. Identification of a major cleavage site within the interglobular domain. *J Biol Chem* 1991, 266:8683–8685
- Sandy JD, Verscharen C. Analysis of Aggrecan in human knee cartilage and synovial fluid indicates that Aggrecanase (ADAMTS) activity is responsible for the catabolic turnover and loss of whole Aggrecan whereas other protease activity is required for C-terminal processing in vivo. *Biochem J* 2001, 358:615–626
- Sandell LJ, Aigner T: Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res* 2001, 3:107–113.
- Schulz, T.; Schumacher, U.; Prehm, P.: Hyaluronan export by the ABC transporter MRP5 and its modulation by intracellular cGMP. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 20999–21004
- Schulze J: 31. Interdisziplinäres Forum der Bundesärztekammer. Berlin (2008)
- Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks: Possible Effects of Electromagnetic Fields (EMF) on Human Health. 2007
- Sommer F, Huber M, Rollinghoff M, Lohoff M. CD44 plays a co-stimulatory role in murine T cell activation: ligation of CD44 selectively co-stimulates IL-2 production, but not proliferation in TCR-stimulated murine Th1 cells. *Int. Immunol.* 1995; 7:1779
- Stanton H, Rogerson FM, East CJ, Golub SB, Lawlor KE, Meeker CT, Little CB, Last K, Farmer PJ, Campbell IK. ADAMTS5 is the major Aggrecanase in mouse cartilage in vivo and in vitro. *Nature* 2005, 434:648–652
- Spector TD, Hart DJ, Leedham-Green M. The prevalence of knee and hand osteoarthritis (OA) in the general population using different clinical criteria: The Chingford study. *Arth Rheum* 1991, 34: S171
- Statistische Ämter des Bundes und des Landes, Mikrozensus Befragung 2009, Pressemitteilung Nr. 194 vom 2.6.2010
- Statistische Ämter des Bundes und des Landes, Heft 2, Ausgabe 2010. Demografischer Wandel in Deutschland – Auswirkungen auf Krankenhausbehandlungen und Pflegebedürftige im Bund und in den Ländern.
- Stokes DG, Liu G, Dharmavaram R, et al. Regulation of type-II collagen gene expression during human chondrocyte de-differentiation and recovery of chondrocyte-specific phenotype in culture involves Sry-type high-mobility-group box ( SOX ) transcription factors. *Biochem J.* 2001;360:461–470.
- Stolf S. et al. Effects of Static Magnetic Field and Pulsed Electromagnetic Field on Viability of Human Chondrocytes in vitro. *Physiol. Res.* 2007; 56 (Suppl. 1): S45–S49
- Sunk, Ilse-Gerlinde, Siegfried Trattng, Winfried B Graninger, Love Amoyo, Birgit Tuerk, Walter Steiner, Josef S Smolen, and Klaus Bobacz. "Impairment of chondrocyte biosynthetic activity by exposure to 3-tesla high-field magnetic resonance imaging is temporary" 2006; 8 (4): 1–11. doi:10.1186/ar1991.
- Surridge AK, Rodgers UR, Swingler TE, Davidson RK, Norton R, Waters JG, Goldring MB, Andrew E. Characterization and regulation of ADAMTS-16. *Matrix Biology* 2009; 28 (7): 416–424

