

Aus dem Pathologischen Institut der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Vorstand: Prof. Dr. U. Löhrs

**Histomorphologische Untersuchungen lumbaler Bandscheiben beim Altern
und bei degenerativen Veränderungen**

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

vorgelegt von

Sabine Weißbach
aus
München
2003

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. A. Nerlich

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. R. Putz
Priv. Doz. Dr. A. Veihelmann

Betreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

Tag der mündlichen
Prüfung: 09.01.2003

Meinen Eltern gewidmet

Verwendete Abkürzungen

AlciPAS	Alcianblau-PAS-Färbung
BS	Bandscheibe
EP	Endplatte
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
SAB	Subarachnoidalblutung
SHT	Schädel-Hirn-Trauma

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	3
2. Allgemeine Betrachtungen	5
2.1. Struktureller Aufbau und funktionelle Aspekte der Bandscheibe	5
2.1.1. Makroskopischer Aufbau	5
2.1.2. Mikroskopischer Aufbau	6
2.1.3. Physiologische Aspekte	7
2.1.4. Gefäßversorgung und Ernährung der Bandscheibe	7
2.1.5. Nervale Versorgung der Bandscheibe	8
2.2. Veränderungen in der Bandscheibe beim Altern bzw. degenerative Veränderungen	8
2.2.1. Veränderungen im Nucleus pulposus	8
2.2.2. Veränderungen im Anulus fibrosus	9
2.2.3. Veränderungen der knorpeligen Endplatte	10
3. Fragestellung	11
4. Material und Methoden	12
4.1. Patientenkollektiv	12
4.2. Gewebegewinnung und -aufbereitung	14
4.3. Datenerhebung	15
4.3.1. Makroskopische Untersuchung	15
4.3.2. Histologische Untersuchung	17
4.4. Datenauswertung	28
5. Ergebnisse	32
5.1. Semiquantitative Untersuchung histologischer altersabhängiger Bandscheiben- und Endplattenveränderungen	32
5.1.1. Variation histologischer Kriterien bezogen auf Bandscheibenlevel, Region, makroskopischen Degenerationsgrad und Altersgruppen	34
5.1.1.1. Variation histologischer Kriterien bezogen auf den Bandscheibenlevel	34
5.1.1.2. Variation histologischer Kriterien bezogen auf die Region	34

	Seite
5.1.1.3. Variation histologischer Kriterien bezogen auf den makroskopischen Degenerationsgrad	36
5.1.1.4. Variation histologischer Kriterien bezogen auf die Altersgruppen	38
5.1.2. Korrelation histologischer Kriterien mit makroskopischer Degeneration und den Altersgruppen	42
5.1.2.1. Korrelation histologischer Kriterien mit makroskopischer Degeneration über allen Bandscheibenregionen	42
5.1.2.2. Korrelation histologischer Kriterien mit den Altersgruppen über allen Bandscheibenregionen	42
5.1.3. Zeitliche und regionale Schwankungen der histologischen Merkmale im Hinblick auf Bandscheibendegeneration	44
5.1.4. Zuverlässigkeit der histologischen Beurteilung zwischen zwei Untersuchern	47
5.2. Ein Klassifikationssystem histologischer Veränderungen	48
5.2.1. Entwicklung	48
5.2.2. Prüfung der Zuverlässigkeit und Durchführbarkeit	48
5.3. Korrelation der histologischen Scores mit makroskopischer Bandscheibendegeneration und Altersgruppen	50
6. Diskussion	53
6.1. Zeitliche Unterschiede im Auftreten altersabhängiger Bandscheibenveränderungen	53
6.2. Konzept zur Ernährung der Bandscheibe	56
6.3. Klassifikation altersabhängiger Veränderungen	56
6.4. Unterscheidung von Altern und Degeneration	57
6.5. Forschungsergebnisse und klinische Relevanz	58
7. Zusammenfassung	60
8. Literaturverzeichnis	62
9. Dank	71
10. Lebenslauf	73

1. Einleitung

Patienten mit lumbalen Bandscheibenbeschwerden („low-back-pain“) stellen ein zunehmendes medizinisches und sozio-ökonomisches Problem dar (Waddell, 1987). So gelten Wirbelsäulenbeschwerden als zweithäufigstes Symptom, das zu einem Arztbesuch führt (Deyo et al, 1991). Für die Patienten stellt der Schmerz ein sehr belastendes Symptom dar, er geht mit einer vermehrten Einnahme von Schmerzmitteln einher. Die Einschränkung der Arbeitsfähigkeit, der erhöhte Medikamentenverbrauch und die hohe Rate an Ausfällen durch Krankheitstage führen insgesamt zu einer hohen ökonomischen Belastung in westlichen Industrieländern.

Trotz zahlreicher klinischer und experimenteller Ansätze ist bislang die Kenntnis über zugrundeliegende und evtl. beeinflussbare molekulare Ursachen gering. Die normale Bandscheibenfunktion wird ganz erheblich durch die Integrität und den regelrechten Aufbau der Bandscheiben bedingt. Pathologische Abweichungen in der Bandscheibenstruktur werden als wichtige Ursachen bei der Entstehung des „low-back-pain“ angesehen (Eyre et al, 1989). Unklar ist dabei, ob die im Laufe des physiologischen Alterungsprozesses auftretenden strukturellen Bandscheibenveränderungen und/oder vorzeitige degenerative Prozesse die klinische Symptomatik ausmachen (Eyre et al, 1989).

Als Symptom auslösend wurde bislang vornehmlich die Bandscheibenherniation angeschuldigt, die durch Druck auf die austretenden Nervenwurzeln zu schwerwiegender neurologischer Symptomatik führen kann. Das bereits 1934 vorgestellte Konzept einer rein mechanischen Irritation der Nervenwurzeln ist in neuerer Zeit jedoch in Frage gestellt worden (Parke et al., 1989), da Literaturberichte an eine biochemisch induzierte Nervenreizung denken lassen (Nachemson, 1989). Aktuellere Studien liefern jetzt erste Hinweise auf Entzündungsreaktionen an der Bandscheibe und benachbarten Nervenwurzeln (Olmarker et al, 1993, 1995 und 1998; Kawakami et al, 1994), wobei diese nun als ein wichtiger Faktor bei der Entstehung von Rückenschmerzen angesehen werden.

Obwohl es eine wachsende Anzahl von Studien gibt, die ihren Schwerpunkt auf die Aufklärung molekularer Mechanismen der Bandscheibendegeneration und ihre therapeutische Beeinflussbarkeit mittels Gentherapie setzen (Wehling et al, 1997; Nishida et al, 1998 und 1999; Moon et al, 2000), beschäftigen sich nur wenige Studien mit der Frage, wie sich Bandscheibendegeneration auf histologischer Ebene darstellt (Coventry et al, 1945; Saunders et al, 1945;

Weidner et al, 1988; Roberts et al, 1989 und 1997). Ein tiefgreifenderes Verständnis degenerativer Bandscheibenveränderungen wird erst möglich sein, wenn fundierte biochemische und immunhistochemische Daten in einen histologischen Bezugsrahmen eingebunden werden können. Eine weitreichende Literaturdurchsicht hat gezeigt, daß es keine Studien gibt, die eine detaillierte, umfassend qualitative und (semi-)quantitative Bewertung histologischer Veränderungen während des Alterungsprozesses liefern. Des weiteren gibt es kein Graduierungssystem, das erlaubt, molekulare Veränderungen in der Bandscheibe zu den unterschiedlichen Graden der Gewebsveränderungen und -destruktion in Beziehung zu setzen.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war deshalb, zum einen die Ausprägung bzw. das Vorhandensein histomorphologischer Parameter, getrennt für die drei wesentlichen anatomischen Regionen der Bandscheibe (Nucleus pulposus, Anulus fibrosus, knorpelige Endplatte) über alle Altersstufen anhand autoptischen Bandscheibenmaterials zu erfassen und zum anderen hieraus ein Klassifikationssystem des „Degenerationsausmaßes“ zu entwickeln, welches in Zukunft auch auf chirurgisch gewonnenes Bandscheibenmaterial angewandt werden kann.

2. Allgemeine Betrachtungen

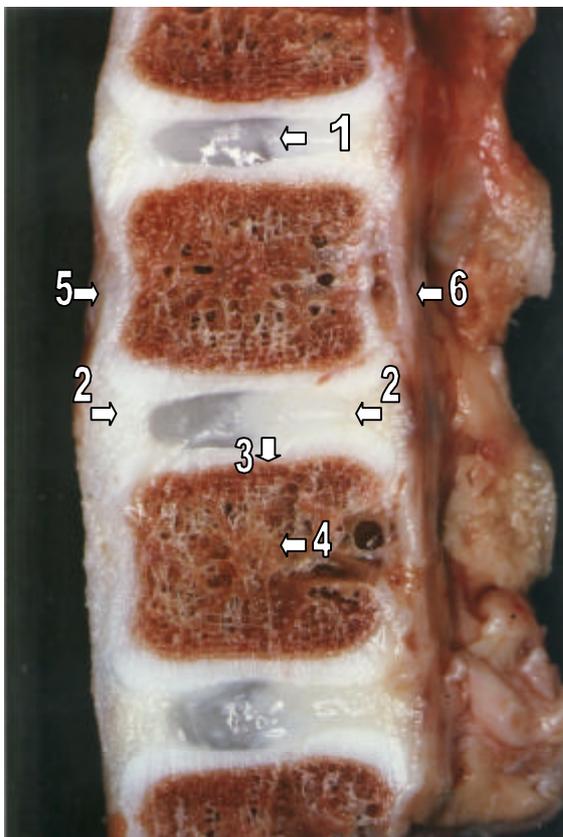
2.1. Struktureller Aufbau und funktionelle Aspekte der Bandscheibe

2.1.1. Makroskopischer Aufbau

Die normale menschliche Wirbelsäule umfaßt 23 Bandscheiben (6 cervicale, 12 thorakale und 5 lumbale). Obwohl für diese Arbeit nur die fünf lumbalen Bandscheiben verwendet wurden, ist deren Struktur in den unterschiedlichen Regionen annähernd gleich. Die Bandscheibe liegt wie ein Kissen zwischen zwei angrenzenden Wirbelkörpern. Diese bestehen aus spongiösem Knochen. Zwischen den feinen Knochenbälkchen befindet sich blutbildendes Mark. An der Vorderseite der Wirbelkörper läuft das stärkere vordere Längsband (Lig. longitudinale anterius) abwärts, auf der Rückseite im Wirbelkanal an den Epiduralsack angrenzend das schwächere hintere Längsband (Lig. longitudinale posterius) (s. Abb. 1).

Die Bandscheibe setzt sich makroskopisch aus drei unterschiedlichen Komponenten zusammen, die gemeinsam eine funktionelle Einheit bilden:

Im Zentrum der Bandscheibe liegt ein semigelatinöser Kern, der Nucleus pulposus. Schneidet man die Bandscheibe auseinander, quillt dieser aufgrund seines Turgors als homogen glasige, gelatinöse Masse hervor.



Zusammgehalten wird er durch Fasern des Anulus fibrosus. Dieser Faserring umrundet den Nucleus pulposus und setzt am vorderen und hinteren Längsband und am Knochenrand des Wirbelkörpers an.

Den Abschluß vom Bandscheibengewebe zu den oben und unten angrenzenden Wirbelkörpern bilden zwei aus hyalinem Knorpel bestehende Endplatten, die den Wirbelkörpern dicht anliegen.

Nur durch das Zusammenwirken von Nucleus, Anulus und Endplatten kann die Bandscheibe ihre komplexen Funktionen gewährleisten.

Abb. 1: Makroskopischer Bandscheibenaufbau

(1=Nucleus pulposus; 2=Anulus fibrosus; 3=Endplatte; 4=Wirbelkörper; 5=vord. Längsband; 6=hint. Längsband)

2.1.2. Mikroskopischer Aufbau

Im Kindesalter sind die gegenüberliegenden Wirbelkörper komplett von einer dünnen Knorpelschicht bedeckt. Sie bildet die Epiphyse und ermöglicht das Längenwachstum der Wirbelsäule (s. Abb.2).

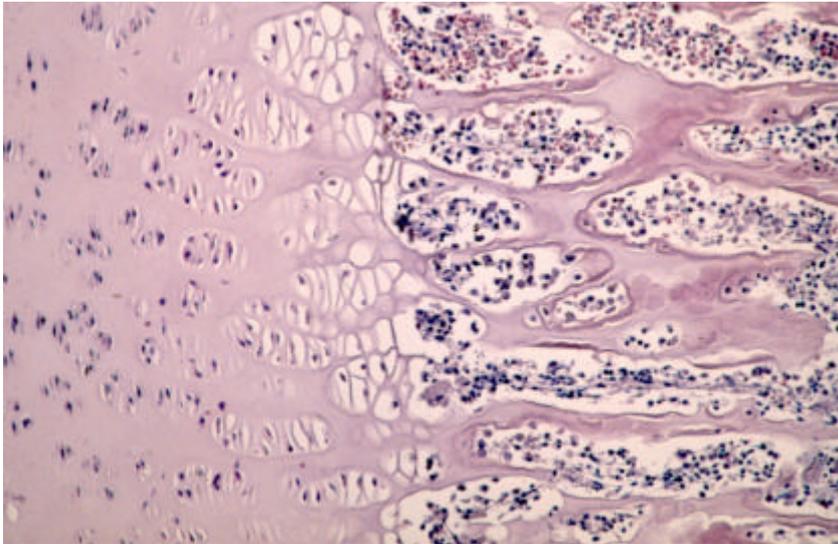


Abb.2: Histologisches Bild einer Epiphysenfuge

Nach der Pubertät erscheinen sekundäre Verknöcherungszonen, die sich im Jugendlichenalter mit der primären Knochenanlage verbinden. Nur die peripheren Anteile der Knorpelplatte verknöchern. Im Zentrum bleibt eine Schicht aus hyalinem Knorpel mit horizontal ausgerichteten Zellen bestehen. Diese etwa 1 mm dicke knorpelige Endplatte und der durch Ossifizierung des Knorpels entstandene etwa 1cm breite Knochenrand werden durch einen peripheren Ring aus kollagenem Bindegewebe und Faserknorpel, dem Anulus fibrosus verbunden.

Der Anulus bildet den Hauptteil der Bandscheibe. Er besteht hauptsächlich aus fibrillärem Kollagen, das von fibroblastären Zellen gebildet wird, die in Faserrichtung orientiert sind (Pitzker et al, 1977). Dieses kollagene Bindegewebe formt einzelne Lamellen oder Lagen, die in benachbarten Lagen jeweils in unterschiedlichen Richtungen verlaufen. Dabei entsteht eine Art Gitter, das dem Gewebe maximalen Halt verleiht.

Fest umschlossen von Anulusgewebe liegt der Nucleus pulposus zwischen mittlerem und hinterem Drittel der Bandscheibe. Er besteht aus locker angeordneten, welligen kollagenen Fasern in einer stark wasserhaltigen Matrix, welche gelatineartig und mucös ist. Die Grundsubstanz enthält hauptsächlich Kollagene und Protein-Polysaccharide. Zum Zeitpunkt der Geburt finden sich zunächst noch Reste notochordaler Zellen im Nucleus, was auf seine Herkunft aus dem Endoderm schließen lässt. Die Anzahl der Notochordazellen vermindert sich jedoch im Laufe der Kindheit und der Nucleus wird dichter und faseriger. Der adulte Nucleus enthält schließlich Knorpelzellen und Fibroblasten in einer semigelantinösen Matrix.

2.1.3. Physiologische Aspekte

Die Bandscheibe ist keine passive Struktur, sondern paßt sich ständig an wechselnde Lageveränderungen des Körpers an. Sie fungiert als Gelenk zwischen den Wirbelkörpern, das Beugungen in alle Richtungen zuläßt. Ohne sie wäre unsere Wirbelsäule nur ein starres Rohr, ohne jede Bewegungsmöglichkeit. Zusätzlich zu ihrer Gelenkfunktion agiert die Bandscheibe als eine Art Absorber oder Kissen, das Schwingungen abfängt und auf diese Weise unter anderem das empfindliche Gehirn vor Erschütterungen schützt. Wenn man die drei Hauptstrukturen der Bandscheibe betrachtet, so ist jede einzelne für sich gesehen sehr wichtig, obwohl sie nur gemeinsam eine Einheit zu bilden vermögen.

Die Endplatten bilden eine Barriere zwischen dem aktiven Druck des Nucleus pulposus und den angrenzenden Wirbelkörpern. Ist diese zerstört, kann Nucleusgewebe in den Wirbelkörper eindringen und so seine Funktion als Druckpolster nicht mehr wahrnehmen. Der Nucleus selbst steht unter Spannung und paßt sich ständig ändernden Druckverhältnissen an. Zusammengepreßt wird er breiter und spannt den Anulus fibrosus. Die Beugung des Körpers verursacht eine vordere Kompression des Nucleus mit Ausweichen nach hinten, die Streckung eine hintere Kompression mit Ausweichen nach vorne. Bei seitlicher Kompression, wie bei Skoliose, verlagert sich der Nucleus zur Gegenseite.

Ein intakter Anulus vermag alle Verlagerungen des Nucleus abzufangen. Aufgrund seiner gitterartigen Faseranordnung hält er Torsions- und Biegedeformationen stand und schützt vor Protrusion des Nucleus.

Die Bandscheiben werden in den verschiedenen Regionen der Wirbelsäule unterschiedlich beansprucht. So sind die lumbalen Bandscheiben höherer Belastung und stärkeren Erschütterungen ausgesetzt, was zur Erklärung beiträgt, warum gerade hier degenerative Veränderungen stärker ausgeprägt sind als in anderen Regionen.

2.1.4. Gefäßversorgung und Ernährung der Bandscheibe

Die Bandscheibe ist das größte avaskuläre Gewebe im Körper. Sie ist sowohl in ihrer Ernährung als auch bei der Entsorgung von metabolischen Abfallprodukten auf einen Austausch mit Gefäßen außerhalb der Bandscheibe angewiesen. Lediglich im Säuglings- und Kindesalter sind intakte Gefäße in der Endplatte vorhanden, die jedoch allmählich sklerosieren und schließlich im Jugendalter vollständig verschlossen sind. Urban et al konnten 1977 nachweisen, daß der Flüssigkeitstransport über die Bandscheibe hauptsächlich durch Diffusion erfolgt. Dabei gibt es

zwei Wege für die Kommunikation mit Blutgefäßen außerhalb der Bandscheibe: Zum einen über die Anulusperipherie und zum anderen durch die Endplatten.

2.1.5. Nervale Versorgung der Bandscheibe

Der Nucleus pulposus und große Teile des Anulus fibrosus sind bei „gesunden“ Bandscheiben ohne nervale Versorgung. Jedoch finden sich in den umliegenden Strukturen wie Ligamenten nervale Rezeptoren. (Bogduk et al, 1981; Jackson et al, 1966; Roofe, 1940; Shinahara, 1970)

2.2. Veränderungen in der Bandscheibe beim Altern bzw. degenerative Veränderungen

Die Grenze zwischen degenerativen Veränderungen, die den Alterungsprozeß begleiten und den als pathologisch zu bezeichnenden Veränderungen ist fließend. In vielen Fällen ist es schwierig, den Beginn der einen oder das Ende der anderen festzulegen.

2.2.1. Veränderungen im Nucleus pulposus

Der Nucleus pulposus enthält bei Jugendlichen in hoher Konzentration Proteoglycane, in die spindelige Zellen eingelagert sind. Als morphologisch frühes Zeichen einer Degeneration wurde von Yasuma et al (1990) das Auftreten von Spaltbildungen und kleinen Höhlen beschrieben. Mit zunehmender Degeneration kommt es zur haufenförmigen Proliferation von chondroiden Zellen (Pitzker et al, 1977; Weidner et al, 1988; Yasuma et al, 1990). Diese in Grüppchen oder Clustern heranwachsenden Chondrozyten sind durch einen Ring aus Faserknorpel von der umgebenden Matrix abgegrenzt. Mit dem Alter bzw. zunehmender Degeneration tritt eine histochemisch faßbare Änderung in der Proteoglycan-Matrix auf. Es werden vermehrt saure Mucopolysaccharide abgelagert, die sich mit Alcianblau intensiv blau anfärben lassen. Zusätzlich zu den bereits bei gering degenerativ verändertem Nucleus-Gewebe vorhandenen Spalten und kleinen Zysten (Vermon-Roberts, 1992) erstrecken sich bei fortgeschritteneren Veränderungen horizontale Spalten zwischen Nucleus pulposus und cartilaginärer Endplatte. Diese Spaltbildungen dehnen sich zumeist in posteriorer oder postero-lateraler Richtung in den Anulus fibrosus aus und können transversal bis an den Epiduralsack heranreichen (Vermon-Roberts, 1992). Zudem sind Spalträume, aber auch intakte Matrixareale durch ein amorphes eosinophil angefärbtes granuläres

Material gefüllt bzw. ersetzt, dessen molekulare Zusammensetzung noch nicht aufgeklärt ist. Diese granulären Ablagerungen treten in allen Stadien der Bandscheibendegeneration auf. Schließlich kommt es zum vollständigen Verlust der Nucleus pulposus-Struktur und zu ausgedehnten Verkalkungen (Coventry et al, 1945).

2.2.2. Veränderungen im Anulus fibrosus

Der Anulus fibrosus besteht vornehmlich aus fibrillärem Kollagen, das von fibroblastären Zellen produziert wird, die in Faserrichtung orientiert sind (Pritzker, 1977). Im Rahmen der Bandscheibendegeneration sind Einrisse in das anuläre Faserstroma beschrieben, die sich in fortgeschrittenen Fällen bis zu konzentrischen Rissen entlang der Zirkumferenz des Anulus ausdehnen können (Hilton et al, 1984; Schmorl et al, 1968; Vernon-Roberts 1977, 1988 und 1992). Initiale Veränderungen des Anulus fibrosus betreffen v.a. innere Anulus-Schichten, die mit Fragmentierung und Aufsplitterung der Kollagenfasern einhergehen. In fortgeschrittenen Stadien kommt es zur fibrocartilaginären Fibrillation des Kollagenfasergerüsts (Weidner et al, 1988). Analog zum Nucleus pulposus können auch im Anulus fibrosus bei stärkergradiger Degeneration zystische Spalträume und Höhlen entstehen, die vermehrt saure Mucopolysaccharide enthalten. Mit zunehmender Schwere der Veränderungen dehnen sich die schon makroskopisch sichtbaren Anulus-Risse radial vom Nucleus in die Peripherie hin aus (radiale Einrisse) (Hirsch et al, 1953), die vermutlich nichts anderes als ausgedehnte Nucleus pulposus-Spalten, wie schon oben erwähnt, darstellen dürften. Die transanulären Spalten sollen das Einsprossen von Kapillaren ("Granulationsgewebe") entlang der Spaltränder ermöglichen (Vernon-Roberts, 1992). Die Heilungspotenz des Anulus-Gewebes ist allerdings sehr begrenzt (Hampton et al, 1989; Osti et al, 1990). Tierexperimentell konnte gezeigt werden, daß diskrete Einrisse in äußeren Anulus-Anteilen konzentrische Spaltbildungen ermöglichen und radiale Einrisse in ihrer Ausdehnung fördern, mithin die Degeneration des Bandscheibengewebes vorantreiben (Osti et al, 1990). In ausgedehnten Degenerationsprozessen kommt es schließlich im Anulus ebenfalls zu granulären Matrixveränderungen. Die Veränderungen reichen bis hin zur Nekrose von Kollagenfasern und Verkalkungen. Während diese beschriebenen Veränderungen vermutlich der Alterungsprozeß mit sich bringt, schreiben verschiedene Autoren (Vernon-Roberts et al, 1977; Hilton et al, 1984) Randläsionen (d.h. Einrisse am Bandscheibenrand) den Folgen eines direkten Traumas und nicht degenerativen Alterungsprozessen zu. Als Folge der Randläsionen tritt zu reparativen Zwecken häufig eine Einsprossung von Gefäßen auf.

2.2.3. Veränderungen der knorpeligen Endplatte

Die knorpelige Endplatte besitzt einen prinzipiell analogen Aufbau wie die Knorpelplatte synovialer Gelenke. Ihre Hauptfunktion dürfte in einer Verankerung der Kollagenfasern des Anulus fibrosus im hyalinen Knorpel, wie auch in einer zusätzlichen Stoßdämpferfunktion liegen (Pfitzker, 1977). Während die kindliche und juvenile Knorpel-Knochen-Grenze - in Analogie zur Epiphysenfuge der Röhrenknochen - über den Mechanismus der Knorpelzellproliferation und -hypertrophie zum Längenwachstum beiträgt und mit Erreichen der Adoleszenz ihr Wachstum einstellt, sind beim Erwachsenen physiologischerweise nur noch "ruhende" Knorpelzellen in reichlicher hyaliner Knorpelmatrix nachweisbar. Pritzker (1977) vermutet, daß fokale Änderungen im Aufbau und der Struktur der Endplatte - z.B. Disorganisation der Knorpelzellaggregate etc. - den histologisch faßbaren Veränderungen im Nucleus pulposus und Anulus fibrosus vorausgehen. Weitere frühe Änderungen sind Fissur- und Spaltbildungen, Mikrofrakturen, Knorpelzelluntergänge, Gefäßeinsprossung, Verkalkungen und Verknöcherungen der Endplatte (Vermon-Roberts, 1992). Bei ausgeprägter Degeneration kommt es zur Sklerose der Endplatte, zu zunehmendem knöchernen Ersatz und schließlich zur kompletten Ankylosierung.

3. Fragestellung

Wie bereits in der Einleitung ausgeführt, mangelt es an Arbeiten, die die histologischen Veränderungen an der Bandscheibe während des Alterungsprozesses qualitativ und (semi-) quantitativ beschreiben. Ebenso gibt es bis dato kein Klassifikationssystem, das erlaubt, molekulare Veränderungen in der Bandscheibe zu den unterschiedlichen Graden der Gewebsveränderungen und -destruktion in Verbindung zu setzen.

Ziel der Auswertung von 180 Präparaten menschlicher lumbaler Bandscheiben, die das gesamte Altersspektrum von der Fetalperiode bis ins hohe Alter umfassen, war es deshalb:

- 1) eine umfassende semiquantitative Untersuchung altersabhängiger histologischer Veränderungen lumbaler Bandscheiben und Endplatten bereitzustellen,
- 2) zu zeigen, daß die makroskopische Beurteilung auf Bandscheibendegeneration aufgrund der starken Heterogenität von Veränderungen innerhalb und zwischen den verschiedenen Regionen der Bandscheibe und Endplatte unzulänglich ist,
- 3) ein Klassifikationssystem für die Einstufung histologischer Merkmale altersgebundener Bandscheibenveränderungen basierend auf einer weitreichenden semiquantitativen histologischen Analyse zu entwickeln,
- 4) die Durchführbarkeit und Zuverlässigkeit eines solchen Klassifikationssystems zu testen.

4. Material und Methoden

4.1. Patientenkollektiv

Für die vorliegende Studie wurde ein Gesamtkollektiv von 43 lumbalen Wirbelsäulen (180 lumbalen Bandscheiben entsprechend) verwendet. Das Gewebematerial für makroskopische sowie histologische Untersuchungen stammte aus routinemäßigen Autopsien des Pathologischen Instituts und des Institutes für Rechtsmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München. Darunter waren 3 Feten (27.-35. Schwangerschaftswoche), 11 Kinder (1 Tag bis 13 Jahre alt), 16 Jugendliche/junge Erwachsene (16-25 Jahre alt) und 13 Erwachsene/ ältere Personen (31-86 Jahre alt). Davon waren 29 männlichen und 14 weiblichen Geschlechtes. Obwohl nur wenige klinische Daten dieser Personen vorlagen, war in keinem der Fälle eine Erkrankung der Wirbelsäule oder sonstige Erkrankung, die mit Wirbelsäulenveränderungen einhergeht, bekannt. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, verstarben alle Personen an akuten Todesursachen, wie akutem Trauma, akuter Vergiftung, Zerebralblutung, Sepsis, Myokardinfarkt oder im Falle der Kinder an plötzlichem Kindstod, akutem Trauma oder angeborenen Herzfehlern.

Tab. 1: Patientenkollektiv mit Geschlecht, Alter und Todesursache

<i>Fall-Nr.</i>	<i>m / w</i>	<i>Alter</i>	<i>Todesursache</i>
1.	m	27SSW	Hyalin-Membrankrankheit
2.	m	33SSW	Hyalin-Membrankrankheit
3.	f	35SSW	Mangelentwicklung
4.	m	1d	Herzfehler
5.	m	3d	Endokarditis
6.	f	3d	Herzfehler
7.	m	1mo	plötzlicher Kindstod
8.	f	2mo	plötzlicher Kindstod
9.	m	7mo	plötzlicher Kindstod
10.	m	20mo	plötzlicher Kindstod
11.	m	24mo	SHT
12.	f	28mo	plötzlicher Kindstod
13.	m	10	Hypovolämie
14.	m	13	Aspirationspneumonie
15.	f	16	SHT
16.	f	16	SHT
17.	m	16	Blutaspiration
18.	f	17	Hypovol. Schock
19.	m	18	SHT
20.	m	20	CO-Vergiftung
21.	m	21	Erhängen
22.	m	21	St. epilepticus
23.	m	22	Drogentod
24.	m	22	Drogentod
25.	m	24	Drogentod
26.	m	24	Erhängen
27.	m	25	Stromtod
28.	m	25	Stromschlag
29.	m	25	Drogentod
30.	m	25	SAB
31.	m	31	SHT
32.	f	47	SAB
33.	m	47	CO-Vergiftung
34.	m	58	Hirnblutung
35.	m	66	SHT
36.	f	74	Thoraxtrauma
37.	f	77	Fettembolie
38.	f	77	Myokardinfarkt
39.	m	77	Myokardinfarkt
40.	f	81	Myokardinfarkt
41.	m	81	traumat. Schock
42.	f	85	traumat. Schock
43.	f	86	traumat.Schock

4.2. Gewebegewinnung und -aufbereitung

Zur Materialgewinnung wurden durch einen vorderen Zugang beidseits der Wirbelsäule die Wirbelbögen der Level L1-L5/S1 durchtrennt und die gesamte vordere Wirbelsäule mit ihrem intakten vorderen und hinteren Längsband von L1-S1 am Stück entnommen. Trotz des Ausmaßes des Eingriffs wurde darauf geachtet, daß der Leichnam unversehrt blieb. Das entnommene Gewebe wurde anschließend in Bewegungssegmente unterteilt. Von jedem Bewegungssegment mit angrenzenden Wirbelkörpern wurde in einer sagittalen Ebene durch die Mitte des Segmentes eine Scheibe herausgesägt, anschließend für die spätere makroskopische Beurteilung photodokumentiert und für die Herstellung histologischer Präparate wie folgt bearbeitet:

Alle Scheiben wurden mindestens 2 x 24 Stunden in 4 %igem Formaldehyd (pH 7,4) fixiert und anschließend über einen Zeitraum von 1 bis 4 Monaten, abhängig von der Kalzifikation der knöchernen Matrix der Wirbelkörper, in 0,1 M EDTA, pH 7,4 vorsichtig und unter wiederholtem Wechsel der Entkalkungsflüssigkeit entkalkt. Danach wurden die entkalkten sagittalen Bandscheiben mit ihren angrenzenden Wirbelkörpern komplett entsprechend routinemäßiger Verfahren in Paraffin eingebettet.

Aus den entstandenen Paraffinblöcken wurden mit Hilfe eines Mikrotoms 2-4 µm dünne Schnitte angefertigt und anschließend auf Objektträger aufgebracht. Diese wurden für die nachfolgenden histologischen Untersuchungen zum einen mit Routinefärbungen (HE, z.T. EvG), zum anderen mit Spezialfärbungen (Masson-Goldner, Alcianblau-PAS) - zur besseren Darstellung des kollagenen Bindegewebes und der Proteoglykane einschl. ihrer Aggregationsformen - angefärbt.

4.3. Datenerhebung

4.3.1. Makroskopische Untersuchung

Zunächst wurden alle Bandscheiben makroskopisch beurteilt. Grundlage für die Beurteilung des Ausmaßes der Bandscheibendegeneration bildete die Einteilung in fünf Grade nach Thompson et al., wie in Tab. 2 und Abb. 3 dargestellt.

Tab. 2: Beschreibung der morphologischen Grade nach J.P. Tompson

<i>Grad</i>	<i>Nucleus pulposus</i>	<i>Anulus fibrosus</i>	<i>Endplatte</i>	<i>Wirbelkörper</i>
I	Hervortretendes Gel	Diskrete fibröse Lamellen	Hyalin, einheitlich dick	Abgerundete Ränder
II	Weißes fibröses Gewebe peripher	Mucöses Material zwischen den Lamellen	Unregelmäßige Dicke	Spitze Ränder
III	Verdichtetes fibröses Gewebe	Ausgedehnte mucöse Infiltration; Verlust der anulär-nucleären Abgrenzbarkeit	Fokale Knorpeldefekte	Beginnende Chondrophyten oder Osteophyten an den Rändern
IV	Horizontale Spalten parallel zur Endplatte	Fokale Zerreißen	Faserknorpel breitet sich vom subchondralen Knochengewebe heraus; Unregelmäßigkeiten und fokale Sklerose im subchondralen Knochen	Osteophyten < 2mm
V	Spalten ausgedehnt auf Nucleus und Anulus		Diffuse Sklerose	Osteophyten > 2mm

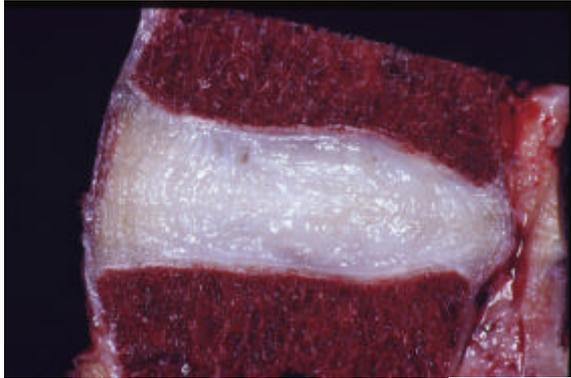
Abb. 3: Einteilung in fünf Grade nach Thompson (makroskopisch)

Bild 1

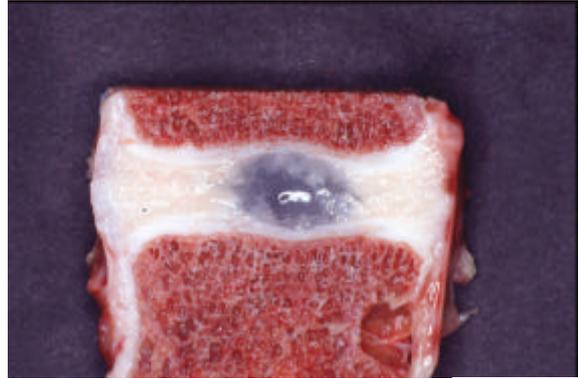


Bild 2

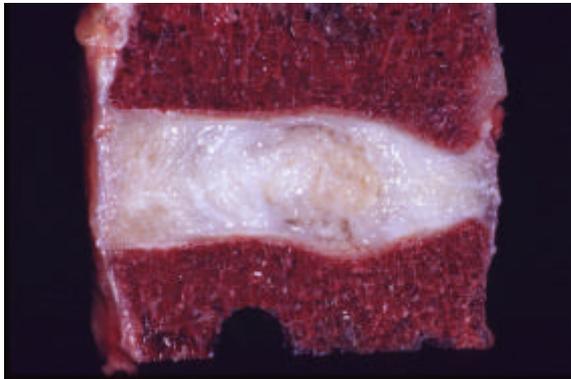


Bild 3

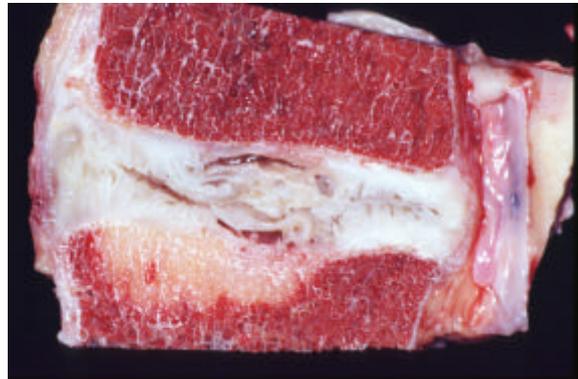


Bild 4

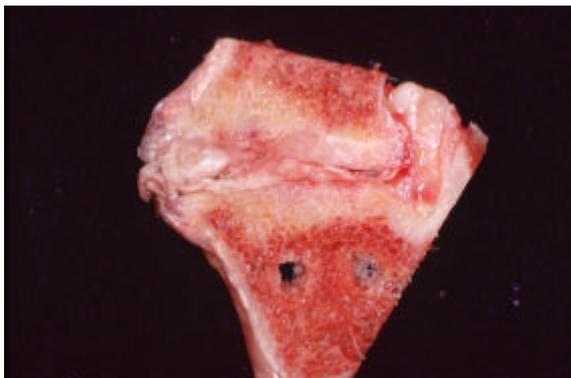


Bild 5

Bild 1 =Grad 1**Bild 2** =Grad 2**Bild 3** =Grad 3**Bild 4** =Grad 4**Bild 5** =Grad 5

4.3.2. Histologische Untersuchung

Nach der Gewebeaufbereitung wurden alle Bandscheiben mikroskopisch beurteilt. Dabei wurde ein Lichtmikroskop der Firma Zeiss mit drei gleichbleibenden Vergrößerungen verwendet. Jede Bandscheibe wurde mit Hilfe der oben beschriebenen Färbungen auf die unterschiedlichen histologischen Kriterien für Bandscheibendegeneration systematisch durchgesehen. Die Auswahl der Kriterien erfolgte nach Literaturdurchsicht. Dabei dienten v.a. die von Weidner et al (1988) beschriebenen Merkmale als Grundlage. In jedem Bewegungssegment wurden die Bandscheibe und die angrenzende obere und untere Endplatte getrennt beurteilt.

(s. Tab. 3: Protokollblatt zur histologischen Analyse, Seite 31)

Die Bandscheiben wurden in fünf Bereiche - vorderer äußerer und vorderer innerer Anulus fibrosus, Nucleus pulposus, hinterer innerer und hinterer äußerer Anulus fibrosus- unterteilt und einzeln auf folgende Kriterien hin untersucht:

- Chondrozytenproliferation
- Zelluntergänge
- granuläre Matrixveränderungen
- mucöse Degeneration
- Vorhandensein von konzentrischen Rissen
- Vorhandensein von radiären Spalten
- Narbenbildung
- Randläsionen
- Gefäßneubildungen am Rande
- Zellen der Notochorda.