- Sylvester J, Liacini A, Li WQ, Zafarullah M. Interleukin-17 signal transduction pathways implicated in inducing matrix metallo- proteinase-3, -13 and Aggrecanase-1 genes in articular chon- drocytes. *Cell Signal* 2004, 16:469-476
- Taskiran D, Stefanovic-Racic M, Georgescu H, Evans C: Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthe- sis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1994, 200:142-148
- Tenuzzo B, Chionna A, Panzarini E, Lanubile R, Tarantino P, Di Jeso B, Dwikat M, Dini L. Biological effects of 6 mT static magnetic fields: a comparative study in different cell types. *Bioelectromagnetics*. 2006 Oct;27(7):560-77.
- Tofani S, Barone D, Cintorino M, de Santi MM, Ferrara A, Orlassino R, Ossola P, Peroglio F, Rolfo K, Ronchetto F. Static and ELF magnetic fields induce tumor growth inhibition and apoptosis. *Bioelectromagnetics*. 2001; 22(6):419-28.
- Turley, E. A., Noble, P. W., and Bourguignon, L. Y. W. *J. Biol. Chem.* 2002; 277, 4589-4592
- Vaillancourt F, Fahmi H, Shi Q, Lavigne P, Ranger P, Fernandes JC. Research article 4-Hydroxynonenal induces apoptosis in human osteoarthritic chondrocytes: the protective role of glutathione-S-transferase. *Arthritis Research and Therapy* 2008; 10 (5): 1-11
- Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 2002 Jun 18;3(7)
- Varras L, Ohlsson LB, Honeth G, Olsson A, Bengtsson T, Wiberg C, Bockermann R, Järnum S, Richter J, Pennington D, Johnstone B, Lundgren-Åkerlund E, Kjellman C.  $\alpha$ 10 Integrin Expression Is Up-Regulated on Fibroblast Growth Factor-2-Treated Mesenchymal Stem Cells with Improved Chondrogenic Differentiation Potential. *Stem Cells and Development* 2007, 16(6): 965-978.
- Verbruggen G, Cornelissen M, Almquist KF, Wang L, Elewaut D, Broddelez C, de Ridder L, Veys EM. Influence of aging on the synthesis and morphology of the aggrecans synthesized by differentiated human articular chondrocytes. *Osteoarthritis and Cartilage*, Volume 8, Issue 3, May 2000, Pages 170-179
- Vingard E, Alfredsson L, Goldie I, Hogstedt C: Occupation and osteoar- thritis of the hip and knee: a register-based cohort study. *Int J Epidemiol* 1991, 20: 1025-1031
- Wandel S, Juni P, Tendal B, Nuesch E, Villiger PM, Welton NJ, Reichenbach S, Trelle S. Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis. *BMJ* 2010; 341: c4675-c4675
- Watson MC, Brookes ST, Kirwan JR, Faulkner A. Non-aspirin, non-steroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis of the knee (Cochrane Review). *The Cochrane Library* 2000; Issue 1, Oxford
- Webb DSA, Shimizu Y, Van Seventer GA, Shaw S, Gerrard, TL. LFA-3, CD44, and CD45: physiologic triggers of human monocyte TNF and IL-1 release. *Science* 1990; 249:1295
- West DC, Hampson IN, Arnold F, Kumar S: Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science* 1985, 228:1324-1326
- Wildi LM, Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Beaulieu A, Bessette L, Morin F, Abram F, Dorais M, Pelletier JP. Chondroitin sulphate reduces both cartilage volume loss and bone marrow lesions in knee osteoarthritis patients starting as early as 6 months after initiation of therapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled pilot study using MRI. *Annals of the rheumatic diseases* 2011; 70 (6): 982-9.

Wilner KD, Rushing M, Walden C, Adler R, Eskra J, Noveck R, et al. Celecoxib does not affect the antiplatelet activity of aspirin in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2002;42:1027-30.

Wissenschaftliches Institut der AOK: Fehlzeitenreport 2010

Yagi R, McBurney D, Laverty D, Weiner S, Horton WE. Intrajoint comparisons of gene expression patterns in human osteoarthritis suggest a change in chondrocyte phenotype. *Journal of orthopaedic research*. 2005;23(5):1128-38.

Yamasaki M, Thomas JM, Churchill GC, Garnham C, Lewis AM, Cancela JM, Patel S, Galione A. Role of NAADP and cADPR in the induction and maintenance of agonist-evoked Ca<sup>2+</sup> spiking in mouse pancreatic acinar cells. *Curr Biol* 2005;15 (9): 874-878

Yu SW, Wang H, Poitras MF, Coombs C, Bowers WJ, et al. Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. *Science* 2002; 297:259-263



# Anhang

## – Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des IP3 / DAG Pathways.....	20
Abbildung 2: Krankenhausfälle 2030 gegenüber 2008.....	24
Abbildung 3: Krankenhausfälle von 1995 bis 2030 .....	24
Abbildung 4: Arthrotische Beschwerden nach Lokalisation.....	33
Abbildung 5: Proliferation von Chondrozyten .....	55
Abbildung 6: Relative Proliferationsdifferenz von Chondrozyten ....	56
Abbildung 7: Relativer Expressionsunterschied von Aggrekan .....	58
Abbildung 8: Relativer Expressionsunterschied von PARP .....	59