Die Chondrozytenproliferation wurde entsprechend ihres Ausmaßes in fünf Grade unterteilt: (0= keine Proliferation, 1= diffuse Chondrozytenproliferation, 2= Zusammenschlüsse zweier Chondrozyten zu Chondronen, 3-5= Zusammenschlüsse der Chondronen zu Clustern unterschiedlichen Ausmaßes). Die restlichen Parameter, ausgenommen der Narbenbildung, Randläsionen, Gefäßneubildungen am Rande und Anwesenheit von Zellen der Notochorda (0= nicht vorhanden, 1= vorhanden) wurden in drei Grade unterteilt (0= nicht vorhanden, 1= gering vorhanden, 2= mengenmäßig zwischen 1 und 3, 3= reichlich vorhanden).

Typisch für das Entstehen von Chondrozyten-„Klonen“ ist, daß mehrere Chondrozyten in kleinen Grüppchen oder Clustern heranwachsen und durch einen Faserknorpelring scharf von der Umgebung abgegrenzt sind (s. Abb. 4).

Abb. 4: Chondrozytenproliferation der BS unterschiedlichen Ausmaßes (AlciPAS)

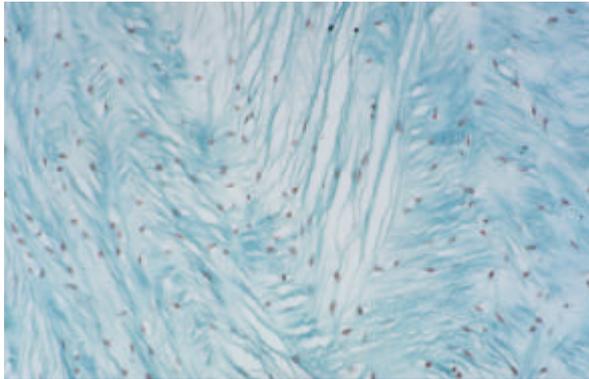


Bild 1

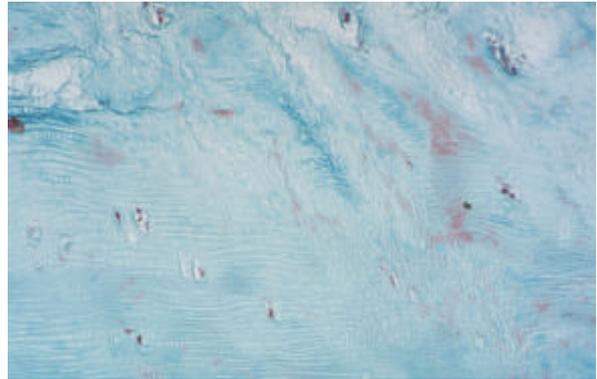


Bild 2

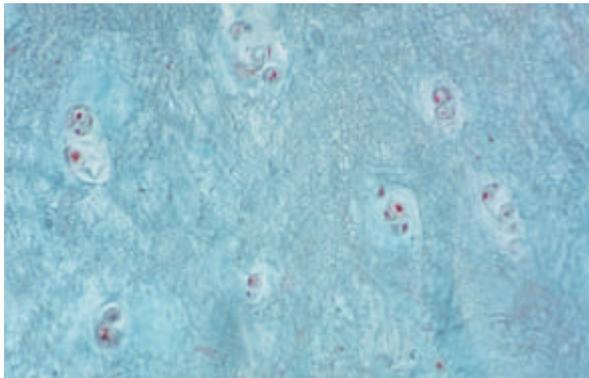


Bild 3

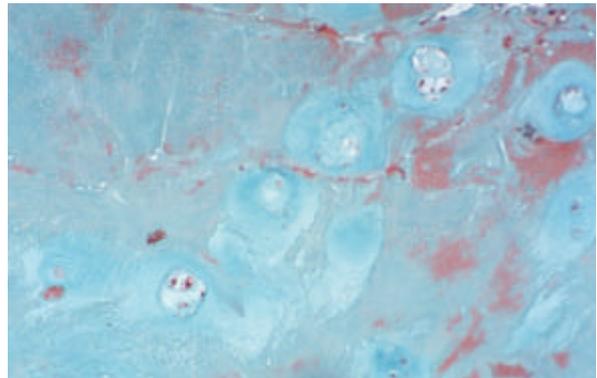


Bild 4

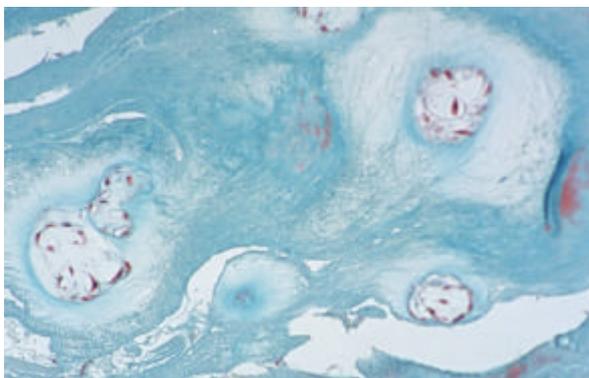


Bild 5

Bild 1= Grad 1

Bild 2= Grad 2

Bild 3= Grad 3

Bild 4= Grad 4

Bild 5= Grad 5

Zelluntergänge lassen sich histologisch an der Pyknose des Zellkernes und am Abblässen und dem Verlust des Cytoplasmas erkennen (s. Abb. 5).

Abb. 5: Zelluntergänge der BS unterschiedlichen Ausmaßes (HE)

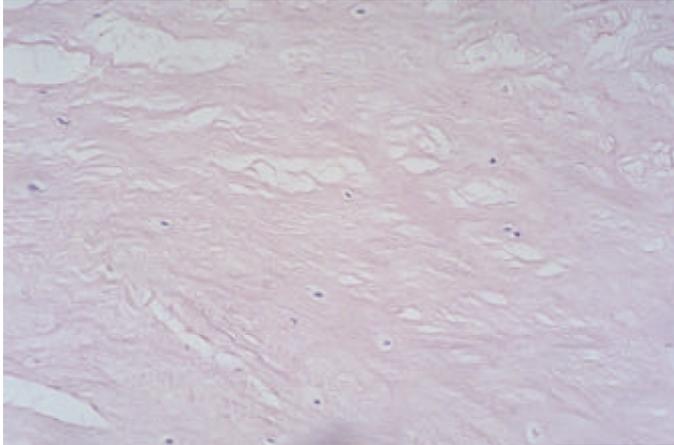


Bild 1

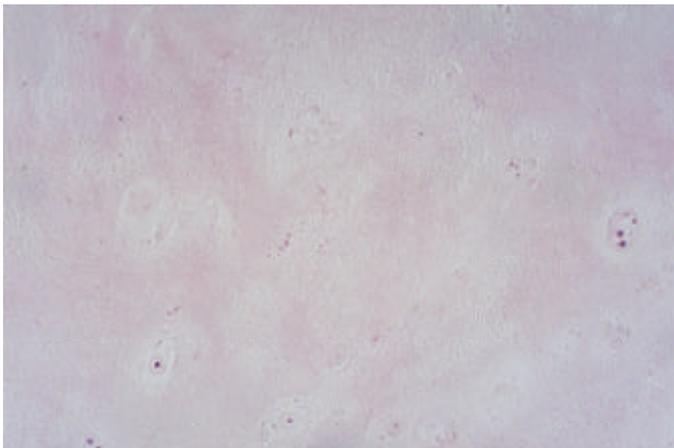


Bild 2

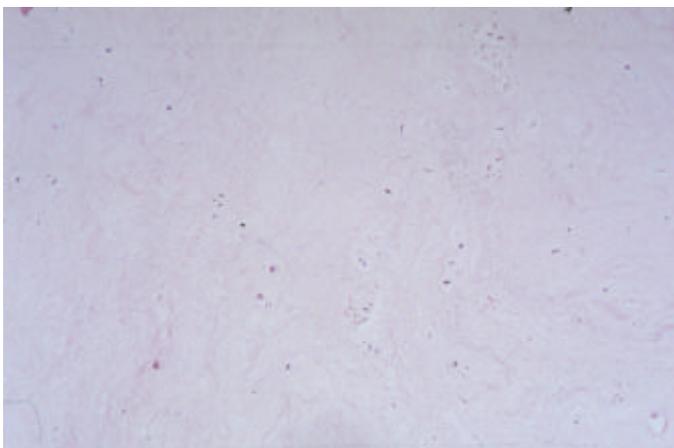


Bild 3

Bild 1= Grad 1

Bild 2= Grad 2

Bild 3= Grad 3

Granuläre Veränderungen bestehen aus einer Matrix aus Faserknorpel, die zu eosinophil-gefärbten amorphen Granula zusammengeballt ist (s. Abb. 6).

Abb. 6: Granuläre Veränderungen der BS unterschiedlichen Ausmaßes (AlciPAS)

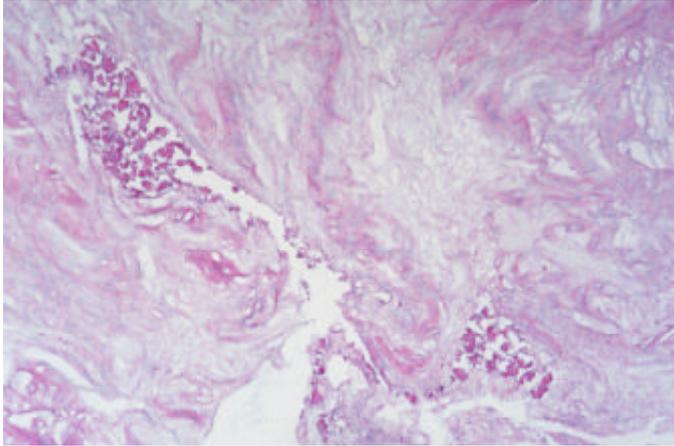


Bild 1

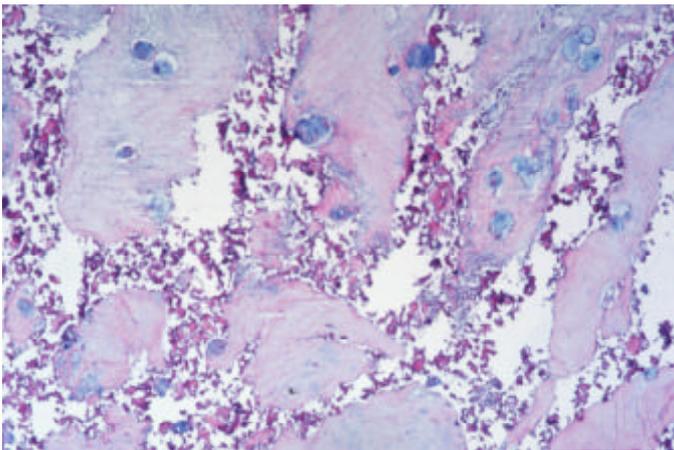


Bild 2

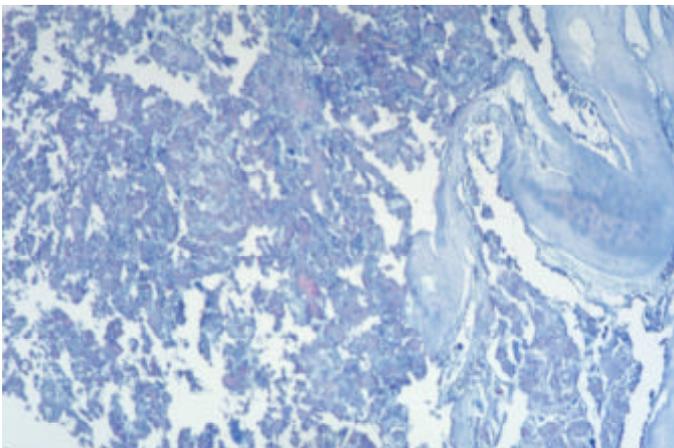


Bild 3

Bild 1= Grad 1

Bild 2= Grad 2

Bild 3= Grad 3

Das Ausmaß der mucösen Degeneration wurde mit Hilfe der Alcianblau-PAS-Färbung ermittelt, da sich Gewebe mit zunehmender Degeneration intensiv türkis-blau anfärbt (s. Abb. 7).

Abb. 7: Mucöse Degeneration der BS unterschiedlichen Ausmaßes (AlciPAS)

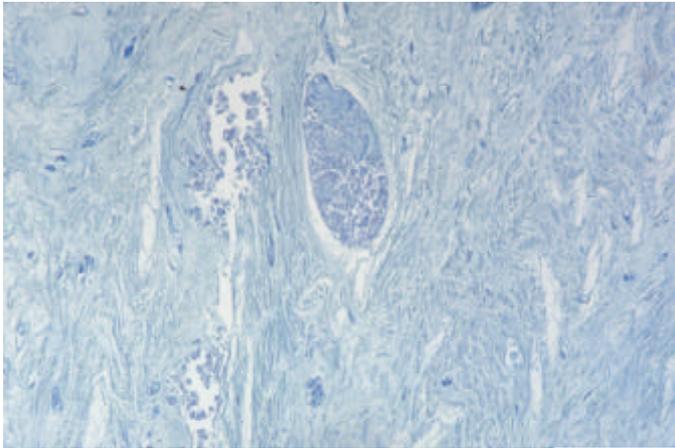


Bild 1

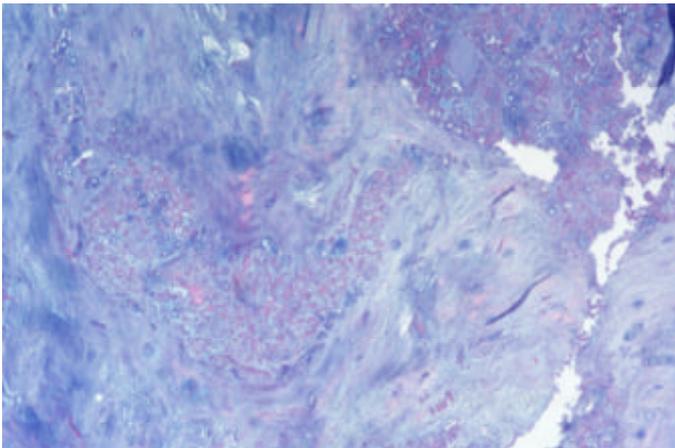


Bild 2

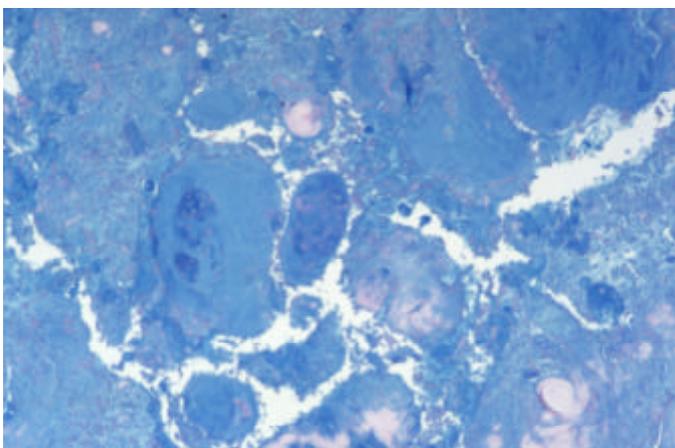


Bild 3

Bild 1= Grad 1

Bild 2= Grad 2

Bild 3= Grad 3

Unter konzentrischen Rissen sind Reißbildungen im Faserverlauf von Nucleus oder Anulus zu verstehen, unter radiären Spalten solche, die entgegen der Faserrichtung verlaufen (s. Abb. 8). Dabei ist zu beachten, daß es bei der Aufbereitung des Gewebematerials häufig zu artefiziellen Gewebsrisen kommt, die jedoch im Gegensatz zu den echten Rissen häufig glatte, scharfkantige Ränder aufweisen und zumeist keine Gewebereaktion im angrenzenden Gewebe zeigen.

Abb. 8: Risse und Spalten der BS unterschiedlichen Ausmaßes (Bild 1: HE, Bild 2-4 AlciPAS)



Bild 1

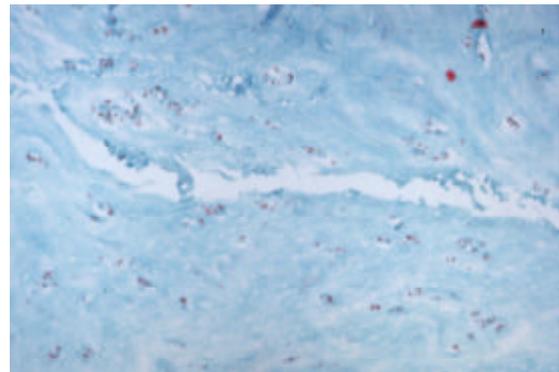


Bild 2

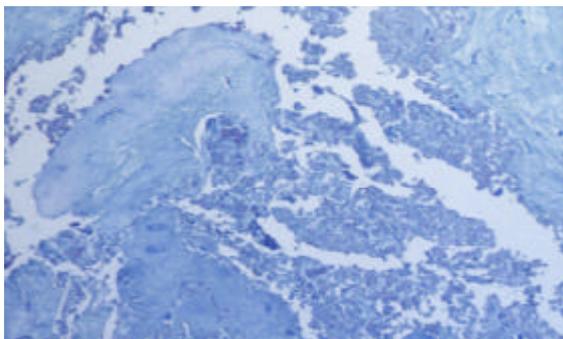


Bild 3

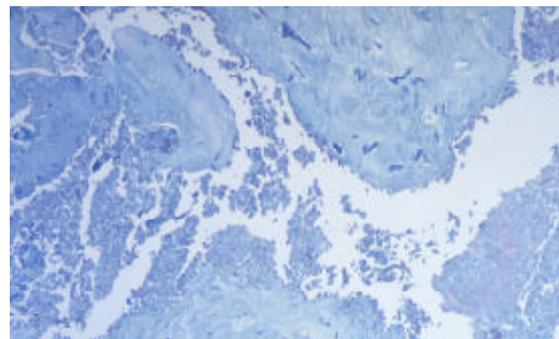


Bild 4

Bild 1= Grad 0

Bild 2= Grad 1

Bild 3= Grad 3

Bild 4= Grad 3

Zusätzlich wurde vermerkt, ob im äußeren Anulus nahe der Ansatzstelle der anulären Fasern am Knochenrand oder parallel zur Endplatte Randläsionen in Form von Einrissen zu finden waren und hier auch eine Gefäßneubildung stattgefunden hatte.

Des Weiteren wurde auf Reste der Notochorda im Nucleus geachtet.

Die Untersuchung der Endplatte richtete sich auf drei Bereiche:

Anteriores Drittel, zentrale Endplatte und posteriores Drittel, dabei getrennt für die craniale und caudale Endplatte. Auf ihre Tauglichkeit als Indikator für degenerative Veränderungen der Endplatte wurden folgende Parameter geprüft:

- strukturelle Desorganisation der Endplatte
- Zellproliferation
- Spaltbildungen
- Mikrofrakturen
- Gefäßneubildung
- Knochenneubildung
- Narbenbildung
- Knochensklerose
- physiologische Vaskularisation
- Gefäßverödung.

Die strukturelle Desorganisation der Endplatte war charakterisiert durch eine herdförmige Desorganisation der knöchernen Matrix mit Zusammenballen von Chondrozyten (s. Abb. 9).

Abb. 9: Strukturelle Desorganisation der EP unterschiedlichen Ausmaßes

(Bild 1,3 und 4 AlciPAS; Bild 2 HE)

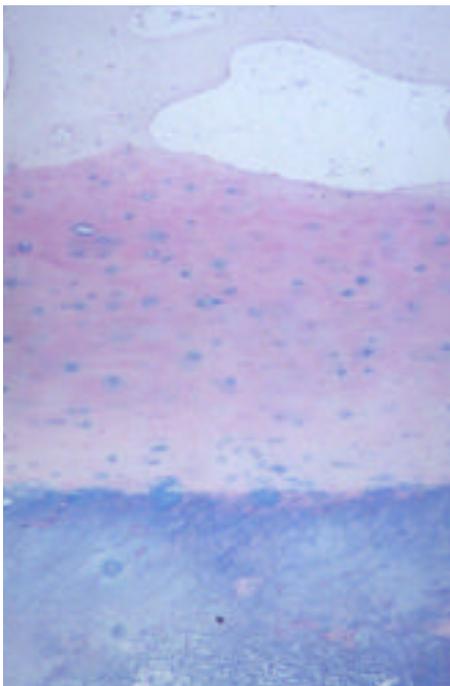


Bild 1

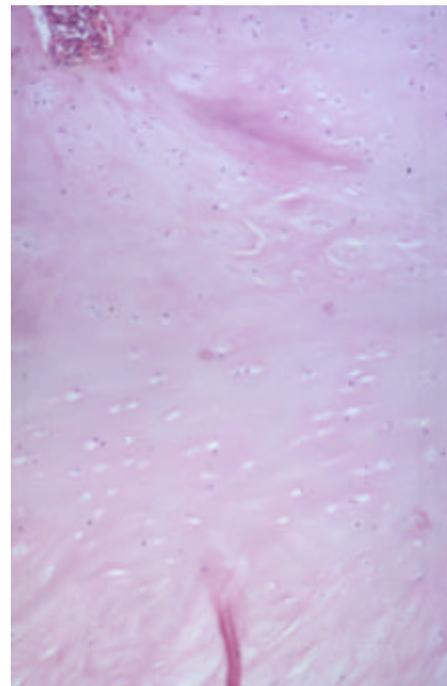


Bild 2

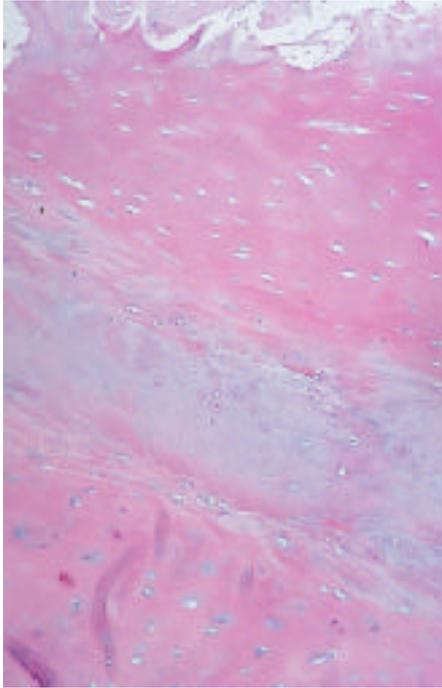


Bild 3

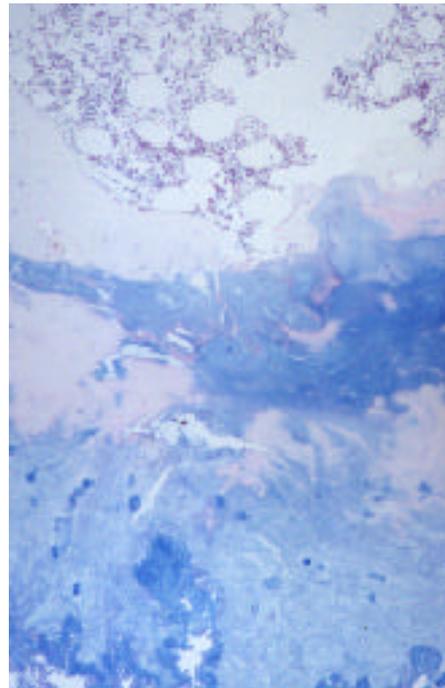


Bild 4

Bild 1= Grad 0

Bild 2= Grad 1

Bild 3= Grad 2

Bild 4= Grad 3

Die Zellproliferation richtete sich nach der Anzahl der Zellen (Chondrozytencluster) (s. Abb. 10).

Abb. 10: Zellproliferation der EP unterschiedlichen Ausmaßes (AlciPAS)

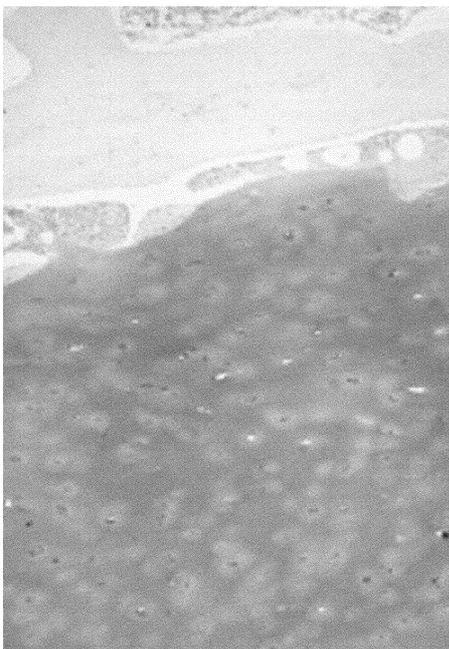


Bild 1

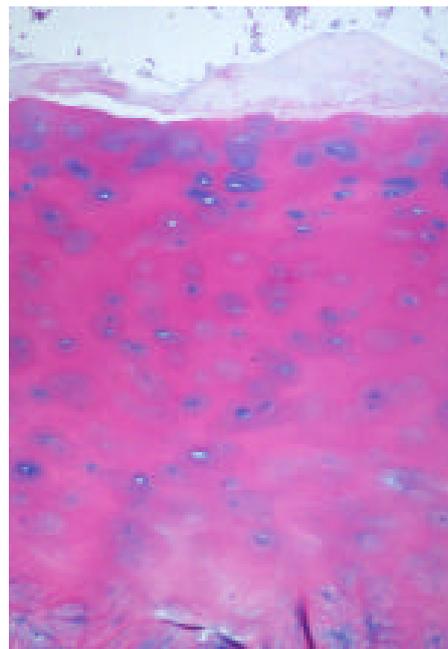


Bild 2

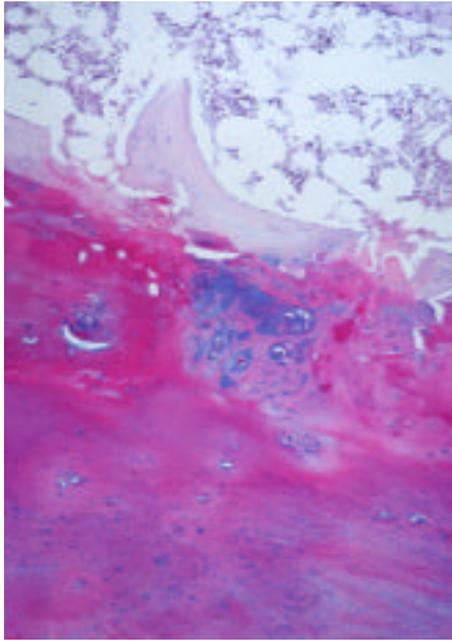


Bild 3

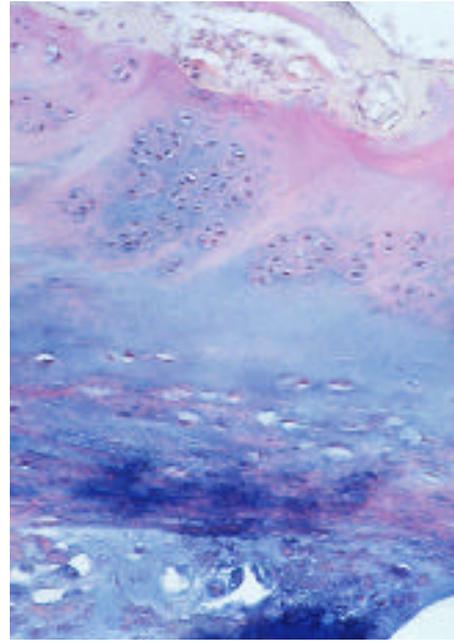


Bild 4

Bild 1= Grad 1

Bild 2= Grad 2

Bild 3= Grad 2

Bild 4= Grad 3

Unter Spaltbildungen sind Risse in der Endplatte zu verstehen (s. Abb. 11).

Abb. 11: Spaltbildungen der EP unterschiedlichen Ausmaßes (AlciPAS)

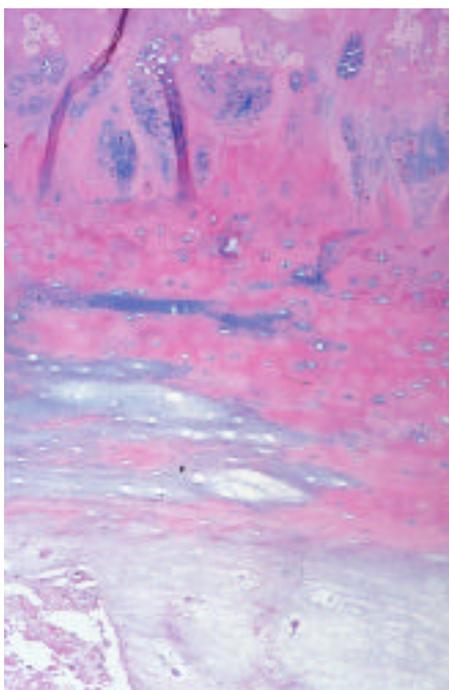


Bild 1

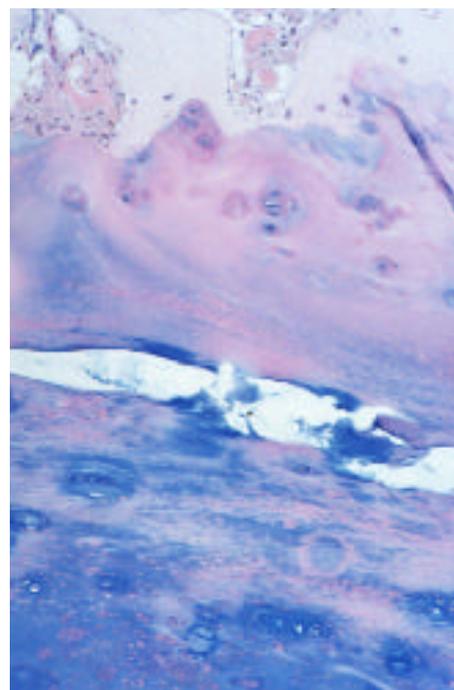


Bild 2

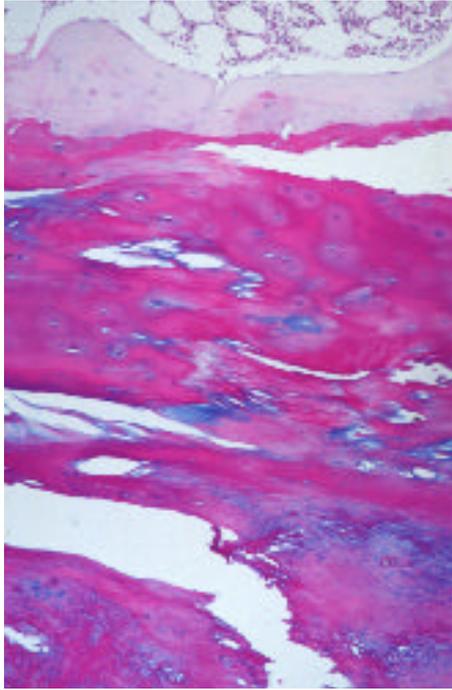


Bild 3

Bild 1= Grad 1

Bild 2= Grad 2

Bild 3= Grad 3

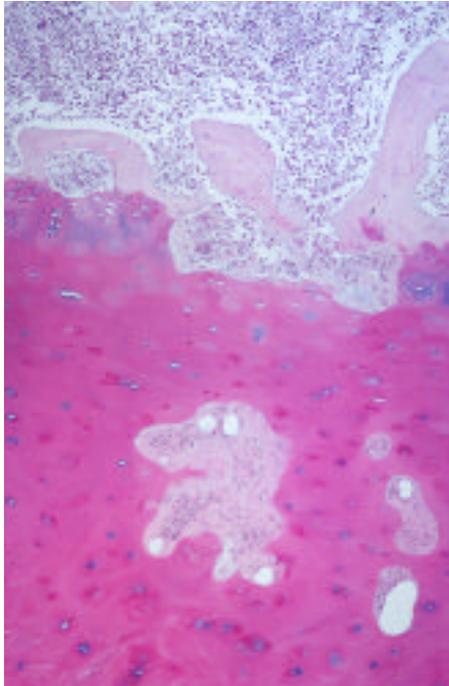
Mikrofrakturen der Endplatte waren charakterisiert durch eine Unterbrechung im subchondralen Knochen (s. Abb. 12).

Abb. 12: Mikrofraktur der EP (AlciPAS)



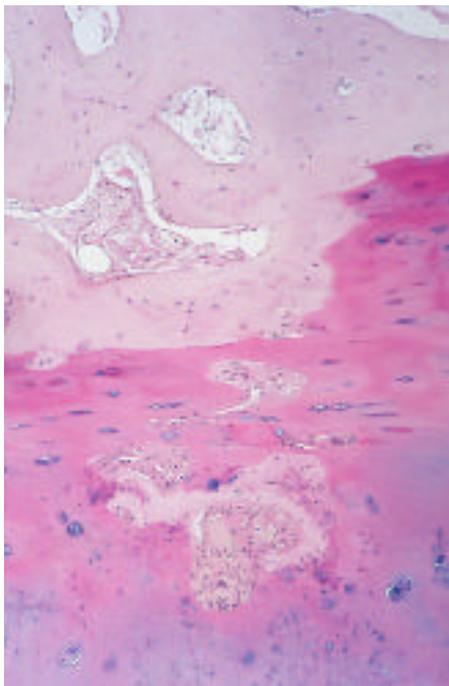
Gefäßneubildungen der Endplatte waren an die Anwesenheit von aus dem Knochenmark in den Endplattenknorpel einwachsenden Gefäßen gebunden (s. Abb.13).

Abb. 13: Gefäßneubildung der EP (AlciPAS)



Von einer Knochenneubildung konnte man ausgehen, wenn Knocheninseln im Knorpel vorhanden waren (s. Abb.14).

Abb. 14: Knochenneubildung der EP (im Bild unten; AlciPAS)



Da die Verödung der physiologischerweise in den ersten Lebensjahren noch offenen Gefäße der Endplatte ein möglicher Grund für die strukturelle Desorganisation der Endplatten sein könnte, wurden die Parameter physiologische Vaskularisation und (Reste einer) Gefäßverödung in die Liste mit aufgenommen (s. Abb.15).

Abb. 15: Physiologische Vascularisation der EP (Bild 1, HE),
Reste eines verödeten Gefäßes der EP (Bild 2, HE)

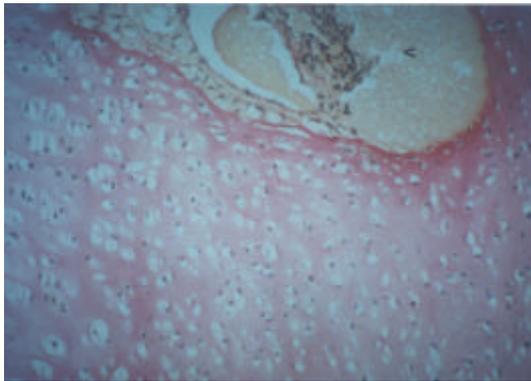


Bild 1

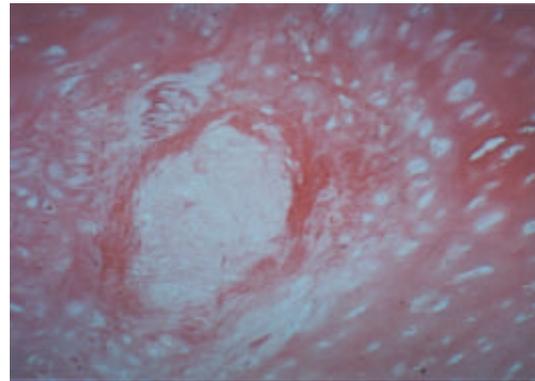


Bild 2

Außer den Parametern Mikrofraktur, physiologische Vaskularisation und Gefäßverödung, bei denen nur das Vorhandensein berücksichtigt wurde (0= nicht vorhanden, 1= vorhanden), wurden alle weiteren Parameter, wie oben beschrieben, in drei Grade eingeteilt.

4.4. Datenauswertung

Die aus den Autopsien gewonnenen Bandscheiben wurden in eine Untersuchungsgruppe (n = 150) und eine Testgruppe (n = 30) unterteilt. Es wurden zehn Altersgruppen, basierend auf zuvor aus der Literatur bereits abgeleiteten, theoretischen Grundkenntnissen und der Gruppenhäufigkeit der Bandscheibenproben, festgelegt (Feten, 0.-1. Lebensmonat, 1.-2. Lebensjahr, 3.-10. Lebensjahr, 11.-16. Lebensjahr, 17.-20. Lebensjahr, 21.-30. Lebensjahr, 31.-50. Lebensjahr, 51.-70. Lebensjahr, >70 Lebensjahre).

Die Analyse der Daten erfolgte in drei Schritten:

- 1) Die Trainingsproben wurden - wie oben beschrieben - auf das Vorhandensein und die Ausprägung der unterschiedlichen histologischen Kriterien in der Bandscheibe und Endplatte durchgesehen. Variationen der Ausprägung der histologische Veränderungen wurden im Hinblick auf Alterskategorien, Bandscheibendegeneration, Bandscheibenlevel und den unterschiedlichen Regionen innerhalb der Bandscheibe mit Hilfe der univariaten ANOVA-Analyse untersucht. Die einfachen Beziehungen zwischen den histologischen Variablen und der makroskopischen Ausprägung der Bandscheibendegeneration zum einen und den Altersgruppen zum anderen wurden mit Hilfe des Spearman – Korrelationstestes untersucht. Um die Zuverlässigkeit der histologischen Beurteilung der Proben zwischen den Untersuchern zu testen, wurden 50 nach dem Zufallprinzip ausgewählte Proben von 2 Untersuchern (Sabine Weißbach und Prof. Andreas Nerlich) nochmals unabhängig auf 5 Kriterien in der Bandscheibe (Chondrozytenproliferation, mucöse Degeneration, Zelluntergänge, Riß- und Spaltbildung, granuläre Veränderungen) und 6 Kriterien in der Endplatte (Zellproliferation, Knorpeldesorganisation, Spaltbildungen, Mikrofraktur, Knochenneubildung, Knochensklerose) durchgesehen. Diese wurden später auch für das Klassifikationssystem verwendet. Daraus wurden dann die prozentuale Übereinstimmung und der Kappa-Wert ermittelt.
- 2) Auf der Grundlage dieser Auswertungen wurde ein System zur Klassifizierung histologischer Variablen entwickelt, welches sowohl auf aus Autopsien gewonnene Proben als auch zukünftig auf operativ gewonnenes Bandscheibenmaterial angewandt werden kann. Dabei wurden anhand der Ergebnisse aus den unter 1) aufgeführten Untersuchungen fünf Kriterien für die Bandscheibe (Chondrozytenproliferation, mucöse Degeneration, Zelluntergänge, Riß- und Spaltbildung, granuläre Veränderungen) und sechs Kriterien für die Endplatte (Zellproliferation, Knorpeldesorganisation, Spaltbildungen, Mikrofraktur, Knochenneubildung, Knochensklerose) festgelegt. Die ermittelten Gradeinteilungen der einzelnen Merkmale wurden zu einem Score zusammengezählt. Radiäre und konzentrische Risse wurden jedoch zuvor zu einem Kriterium „maximale Riß- und Spaltbildung“ zusammengefaßt.
- 3) Die Test-Proben (n = 30) wurden dann von zwei weiteren, unabhängigen Pathologen (dies wurde freundlicherweise von Dr. Helmuth Rohrbach, Institut für Pathologie, Krankenhaus München-Bogenhausen und Dr. Christoph Weiler, Pathologisches Institut der Universität München übernommen), welche nicht an der Entstehung des Klassifikationssystems beteiligt

waren, beurteilt. Die Zuverlässigkeit zwischen den Untersuchern wurde daraufhin wieder mittels prozentualer Übereinstimmung und Kappa-Statistik ermittelt. Die entstandenen histologischen Scores wurden dann nochmals mit den Altersgruppen und den makroskopisch festgelegten Degenerationsgraden verglichen. Entsprechend Landis et al (1977) wurde der Grad der Übereinstimmung wie folgt bewertet: Ein Kappa-Wert zwischen 0 und 0,2 sprach für geringe Übereinstimmung, zwischen 0,21 und 0,4 für mäßiggradige Übereinstimmung, zwischen 0,41 und 0,60 für mittelgradige Übereinstimmung, zwischen 0,61 und 0,8 für starke Übereinstimmung und oberhalb 0,81 für ausgezeichnete Übereinstimmung. Absolute Übereinstimmung entspräche dem Wert 1,0 .