# - 3T-MRT Protokoll: Knie-Sequenz

SIEMENS MAGNETOM Verio syngo MR B17

\\USER\GELENKE\KNIE\Knie kurz\Lokalizier links	
TA: 0:29	PAT: 2
Voxel size: 0.6x0.5x8.0 mm	Rel. SNR: 1.00
SIEMENS: gre	
<b>Properties</b>	
Prio Recon	Off
Before measurement	
After measurement	
Load to viewer	On
Inline movie	Off
Auto store images	On
Load to stamp segments	On
Load images to graphic segments	Off
Auto open inline display	On
Start measurement without further preparation	Off
Wait for user to start	Off
Start measurements	single
<b>Routine</b>	
Slice group 1	
Slices	5
Dist. factor	140 %
Position	L100.0 A20.0 H0.0
Orientation	Transversal
Phase enc. dir.	R >> L
Rotation	90.00 deg
Slice group 2	
Slices	3
Dist. factor	200 %
Position	L100.0 A20.0 H0.0
Orientation	Coronal
Phase enc. dir.	R >> L
Rotation	0.00 deg
Slice group 3	
Slices	3
Dist. factor	300 %
Position	L100.0 A20.0 H0.0
Orientation	Sagittal
Phase enc. dir.	A >> P
Rotation	0.00 deg
Phase oversampling	0 %
FoV read	220 mm
FoV phase	100.0 %
Slice thickness	8.0 mm
TR	13 ms
TE	4.92 ms
Averages	1
Concatenations	11
Filter	Elliptical filter, Image Filter
Coil elements	K15
<b>Contrast</b>	
TD	0 ms
MTC	Off
Magn. preparation	None
Flip angle	30 deg
Fat suppr.	None
Water suppr.	None
SWI	Off
Averaging mode	Short term
Reconstruction	Magnitude
Measurements	1
Multiple series	Each measurement
<b>Resolution</b>	
Base resolution	448
Phase resolution	80 %
Phase partial Fourier Interpolation	Off
PAT mode	GRAPPA
Accel. factor PE	2
Ref. lines PE	24
Matrix Coil Mode	Triple
Reference scan mode	Integrated
Image Filter	On
Intensity	Smooth
Edge Enhancement	3
Smoothing	3
Unfiltered images	Off
Distortion Corr.	Off
Prescan Normalize	Off
Normalize	Off
B1 filter	Off
Raw filter	Off
Elliptical filter	On
Mode	Inplane
<b>Geometry</b>	
Multi-slice mode	Sequential
Series	Interleaved
Saturation mode	Standard
Special sat.	None
Set-n-Go Protocol	Off
Table position	H
Table position	0 mm
Inline Composing	Off
<b>System</b>	
Body	Off
K15	On
SP4	Off
SP2	Off
SP8	Off
SP6	Off
SP3	Off
SP1	Off
SP7	Off
SP5	Off
Positioning mode	REF
MSMA	S - C - T
Sagittal	R >> L
Coronal	A >> P
Transversal	H >> F
Coil Combine Mode	Adaptive Combine
AutoAlign	---
Auto Coil Select	Default
Shim mode	Tune up
Adjust with body coil	Off
Confirm freq. adjustment	Off
Assume Silicone	Off
? Ref. amplitude 1H	0.000 V
Adjustment Tolerance	Auto
Adjust volume	
Position	Isocenter
Orientation	Transversal
Rotation	0.00 deg
R >> L	350 mm
A >> P	263 mm

1/+

F >> H 350 mm

Physio

1st Signal/Mode	None
Segments	1
Tagging	None
Dark blood	Off
Resp. control	Off

Inline

Subtract	Off
Liver registration	Off
Std-Dev-Sag	Off
Std-Dev-Cor	Off
Std-Dev-Tra	Off
Std-Dev-Time	Off
MIP-Sag	Off
MIP-Cor	Off
MIP-Tra	Off
MIP-Time	Off
Save original images	On
Wash - In	Off
Wash - Out	Off
TTP	Off
PEI	Off
MIP - time	Off
MapIt	None
Contrasts	1

Sequence

Introduction	On
Dimension	2D
Phase stabilisation	Off
Asymmetric echo	Allowed
Bandwidth	130 Hz/Px
Flow comp.	No
Allowed delay	0 s
RF pulse type	Fast
Gradient mode	Fast
Excitation	Slice-sel.
RF spoiling	On