Tab. 3: Protokollblatt zur histologischen Analyse

HISTOLOGISCHE ANALYSE						
(0 = nicht, 1 = mild, 2 = mittel, 3 = stark ausgeprägt)						
(0 = vorhanden, 1 = nicht vorhanden)						
Fall-NR:						
Level:						
	Anulus ant./außen	fibrosus ant./innen	Nucleus	pulposus	Anulus post./innen	fibrosus post./außen
Chondrozytenproliferation (0 = normal, 1 = Proliferation, 2 = Chondron, 3-5 = Cluster)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>
Zelluntergänge (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>
granuläre Matrixveränderungen (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>
Konzentrische Risse (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>
radiäre Spalten (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>
Narbenbildung (0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		<input type="text"/>	<input type="text"/>
Randläsionen (0;1)	<input type="text"/>					<input type="text"/>
Gefäßneubildungen in den Ecken (0;1)	<input type="text"/>					<input type="text"/>
Notochordazellen (0;1)			<input type="text"/>			
Endplatte						
		obere EP			untere EP	
	anterior	zentral	posterior	anterior	zentral	posterior
Disorganisation (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Zellproliferation (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Spaltbildung (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Mikrofraktur (0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Gefäßneubildung (0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Knochenneubildung(0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Narbenbildung (0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Knochensklerose (0-3)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
physiolog. Vaskularisation (0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
verödete Gefäße (0;1)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

5. Ergebnisse

5.1. Semiquantitative Untersuchung histologischer altersabhängiger Bandscheiben- und Endplattenveränderungen

Die Analysen (Untersuchungsgruppe) basieren auf 150 vollständigen Schnitten lumbaler Bandscheibenbewegungssegmente (Bandscheibe, benachbarte Endplatte mit Wirbelkörpern) von 43 Leichen (14 Frauen, 29 Männer). Es wurden fünf Regionen der Bandscheibe (d.h. vorderer äußerer und vorderer innerer Anulus, Nucleus pulposus, hinterer innerer und hinterer äußerer Anulus) und die sechs Regionen der Endplatte (d.h. vorderes, mittleres und hinteres Drittel der oberen und unteren Endplatte) unterschieden. Das gesamte Altersspektrum von der Fetalperiode bis zum Alter von 86 Jahren konnte abgedeckt werden. Die Verteilung der Bandscheibenlevel war wie folgt: L1/2 (n = 31), L2/3 (n = 27), L3/4 (n = 31), L4/5 (n = 29) und L5/S1 (n = 32). Bei der makroskopischen Beurteilung der Bandscheiben wurde 48-mal Degenerationsgrad I, 47-mal Grad II, 37-mal Grad III, 11-mal Grad IV und 7-mal Grad V ermittelt.

Die verwendeten histologischen und makroskopischen Variablen für diese Untersuchung sind in Tabelle 4 nochmals aufgeführt.

Tab. 4: Variablen der makroskopischen und histologischen Untersuchung

Makroskopisches Erscheinungsbild der Bandscheibe	
Makroskopische Beurteilung (Bandscheibe, EP und angrenzender Wirbelkörper)	Grade I: normale jugendliche Bandscheibe Grad II: normale Bandscheibe eines Erwachsenen Grade III: leichte Bandscheibendegeneration Grade IV: mäßiggradige Bandscheibendegeneration Grade V: schwere Bandscheibendegeneration
Histologische Beurteilungskriterien	
<u>Zelldichte (Chondrozytenproliferation):</u> Mehrere Chondrozyten wachsen in kleinen rundlichen Gruppen oder Haufen, welche sich durch einen Rand aus territorialer Matrix scharf von ihrer Umgebung abgrenzen.	0=keine Proliferation, 1=vermehrte Zelldichte, 2=Vereinigung zweier Chondrozyten, 3=kleine Klone (einige Chondrozyten schließen sich zusammen, 3-7 Zellen), 4=mittelgroße Klone (8-15 Zellen), 5= große Klone (>15 Zellen)
<u>Granuläre Veränderungen:</u> Eosinophile amorphe Granula innerhalb der faserig-knorpeligen Matrix.	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Mucöse Degeneration:</u> Starke Ablagerung mit Alci-PAS blau gefärbter saurer Mucopolysaccharide (z.B. schwefelhaltige Glucosaminoglycane) in Form von zystischen, ovalen oder unregelmäßigen Arealen.	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Gefäßneubildungen am Rande der BS:</u> Neu gebildete Blutgefäße zu Reperaturzwecken	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Randläsionen:</u> An die Endplatte angrenzende radiale Risse	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Konzentrische Risse:</u> Dem Kollagenfaserverlauf des Anulus fibrosus folgende Einrisse.	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Radiale Risse:</u> Radial verlaufende Gewebsdefekte breiten sich vom Nucleus pulposus bis zu den äußeren Anulusfasern parallel oder schräg zur Endplatte verlaufend aus (Spaltbildungen).	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Narbenbildung:</u> Amorphes fibrotisches Gewebe ohne jegliche Differenzierung	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Gewebsdefekte:</u> Unterbrechung der Kontinuität des Gewebes (z.B. durch Materialaufbereitung entstanden, z.B. durch Resorption von Gewebe, welches in vivo wahrscheinlich mit Flüssigkeit gefüllt ist).	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Zellen der Notochorda:</u> Embryonale Bandscheibenzellen	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Zelltod:</u> Verblässen der Zellen nach dem Untergang	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
Endplatte	
<u>Strukturelle Desorganisation</u> Herdförmige Desorganisation der knorpeligen Matrix mit Zusammenballen von Chondrozyten	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Spaltbildungen</u> Risse in der Endplatte	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Mikrofraktur</u> Unterbrechung der subchondralen Knochenstruktur	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Gefäßneubildung</u> Vom Knochenmark in die Endplatte vordringende Gefäße in Verbindung mit Mikrofrakturen	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Knochenneubildung</u> Knocheninseln im Knorpel	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Narbenbildung</u> Amorphes fibrotisches Gewebe ohne jegliche Differenzierung	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Gewebsdefekte:</u> Unterbrechung der Kontinuität des Gewebes (z.B. durch Materialaufbereitung entstanden, z.B. durch Resorption von Gewebe, welches in vivo wahrscheinlich mit Flüssigkeit gefüllt ist).	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Zelldichte</u> Anzahl an Zellen (Chondrozytencluster)	0=nicht vorhanden, 1=gering vorhanden, 2=mengenmäßig zwischen Ausprägung 1 und 3, 3= reichlich vorhanden
<u>Knochenklerose</u> Vermehrte Knochenbildung im Bereich der Endplatte	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Physiologische Gefäße</u> Vorhandensein von Gefäßen in der Endplatte, welche bis zum Jugendalter obliterieren.	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden
<u>Obliterierte Gefäße</u> Verödete physiologische Gefäße	0=nicht vorhanden, 1=vorhanden

5.1.1. Variation histologischer Kriterien bezogen auf Bandscheibenlevel, Region, makroskopischen Degenerationsgrad und Altersgruppen

5.1.1.1. Variation histologischer Kriterien bezogen auf den Bandscheibenlevel

Alle histologisch beurteilten Kriterien korrelierten für den Bereich der Bandscheibe nicht signifikant mit den verschiedenen Bandscheibenleveln (univariate ANOVA-Analyse).

Bei der Endplatte zeigten lediglich die Kriterien: Spaltbildungen ($p=0,005$) und Knochenneubildung ($p=0,025$) eine signifikante Korrelation mit dem Bandscheibenlevel (univariate ANOVA-Analyse), (s. Tab. 5, Seite 41).

5.1.1.2. Variation histologischer Kriterien bezogen auf die Region

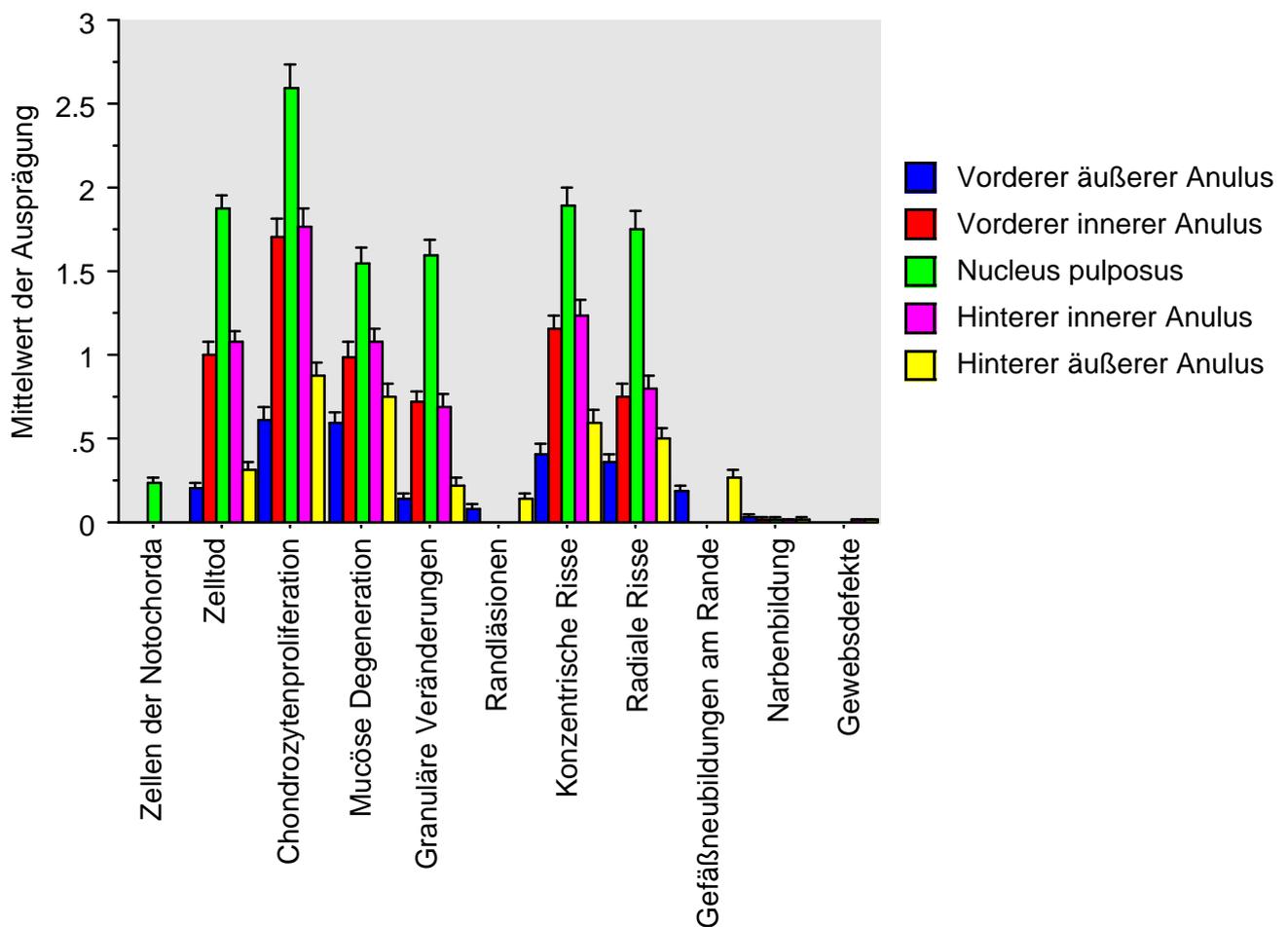
Mit Hilfe der univariaten ANOVA-Analyse konnte eine hoch-signifikante Korrelation ($p<0,0001$) zwischen den unterschiedlichen Regionen innerhalb der Bandscheibe und allen histologischen Kriterien, außer der Narbenbildung, gefunden werden (s. Tab. 5, Seite 41). Anhand der graphischen Darstellung der unterschiedlichen regionalen Verteilung der histologischen Kriterien (s. Abb. 16A) kann man deutlich sehen, daß die Veränderungen, die in allen Regionen der Bandscheibe vorkommen (Zelltod, Chondrozytenproliferation, mucöse Degeneration, granuläre Veränderungen, konzentrische und radiale Risse) im Nucleus pulposus am ausgeprägtesten sind. Nicht ganz so deutlich zeigt sich bei diesen Kriterien eine leichte Zunahme der Ausprägung im hinteren Bandscheibenbereich im Vergleich zu den vorderen Regionen. Davon ausgenommen sind die granulären Veränderungen, die im inneren vorderen Anulusbereich etwas ausgeprägter sind. Randläsionen und Gefäßneubildungen am Rande, welche definitionsgemäß nur im äußeren Anulus vorkommen, sind im hinteren Bereich etwas häufiger als im vorderen. Zellen der Notochorda fanden sich überhaupt nur im Nucleus pulposus. Bei der Narbenbildung und den Gewebdefekten lassen sich graphisch keine auffälligen Unterschiede ableiten, da diese Veränderungen nur in sehr wenigen Bandscheiben vorhanden waren und deshalb keine Aussagen zulassen.

Bei den Endplatten zeigte sich rechnerisch bei allen Kriterien, außer der Narbenbildung ($p=0,286$) und der Gewebdefekte ($p=0,315$), welche nicht signifikant korrelierten, eine hochsignifikante Korrelation mit den unterschiedlichen Endplattenregionen (univariate ANOVA-Analyse) (s. Tab. 5 Seite 41).

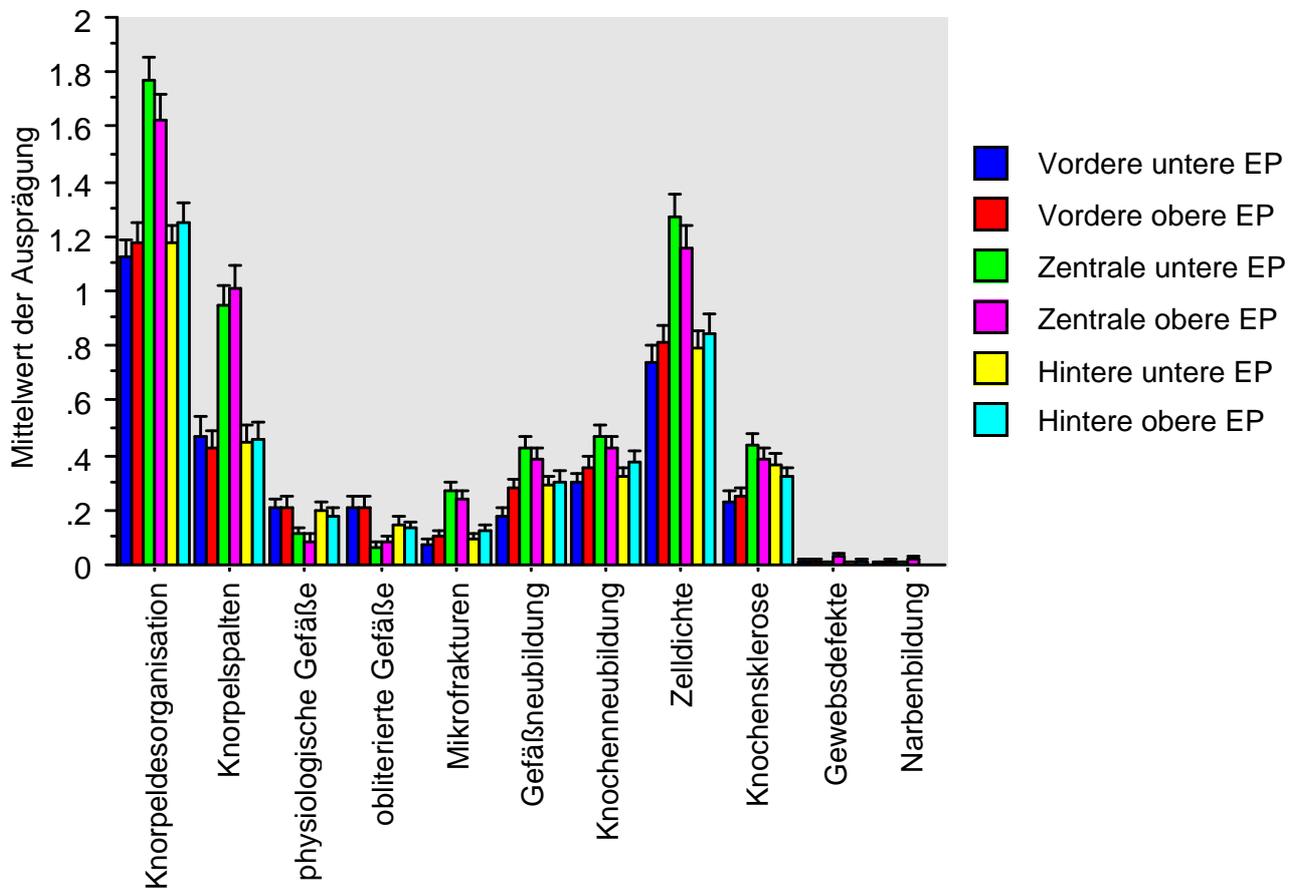
Anhand der graphischen Darstellung (s. Abb. 16B) sieht man, daß - abgesehen von der Gefäßverödung und der physiologischen Gefäßversorgung - die histologischen Degenerationsmerkmale im zentralen Bandscheibenbereich passend zu den Beobachtungen in der Bandscheibe am ausgeprägtesten sind. Bei den übrigen Kriterien findet sich jedoch nur tendentiell eine Verstärkung der Ausprägung im hinteren Bereich der Endplatte. Ausgenommen hiervon ist die Knochensklerose, die eindeutig im hinteren Bereich stärker ausgeprägt ist. Auffällig scheint noch, daß die physiologischen und später verödeten Gefäße im vorderen Bereich der Endplatte häufiger als im hinteren Bereich sind.

Abb. 16: Regionale Variation histologischer Variablen (Mittelwert und Standardabweichung der Mittelwerte) für die BS (A) und EP (B).

16 A



16 B



5.1.1.3. Variation histologischer Kriterien bezogen auf den makroskopischen Degenerationsgrad

Im Bereich der Bandscheibe korrelierten rechnerisch alle histologischen Kriterien, abgesehen von der Narbenbildung ($p=0,061$), hoch-signifikant mit den verschiedenen makroskopisch ermittelten Degenerationsgraden (univariate ANOVA-Analyse) (s. Tab. 5 Seite 41).

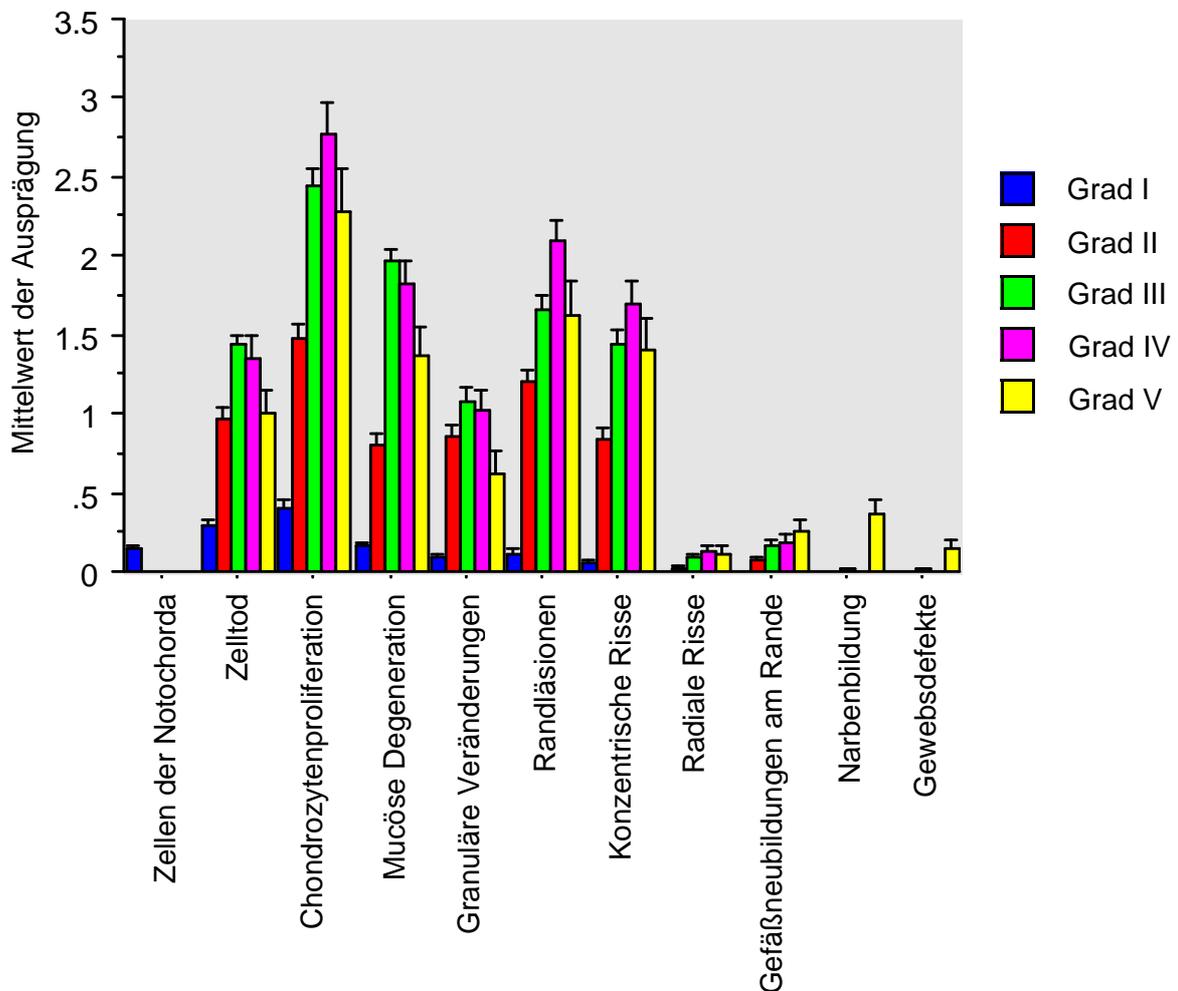
Aus der graphische Darstellung (s. Abb. 17A) läßt sich jedoch ableiten, daß sich die makroskopischen Grade der Bandscheibendegeneration unterschiedlich auf die einzelnen Kriterien verteilen.

Bei den Endplatten fanden sich positiv signifikante Korrelationen zwischen allen Kriterien, außer wiederum der Narbenbildung ($p=0,061$) und den verschiedenen makroskopischen Degenerationsgraden (univariate ANOVA-Analyse) (s. Tab. 5, Seite 41).

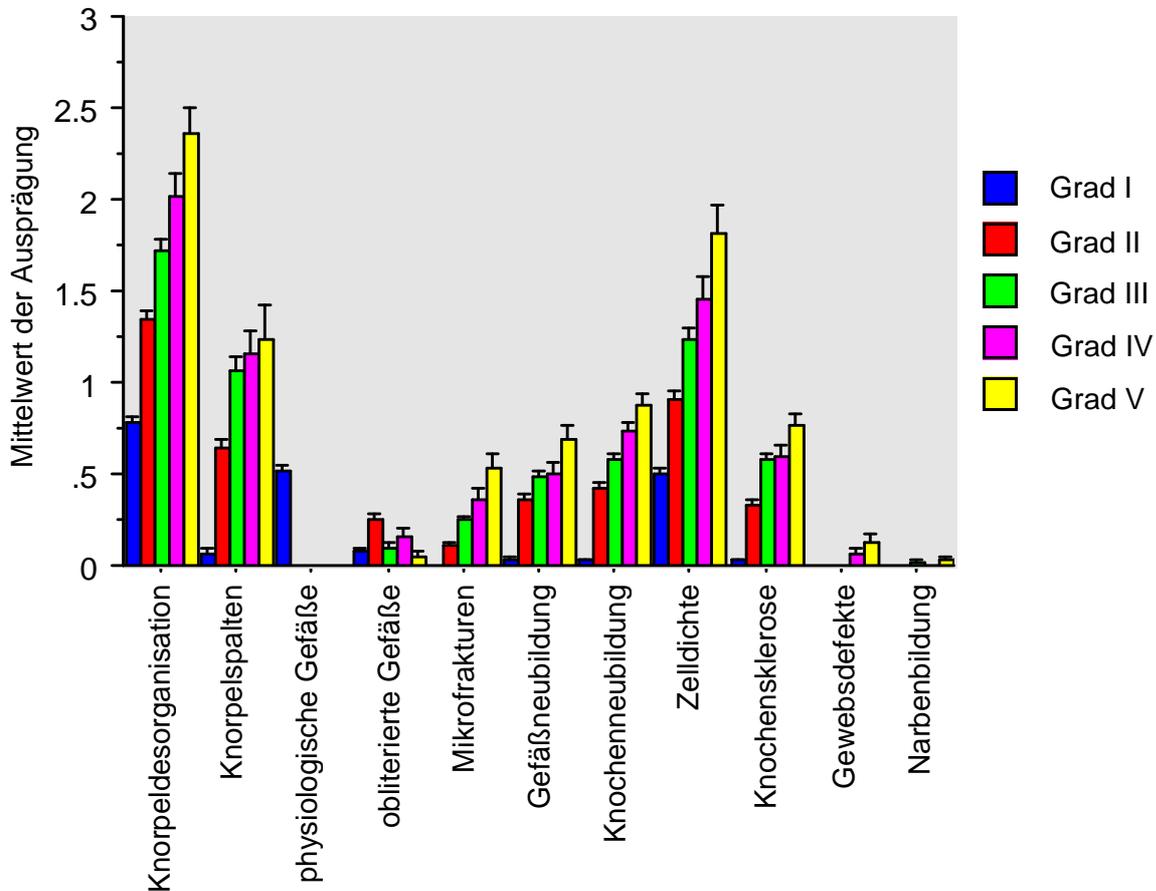
Die graphische Darstellung (s. Abb. 17B) zeigt, daß der Degenerationsgrad V bei allen positiv signifikant korrelierenden Kriterien, außer der Gefäßverödung und der physiologischen Gefäße am häufigsten vertreten war mit absteigender Häufigkeit von Grad VI zu Grad I. Nur bei Grad I zeigten sich physiologische Gefäße, da diese nur bei Kindern vorhanden sind und diese Bandscheiben kaum degenerative Veränderungen zeigen.

Abb. 17: Variation der histologischen Variablen bezogen auf die makroskopischen Degenerationsgrade (Mittelwert und Standardabweichung der Mittelwerte) für die BS (A) und EP (B).

17 A



17 B



5.1.1.4. Variation histologischer Kriterien bezogen auf die Altersgruppen

Bei allen Altersgruppen zeigen sich sowohl bei den Bandscheiben als auch den Endplatten hochsignifikante positive Korrelationen mit allen Kriterien, außer der Narbenbildung ($p=0,444$) und Gewebsdefekte ($p=0,913$), innerhalb der Bandscheiben und ebenso der Narbenbildung ($p=0,444$) und Gewebsdefekte ($p=0,910$) bei den Endplatten (univariate ANOVA-Analyse) (s. Tab. 5, Seite 41 und Abb. 18A und B).

Die zeitlichen Schwankungen der histologischen Merkmale im Hinblick auf Bandscheibende-
generation ist ausführlich in Kapitel 5.1.3. beschrieben.

Abb. 18A: Zeitliche Variation der histologischen Merkmale für die Bandscheibe.

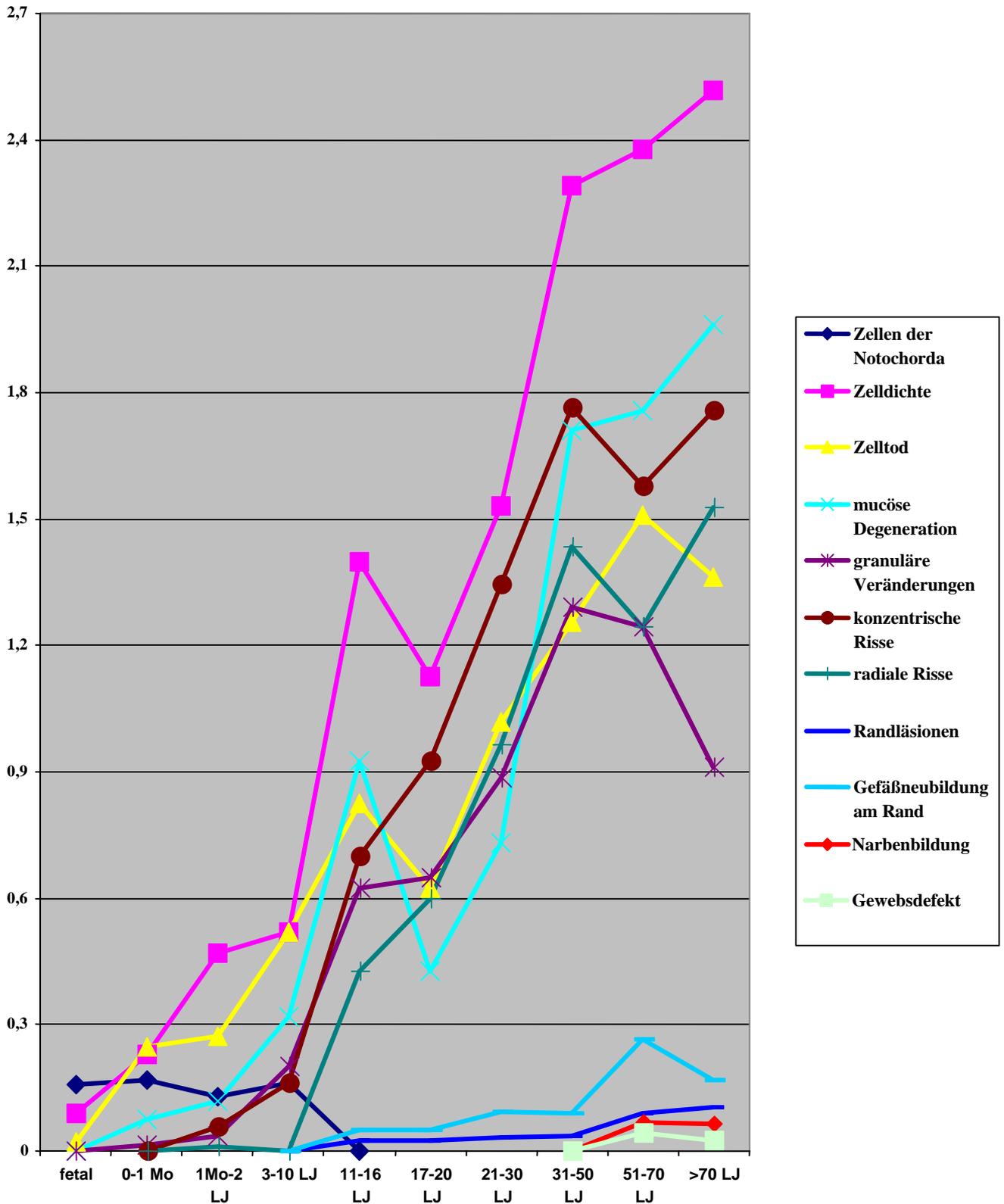
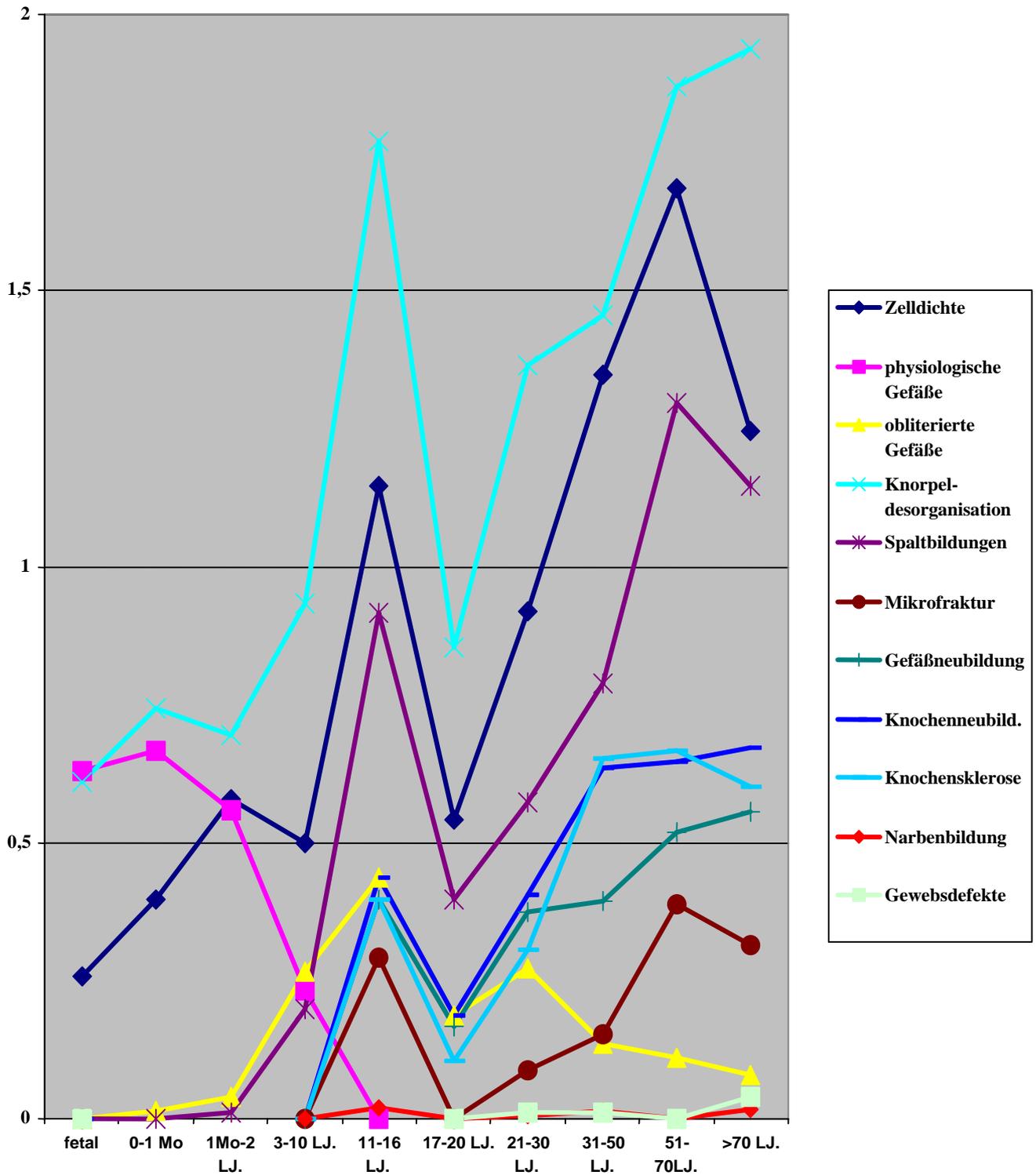


Abb. 18B: Zeitliche Variation der histologischen Merkmale für die Endplatte.



Tab. 5: Ergebnisse der univariaten ANOVA-Analyse für altersabhängige histologische Veränderungen der BS und EP (n=150) in Bezug auf den Bandscheibenlevel, die Region, den makroskopischen Degenerationsgrad und die Altersgruppen.

Kriterium	Bandscheibe				Kriterium	Endplatte			
	BS-level	Region	deg. Grad (I-V)	Altersgruppe (0-9)		BS-level	Region	deg. Grad (I-V)	Altersgruppe (0-9)
Zelldichte	F=2.320 p=0.061	F=78.810 p<0.0001	F=47.200 p<0.0001	F=22.180 p<0.0001	strukturelle Desorga.	F=1.270 p=0.288	F=14.770 p<0.0001	F=20.020 p<0.0001	F=10.120 p<0.0001
Granuläre Veränd.	F=1.980 p=0.103	F=61.930 p<0.0001	F=27.660 p<0.0001	F=14.890 p<0.0001	Spaltbildung	F=3.940 p=0.005	F=24.600 p<0.0001	F=14.520 p<0.0001	F=6.550 p<0.0001
Mucöse Deg.	F=0.850 p=0.495	F=30.510 p<0.0001	F=41.070 p<0.0001	F=23.530 p<0.0001	Mikrofraktur	F=0.290 p=0.887	F=10.580 p<0.0001	F=13.260 p<0.0001	F=5.970 p<0.0001
Gefäßneub. (BS-Rand)	F=1.090 p=0.367	F=27.530 p<0.0001	F=12.160 p<0.0001	F=6.310 p<0.0001	Gefäßneubildung	F=1.480 p=0.215	F=8.560 p<0.0001	F=14.130 p<0.0001	F=6.980 p<0.0001
Randläsionen	F=0.270 p=0.898	F=15.780 p<0.0001	F=12.620 p<0.0001	F=4.910 p=0.0003	Knochenneubildung	F=2.920 p=0.025	F=4.960 p=0.0003	F=26.880 p<0.0001	F=11.660 p<0.0001
Konzentr. Risse	F=0.770 p=0.544	F=55.550 p<0.0001	F=40.700 p<0.0001	F=19.320 p<0.0001	Narbenewebe	F=1.070 p=0.377	F=1.250 p=0.286	F=2.400 p=0.061	F=1.020 p=0.444
Radiale Risse	F=0.650 p=0.625	F=46.570 p<0.0001	F=39.760 p<0.0001	F=22.590 p<0.0001	Gewebsdefekt	F=0.790 p=0.535	F=1.190 p=0.315	F=3.030 p=0.025	F=0.430 p=0.910
Narbenbildung	F=1.070 p=0.377	F=0.990 p=0.417	F=2.400 p=0.061	F=1.020 p=0.444	Zelldichte	F=0.350 p=0.843	F=14.300 p<0.0001	F=8.930 p<0.0001	F=3.330 p=0.005
Gewebsdefekt	F=0.770 p=0.544	F=1.340 p=0.256	F=3.080 p=0.023	F=0.420 p=0.913	Knochen-sklerose	F=0.510 p=0.726	F=8.720 p<0.0001	F=17.920 p<0.0001	F=9.130 p<0.0001
Zellen der Notochorda	F=2.350 p=0.059	F=14.020 p<0.0001	F=30.990 p<0.0001	F=15.070 p<0.0001	physiologische Gefäße	F=1.340 p=0.261	F=4.460 p=0.0007	F=45.040 p<0.0001	F=51.010 p<0.0001
Zelltod	F=0.480 p=0.754	F=119.430 p<0.0001	F=38.130 p<0.0001	F=21.990 p<0.0001	obliterierte Gefäße	F=0.770 p=0.548	F=5.430 p=0.0001	F=3.890 p=0.008	F=4.500 p=0.0006

5.1.2. Korrelation histologischer Kriterien mit makroskopischer Degeneration und den Altersgruppen

5.1.2.1. Korrelation histologischer Kriterien mit der makroskopischen Degeneration über allen Bandscheibenregionen

Es zeigte sich für alle histologischen Kriterien der Bandscheibe eine hoch-signifikante positive Korrelation ($p < 0,0001$) mit den makroskopischen Degenerationsgraden (Spearman-Korrelations-Test).

Ebenso korrelierten die meisten histologische Kriterien (außer dem Kriterium „verödete Gefäße“ ($p < 0,66$: nicht signifikant) und „Narbenbildung“ ($p < 0,02$: mäßige Signifikanz)) im Bereich der Endplatte hoch-signifikant ($p < 0,0001$) mit den makroskopischen Degenerationsgraden (Spearman-Korrelations-Test).

(s. Tab. 6)

5.1.2.2. Korrelation histologischer Kriterien mit den Altersgruppen über allen Bandscheibenregionen

Alle histologischen Kriterien der Bandscheibe korrelierten hoch-signifikant ($p < 0,003$ - $p < 0,0001$) mit den Altersgruppen (Spearman-Korrelations-Test).

Bei den Endplatten konnte eine hoch-signifikante Korrelation ($p < 0,0003$ - $p < 0,0001$) zwischen den histologischen Kriterien und den Altersgruppen, außer für die verödeten Gefäße ($p < 0,66$ =nicht signifikant) und die Narbenbildung ($p < 0,05$ =grenzwertige Signifikanz), festgestellt werden (Spearman-Korrelations-Test).

(s. Tab. 6)

Tab. 6: Spearman Korrelationskoeffizient und Signifikanzniveau zur Korrelation histologischer Kriterien versus makroskopische Degeneration und Alter in allen Bandscheibenregionen

Bandscheibe			Endplatte		
Kriterium	Makroskop. BS-degeneration	Altersgruppen (0-9)	Kriterium	Makroskop. BS-degeneration	Altersgruppen (0-9)
Chondrocytenproliferation	.592 <.0001	.606 <.0001	Strukturelle Desorganisation	.460 <.0001	.457 <.0001
Granuläre Veränderungen	.407 <.0001	.428 <.0001	Spaltbildungen	.487 <.0001	.482 <.0001
Mucöse Degeneration	.637 <.0001	.692 <.0001	Mikrofrakturen	.371 <.0001	.335 <.0001
Gefäßneubild. am BS-Rand	.257 <.0001	.241 <.0001	Gefäßneubildung	.427 <.0001	.451 <.0001
Randläsionen	.199 <.0001	.191 <.0001	Knochenneubildung	.540 <.0001	.535 <.0001
Konzentrische Risse	.598 <.0001	.617 <.0001	Zelldichte	.390 <.0001	.421 <.0001
Radiale Risse	.588 <.0001	.605 <.0001	Knochensklerose	.509 <.0001	.512 <.0001
Zellen der Notochorda	-.258 <.0001	-.263 <.0001	Physiologische Gefäße	-.549 <.0001	-.577 <.0001
Zelluntergänge	.450 <.0001	.493 <.0001	Obliterierte Gefäße	.015 <.66	.016 <.64
Narbenbildung	.231 <.0001	.172 <.0001	Narbenbildung	.079 <.02	.065 <.05
Gewebsdefekt	.145 <.0001	.112 <.003	Gewebsdefekt	.149 <.0001	.120 <.0003

5.1.3. Zeitliche und regionale Schwankungen der histologischen Merkmale im Hinblick auf Bandscheibendegeneration

Die zeitlichen und regionalen Schwankungen der histologischen Merkmale im Hinblick auf Bandscheibendegeneration können wie folgt zusammengefaßt werden (siehe dazu auch Abb.18 A und B, Seite 39 - 40):

Gruppe 0 (fetal, n = 9)

In den fetalen Bandscheiben wurden keine histologischen Abnormitäten gesehen. Jedoch konnten im Gegensatz zum hyalinen Gelenkknorpel leichte Unregelmäßigkeiten in den Endplatten beobachtet werden. Im Nucleus pulposus waren stellenweise noch reichlich Zellen der Notochorda vorhanden. Die fetalen Bandscheiben waren vaskularisiert durch dünnwandige, ekstatische Blutgefäße, welche die Endplatten zur Versorgung der Bandscheibe durchquerten.

Gruppe I (0-1 Monat alt, n = 13)

Bei den Bandscheiben Neugeborener gab es eine leichte Zunahme der Chondrozytendichte, die besonders im Nucleus pulposus zu beobachten war. Verglichen mit den fetalen Bandscheiben war das Tempo des Zelluntergangs gesteigert. Eine leichte mucöse Degeneration im Nucleus pulposus war bei 5 von 13 Fällen zu beobachten, in Verbindung mit einer Chondrozytenproliferation bei 6 von 13 Bandscheibenpräparaten. In den Endplatten nahm die Zelldichte und die Desorganisation des Knorpels im Vergleich zu den fetalen Bandscheiben zu.

Gruppe II (2 Monate bis 2 Jahre alt, n = 17)

In dieser Altersgruppe trat eine sehr leichte Spaltbildung innerhalb des Nucleus pulposus bei 4 von 17 Bandscheiben auf. Ebenso wurden erstmals granuläre Veränderungen im Nucleus pulposus bei 2 von 17 Schnitten gesehen. In der Endplatte zeigte sich eine Abnahme der Anzahl physiologischer Gefäße sowie eine zunehmende Anzahl von Regionen mit verödeten Gefäßen, wobei die Zelldichte insgesamt zunahm (Abb. 18 B). Dadurch kam es in der Struktur der Endplatte zur Desorganisation.

Gruppe III (3 -10 Jahre alt, n = 5)

Das Hauptmerkmal dieser Altersstufe war eine dramatische Verminderung physiologischer Gefäße in der Endplatte. Umgekehrt stieg die Anzahl von Bereichen mit verödeten Gefäßen. Mit wachsenden strukturellen Veränderungen der knorpeligen Endplatte sah man auch erste Rißbil-

dungen im Bereich des Knorpels. Dieser Prozeß war am ausgeprägtesten im zentralen Bereich der Endplatte. Hauptsächlich im Bereich des Nucleus pulposus war eine wesentliche Zunahme der Zelluntergänge, der Chondrozytenproliferation und granulärer Veränderungen zu beobachten.

Gruppe IV (11-16 Jahre alt, n = 8)

In dieser Altersgruppe konnten eindeutige Zeichen der Verschlechterung von strukturellen Gewebeeigenschaften beobachtet werden. Die wesentliche Zunahme der Zelluntergänge innerhalb der Bandscheibe war verbunden mit einer ausgeprägten Chondrozytenproliferation. Strukturelle Veränderungen in Form von radialen Einrissen und Spalten wurden nun reichlich gefunden. Diese Veränderungen waren am ausgeprägtesten im Bandscheibenzentrum. Zellen der Notochorda und physiologische Gefäße verschwanden ganz von der Bildfläche, dafür waren Bereiche mit verödeten Gefäßen am ausgeprägtesten in dieser Altersstufe. Spaltbildungen in der Endplatte wurden nun häufig gesehen. Parallel dazu zeigten sich häufig Mikrofrakturen des Knorpels zum angrenzenden Knochen hin, welche oft von einer Knochenneubildung begleitet wurden.

Gruppe V (17-20 Jahre alt, n = 8)

Verglichen mit Gruppe IV gab es eine stetige Zunahme von strukturellen Abnormitäten wie zunehmende Riß- und Spaltbildung in der gesamten Bandscheibe. Häufig fanden sich in der Nachbarschaft dieser Veränderungen Chondrozytenklone. Es kam jedoch offensichtlich (im Vergleich zum Vorstadium) zu einer Verminderung der Chondrozytenproliferation, der Zelluntergänge und der mucösen Degeneration, während andere Abnormitäten, wie granuläre Veränderungen, Riß- und Spaltbildungen immer noch an Ausdehnung und Häufigkeit zunahmten. Zum erstenmal wurden auch Randläsionen in dieser Altersgruppe gesehen. Die Befunde der Endplatte waren sehr ähnlich, jedoch weniger ausgeprägt wie in Altersgruppe IV.

Gruppe VI (21-30 Jahre alt, n = 32)

Diese Stufe war gekennzeichnet durch Zunahme aller histologischen Änderungen in der Bandscheibe und Endplatte. Granuläre Veränderungen, mucöse Degeneration, Riß- und Spaltbildungen sowie untergegangene Zellen wurden mit wachsender Häufigkeit und Ausdehnung beobachtet. Es fanden sich auch wenige Randläsionen, welche mit Gefäßneubildungen am Rande der Bandscheiben einhergingen. In der Endplatte waren die Veränderungen denen der jüngeren Altersgruppen sehr ähnlich, wobei der Grad der Ausprägung zunahm.

Gruppe VII (31-50 Jahre alt, n = 11)

Diese Stufe war von einer wachsenden Häufigkeit und Ausdehnung von Veränderungen sowohl in der Endplatte als auch in der Bandscheibe geprägt. Am ausgeprägtesten waren dabei die Zellproliferation, mucöse Degeneration der extrazellulären Matrix, granuläre Veränderungen in der Bandscheibe sowie die strukturelle Desorganisation der Endplatte.

Gruppe VIII (51-70 Jahre alt, n = 9)

In dieser Altersstufe waren die Veränderungen am deutlichsten ausgeprägt. Benachbart zu ausgedehnten Rissen und Spalten fanden sich riesige Klone hypertrophierter Chondrozyten, welche auf die starke Zellproliferation hinwiesen. Risse und Spalten waren mit granulärem Material angefüllt. Die Gefäßneubildungen im Bereich des Bandscheibenrandes waren in dieser Altersstufe am ausgeprägtesten. In der Endplatte wurden zusätzlich Mikrofrakturen und eine Sklerosierung des Knochens gefunden. In einigen der Bandscheibenschnitte zeigten sich Narbenbildungen und fortgeschrittene Gewebszerstörungen, welche zu Gewebsdefekten führten.

Gruppe IX (> 70 Jahre alt, n = 38)

In den älteren Bandscheiben gingen die strukturellen Veränderungen mehr und mehr in Richtung Narbengewebe. In dieser Altersgruppe war häufig eine Unterscheidung der unterschiedlichen anatomischen Regionen nicht mehr möglich. Dadurch waren die einzelnen histologischen Merkmale, wie Risse und Spalten, Chondrozytenproliferation, granuläre Veränderungen, Zelltod und Gefäßneubildung am Bandscheibenrand weniger ausgeprägt. Im Bereich der Endplatte waren die Desorganisation des Knorpels und Knochenneubildung in etwa wie in Gruppe VIII.

5.1.4. Zuverlässigkeit der histologischen Beurteilung zwischen zwei Untersuchern

Aus der Gruppe der 150 für die histologischen Analysen verwendeten Bandscheibenbewegungsegmente wurden 50 per Zufallsprinzip ausgewählt und von 2 Untersuchern unabhängig auf die 5 Variablen in der Bandscheibe und 6 Variablen in der Endplatte durchgesehen, welche später auch für das Klassifikationssystem verwendet wurden.

Die Zuverlässigkeit zwischen den Untersuchern, welche für die Beurteilung der histologischen Merkmale ermittelt wurde, zeigte gute bis ausgezeichnete Übereinstimmung bei allen verwendeten histologischen Kriterien. Details der berechneten Zuverlässigkeit für die verschiedenen anatomischen Regionen innerhalb der Bandscheibe und der Endplatten sind in Tab. 7 wiedergegeben.

Tab. 7: Zuverlässigkeit der Übereinstimmung zwischen zwei unterschiedlichen Untersuchern bei der Beurteilung histologischer Merkmale der Bandscheibendegeneration (Prozentuale Übereinstimmung / gewichteter Kappa-Wert).

Kriterien	Bandscheibe (N=50, 5 Regionen)		
	Prozentuale Übereinstimmung	Kappa-Wert	Konfidenzintervall
Chondrozytenproliferation	80.8	0.871	0.836-0.907
Mucöse Degeneration	80.0	0.826	0.779-0.873
Granuläre Veränderungen	92.8	0.932	0.900-0.963
Risse/Spaltbildungen	94.4	0.955	0.931-0.978
Zelltod	82.8	0.786	0.726-0.846
	Endplatte (n=50, 6 Regionen)		
	Prozentuale Übereinstimmung	Kappa-Wert	Konfidenzintervall
Zelldichte	83.7	0.850	0.810-0.890
Strukt. Desorganisation	94.0	0.939	0.910-0.968
Spaltbildung	91.7	0.869	0.814-0.924
Mikrofraktur	96.0	0.846	0.761-0.930
Knochensklerose	92.2	0.787	0.705-0.870
Knochenneubildung	89.7	0.813	0.751-0.875

5.2. Ein Klassifikationssystem histologischer Veränderungen

5.2.1. Entwicklung

Auf der Grundlage der vorrausgehenden Analysen wurde ein Klassifikationssystem basierend auf den Korrelationskoeffizienten der Ergebnisvariablen, der Untersucherzuverlässigkeit und Praktikabilität entwickelt. Dabei wurden nur Kriterien verwendet, die auch in allen Bereichen der Bandscheibe bzw. Endplatte vorhanden waren. Das Klassifikationssystem ist in Tabelle 8 dargestellt. Die ermittelten Ausprägungen der einzelnen Kriterien wurden jeweils zu einem Score zusammengezählt, welcher für weitere Berechnungen verwendet wurde.

5.2.2. Prüfung der Zuverlässigkeit und Durchführbarkeit

Es wurden 30 Präparate von Bandscheiben für die Prüfung der Durchführbarkeit und Zuverlässigkeit verwendet. Diese deckten das gesamte Altersspektrum ab (Fetalperiode bis zum Alter von 86 Jahren). Die Verteilung der Bandscheibenlevel war wie folgt: L1/2 (n = 4), L2/3 (n = 5), L3/4 (n = 11), L4/5 (n = 5) und L5/S1 (n = 5). Bei der makroskopischen Beurteilung der Bandscheiben wurde 6-mal Degenerationsgrad I, 3-mal Grad II, 9-mal Grad III, 12-mal Grad IV ermittelt. Die autoptisch gewonnenen Präparate wurden von zwei Untersuchern, welche nicht in die Entwicklung des Klassifikationssystems involviert waren, auf die festgelegten Kriterien untersucht. Die Zuverlässigkeit wurde gesondert für Bandscheiben und Endplatten der Autopsiepräparate analysiert. Die bestimmten Zuverlässigkeiten reichten von starker bis zu ausgezeichneter Übereinstimmung (Kappa-Werte: 493 bis 977; s. Tab. 9 Seite 50).

Tab. 8: Klassifikationssystem zur Graduierung altersabhängiger histologischer Veränderungen der Bandscheibe und Endplatte

Bandscheibe	Endplatte
<p>Zellen (Chondrozytenproliferation) 0=keine Proliferation, 1=vermehrte Zelldichte 2=Zusammenschluß zweier Chondrozyten 3=kleine Zellklone (z.B. einige Chondrozyten in Grüppchen, z.B. 2-7 Zellen 4=mittelgroße Zellklone, z.B. >8 Zellen 5=große Zellklone, z.B. > 15 Zellen 6=Narbe/Gewebsdefekt*</p>	<p>Zellen 0=normale Zelldichte 1=örtlich begrenzte Zellproliferation 2=diffuse Zellproliferation 3=starke Zellproliferation 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>
<p>Mucöse Degeneration 0=nicht vorhanden, 1= gering vorhanden, 2= mittelgradig vorhanden 3= reichlich vorhanden 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>	<p>Strukturelle Desorganisation 0=normal strukturierter hyaliner Knorpel 1= Unregelmäßigkeiten im Knorpel (obliterierte Gefäße?) 2= zunehmende Desorganisation der knorpeligen Matrix mit Ausdünnung 3= vollständige Desorganisation mit Defektbildung 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>
<p>Zelltod 0=nicht vorhanden, 1= gering vorhanden, 2= mittelgradig vorhanden 3= reichlich vorhanden 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>	<p>Spaltbildungen im Knorpel 0=nicht vorhanden, 1= gering vorhanden, 2= mittelgradig vorhanden 3= reichlich vorhanden 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>
<p>Risse und Spaltbildung 0=nicht vorhanden, 1= gering vorhanden, 2= mittelgradig vorhanden 3= reichlich vorhanden 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>	<p>Mikrofraktur 0=nicht vorhanden, 1= vorhanden 2= Narbe/Gewebsdefekt*</p>
<p>Granuläre Veränderungen 0=nicht vorhanden, 1= gering vorhanden, 2= mittelgradig vorhanden 3= reichlich vorhanden 4= Narbe/Gewebsdefekt*</p>	<p>Knochenneubildung 0=nicht vorhanden, 1= vorhanden 2= Narbe/Gewebsdefekt*</p>
	<p>Knochensklerose 0=nicht vorhanden, 1= vorhanden 2= Narbe/Gewebsdefekt*</p>
<p>Maximum: 22 Punkte</p>	<p>Maximum: 18 Punkte</p>

Tab. 9: Bestimmung der Zuverlässigkeit zwischen zwei zusätzlichen Untersuchern, die zuvor nicht in die Bewertung der histologischen Kriterien auf Bandscheibendegeneration einbezogen waren (prozentuale Übereinstimmung / gewichtete Kappa-Werte).

Kriterien	Bandscheibe (N=30, 5 Regionen)		
	Prozent. Übereinstimmung	Kappa-Wert	Konfidenzintervall
Chondrozyten- proliferation	68.7	0.759	0.695-0.822
Mucöse Degeneration	68.0	0.728	0.660-0.797
Granuläre Veränderungen	74.7	0.726	0.642-0.810
Riß/Spaltbildung	66.0	0.707	0.632-0.783
Zelltod	85.3	0.806	0.727-0.885
	Endplatte (n=30, 6 Regionen)		
	Prozent. Übereinstimmung	Kappa-Wert	Konfidenzintervall
Zelldichte	57.2	0.493	0.398-0.588
Knorpeldesorganisation	76.1	0.780	0.718-0.843
Spaltbildungen	85.6	0.699	0.597-0.800
Mikrofraktur	98.9	0.869	0.691-1.048
Knochensklerose	95.0	0.741	0.580-0.902
Knochenneubildung	98.9	0.977	0.947-1.009

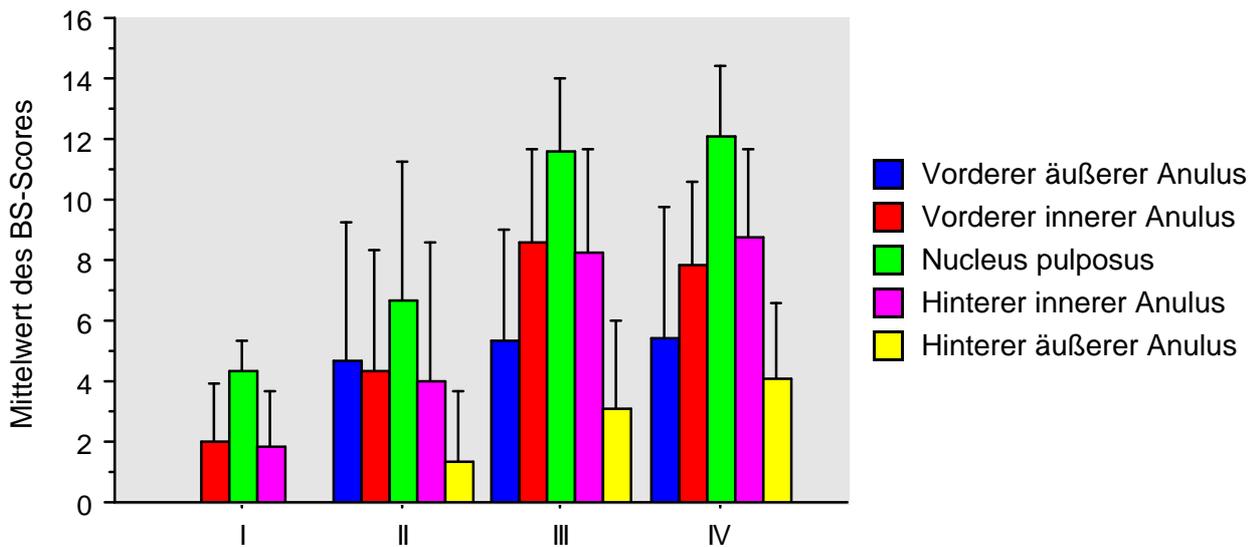
5.3. Korrelation des histologischen Scores mit makroskopischer Bandscheibendegeneration und Altersgruppen

Korrelative Analysen der histologischen Scores für die Bandscheiben ($P < 0,0001$) und Endplatten ($P < 0,0001$) mit dem makroskopischen Ausmaß der Bandscheibendegeneration zeigten positive Korrelation ($P < 0,0001$). Die Korrelation des histologischen Scores mit Altersgruppen lieferte ein ähnliches Signifikanzniveau ($P < 0,0001$). Jedoch zeigte die graphische Darstellung der Ergebnisse eine wesentliche Streuung der Daten (Abb. 19 u. 20), welche deutlich macht, daß Personen in fortgeschrittenem Alter niedrige Scores haben können, und junge Personen hohe histologische Scores aufweisen können. Daraus läßt sich folgern, daß der makroskopisch ermittelte Degenera-

tionsgrad das Ausmaß der histologischen Veränderungen nicht ausreichend widerspiegelt.

Abb. 19: Vergleich des histologischen Scores mit der makroskopischen Bandscheibendegeneration (Grad I-IV, A) und den Altersgruppen (B) für die Bandscheibe (Balken zeigt Mittelwerte plus/minus Standardabweichung).

19 A



19 B

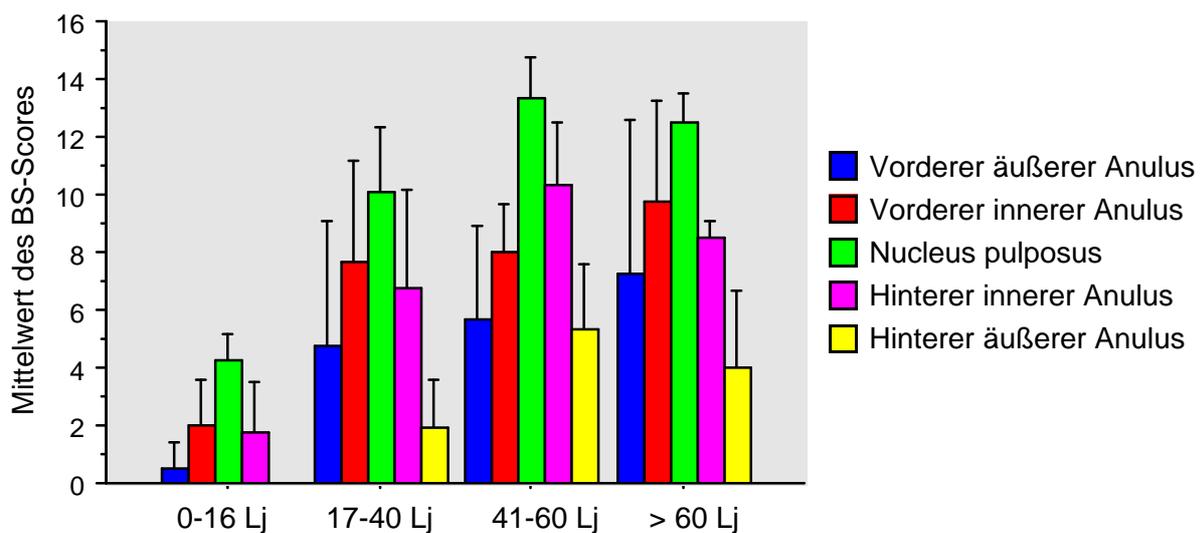
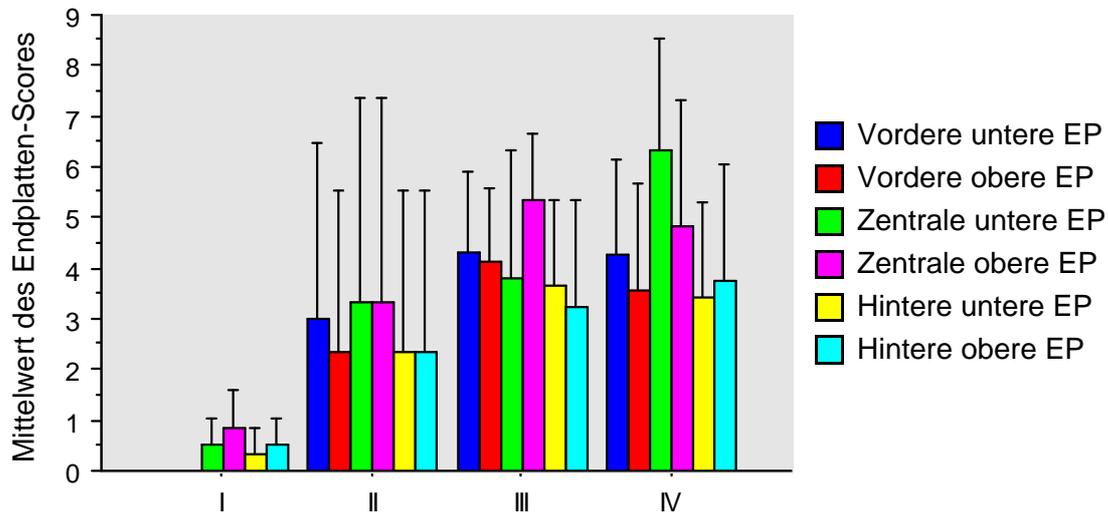
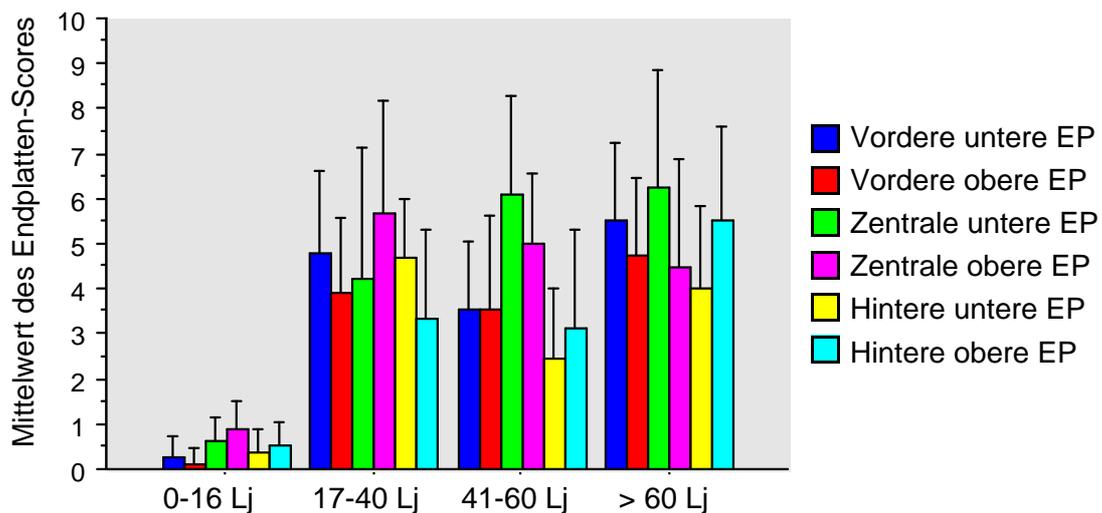


Abb. 20: Vergleich des histologischen Scores mit der makroskopischen Bandscheibendegeneration (Grad I-IV, A) und den Altersgruppen (B) für die Endplatte (Balken zeigt Mittelwerte plus/minus Standardabweichung).

20 A



20 B



6. Diskussion

Dies ist die erste Arbeit, welche systematisch histologische Merkmale altersabhängiger Veränderungen anhand von 180 vollständigen Schnitten lumbaler Bewegungssegmente von insg. 43 Personen, welche den Altersbereich von der Fetalperiode bis zum Alter von 88 Jahren abdecken, untersucht. Jedes der 180 Bandscheibenpräparate wurde auf insgesamt 11 histologische Variablen sowohl in der Bandscheibe als auch in der Endplatte semiquantitativ untersucht. Die Untersuchungen erstreckten sich jeweils auf 5 verschiedene Regionen der Bandscheibe (d.h. vorderer äußerer und vorderer innerer Anulus fibrosus, Nucleus pulposus, hinterer innerer und hinterer äußerer Anulus fibrosus) und 3 Regionen der Endplatte (vorderes, mittleres und hinteres Drittel - jeweils oben und unten an die Bandscheibe angrenzend). Die gewonnenen semiquantitativen Bewertungen histologischer Variablen wurden statistisch analysiert, um den Verlauf altersabhängiger bzw. degenerativer Bandscheibenveränderungen festzustellen. Diese ausführliche und gründliche histologische Analyse hat zu wichtigen Einblicken in den zeitlichen Verlauf altersabhängiger Bandscheibenveränderungen geführt.

6.1. Zeitliche Unterschiede im Auftreten altersabhängiger Bandscheibenveränderungen

Nur wenige bisherige Studien in der Literatur beschreiben fassbare pathohistologische Merkmale der Bandscheibendegeneration. Die Beobachtungen sind sehr variabel, zum einen aufgrund der Widersprüchlichkeit der zur Bewertung der Bandscheibendegeneration herangezogenen histologischen Parameter, zum anderen wegen der offensichtlich hohen individuellen und regionalen Unterschiede. 1945 lieferten Coventry et al den bislang umfassendsten Bericht über altersabhängige bzw. pathologische Bandscheibenveränderungen anhand von vollständigen transversalen Schnitten durch lumbale Bandscheibensegmente. Dementsprechend sind anuläre Veränderungen durch einen allmählichen Verlust der feinen Vernetzung des faserigen Bindegewebes und seinen Ersatz durch zunehmend hyalisierte Kollagenfasern charakterisiert. Desweiteren wird beschrieben, daß erste Risse im dritten Lebensjahrzehnt auftreten, Zellproliferation und vermehrter Zelluntergang im vierten und schließlich eine Invasion von Blutgefäßen entlang von Rissen und Spalten stattfindet. Die sich im Nucleus pulposus von Kindern befindlichen Reste notochordaler Zellen werden ab dem zweiten Lebensjahrzehnt durch beginnende Chondrozytenproliferation ersetzt. Ab dem vierten Lebensjahrzehnt kommt es zum Auftreten von Spaltbildungen im Gewebe, gefolgt von einem zunehmenden Ersatz des Nucleus durch fibröses Gewebe ab dem fünften Lebensjahrzehnt.

Letztlich beschreiben Coventry et al. eine ausgedehnte Zerstörung des Nucleus pulposus durch große Areale, welche mit amorphem Material angefüllt sind (sechstes und siebtes Jahrzehnt).

Am überraschendsten sind die Beschreibungen der Endplattenveränderungen. Hier beschreiben die Autoren die Anwesenheit von vaskulären Kanälen bis zum dritten Jahrzehnt, welche mit fortschreitender „Ausdünnung“ der Endplatte, mikroskopischer Vorwölbung in den benachbarten subchondralen Knochen entlang von zahlreichen Spalten und Rissen, zusammenfallen. Dies beginnt im vierten Lebensjahrzehnt. Zuletzt wird die Endplatte (im sechsten und siebten Lebensjahrzehnt) durch Faserknorpel mit fokalen Nekrosen ersetzt.

Diesen Veränderungen der Endplatte stehen die Beobachtungen von Wassilev et al. (1942) gegenüber, die eine Vaskularisation der Endplatte nicht über das vierte Lebensjahr hinaus fanden. Leider liefern diese Autoren keine weiteren Informationen zu Bandscheibenveränderungen. Ebenso beschreiben Saunders et al (1940), daß eine Vaskularisation der Endplatte nur während der Fetalperiode und in der frühen Postnatalperiode zu beobachten ist. Postnatal kommt es dann zu einer zunehmenden Rückentwicklung und Gefäßatrophie, die zu Narbenbildung und Defekten im Knorpel führen. Diese Autoren sind weiterhin der Auffassung, daß Degeneration schon in der dritten Lebensdekade oder sogar schon früher auftreten kann.

Weidner et al lieferten 1988 eine umfassende Beschreibung von Bandscheibenveränderungen anhand chirurgischer Präparate, die sie mit autoptischen Präparaten verglichen. Diese Autoren untersuchten die Bedeutung von Gefäßneubildungen am Bandscheibenrand, granulären Veränderungen, das „Klon-artige“ Wachstum von Chondrozyten und die Fibrillation des Faserknorpels. Die Anwesenheit dieser Parameter wurde zur Indikationsstellung einer Bandscheibendegeneration herangezogen. Jedoch wurde nicht auf altersabhängige Veränderungen eingegangen. Es stellte sich heraus, daß in Bezug auf prolabiertes Bandscheibenmaterial nur die Gefäßneubildung am Rande der Bandscheibe eine Unterscheidung bezüglich Degeneration zuläßt. Pritzker analysierte 1977 die Anwesenheit mucösen Materials in der Bandscheibe. Er beobachtete eine Zunahme territorialer Matrix mit vermehrtem Anteil saurer Mukopolysaccharide mit zunehmenden Alter. In der Endplatte fanden sich nach seinen Beobachtungen zunehmend Zelluntergänge zusammen mit fortschreitender Desorganisation der Endplatte und schließlich beobachtete er mit zunehmender Degeneration das Auftreten von Mikrofrakturen und Gefäßeinsprossungen in die Endplatte.

Zusammenfassend stimmen die vorausgehenden Studien überein, daß es zu einem zunehmenden Strukturverlust in allen drei anatomischen Kompartimenten der Bandscheibe kommt, welcher schließlich zur Narbenbildung führt. Es finden sich jedoch einige interessante Unterschiede. Das Ende der Vaskularisation der Bandscheibe wurde meist im frühen Kindesalter beobachtet (erstes Lebensjahrzehnt), so daß mit fortschreitendem Wachstum und Ausdehnung der Bandscheibe die

Nährstoffversorgung stark beeinträchtigt ist. Dem Auftreten von Spalten und Rissen nicht vor dem vierten Lebensjahrzehnt in Coventry's Studie stehen die hier gewonnenen Beobachtungen von Rissen und Spalten schon im zweiten Lebensjahrzehnt gegenüber.

Die systematische Überprüfung der histologischen Variablen über die verschiedenen Regionen der Bandscheibe und Endplatte hat klare Beweise dafür geliefert, daß bedeutsame altersabhängige Veränderungen am Ende des ersten Lebensjahrzehnts beginnen. Sie gewinnen an Bedeutung in der ersten Hälfte des zweiten Jahrzehnts und betreffen die drei anatomischen Regionen in unterschiedlichem Ausmaß. Offensichtlich gehen die Veränderungen im Bereich der Endplatte denen des Nucleus pulposus voran, während der äußere Anulus fibrosus nur bei älteren Personen ausgeprägt verändert ist. Außerdem fand sich eine hohe Variabilität von Veränderungen innerhalb und zwischen diesen anatomischen Regionen.

Eine Hauptbeobachtung der vorliegenden Untersuchung ist, daß die Verödung von Blutgefäßen in der Endplatte hauptsächlich zwischen der Neugeborenenperiode und dem 10. Lebensjahr auftritt. Dazu passend steigt die Zahl obliterierter Gefäße allmählich zwischen dem 1. Lebensmonat und dem 16. Lebensjahr an. Von erheblicher Bedeutung ist dabei die Beobachtung, daß die Abnahme der Blutversorgung mit einer gleichzeitigen Zunahme der Knorpeldesorganisation, Zellproliferation, Spaltbildung und dem Auftreten von Mikrofrakturen in der Endplatte einhergeht. Diese Veränderungen erreichen alle zwischen dem 11. und 16. Lebensjahr ein erstes Maximum, also zu dem Zeitpunkt von dem an die Veränderungen der Bandscheibe beginnen zuzunehmen. Diese Veränderungen sind charakterisiert durch eine drastische Zunahme der klonalen Zellproliferation, mucösen Matrixdegeneration, granulären Veränderungen und Riß- und Spaltbildung innerhalb der Bandscheibe. Der Nucleus pulposus zeigt in diesen Altersgruppen schwerere Veränderungen als der Anulus fibrosus .

Interessanterweise fällt der Verlust der Gefäßversorgung in die stärkste Wachstumsperiode. Während dieser Zeitspanne kann es dazu kommen, daß die Versorgung der Bandscheibe kritisch abnimmt. Umgekehrt macht der nahe Kontakt der Endplatten zur starken sinusidalen Blutversorgung des Knochenmarks unwahrscheinlich, daß die Veränderungen der Endplatte ihrerseits durch die veränderten Diffusionsverhältnisse bedingt sind. Jedoch kann angenommen werden, daß es während der Zeit des Wachstums der Bandscheibe zu einer bedeutsamen Verlängerung der Diffusionsstrecken kommt, so daß jeder Mangel an Nährstoffen in Nucleus und Anulus zu Gewebsveränderungen führen könnte. Mit zunehmendem Alter nehmen die Endplatten- und Bandscheibenveränderungen zu, um ein Maximum zwischen 51 und 70 Jahren zu erreichen. Danach nehmen die meisten Parameter an Intensität ab oder bleiben auf einem Niveau, analog zu jüngeren Altersgruppen. Die letzteren Beobachtungen können als eine Art „burn-out“-Zustand interpretiert wer-

den, bei dem die komplette Fehlorganisation des Gewebes eine weitere Zellproliferation, Riß- und Spaltbildung und mucöse oder granuläre Matrixänderungen verhindern.

6.2. Konzept zur Ernährung der Bandscheibe

Die traditionellen Konzepte von Ernährung, welche über die Initiierung der Bandscheibendegeneration berichten (Holm et al, 1981; Nachemson et al, 1970; Olmarker et al, 1998; Urban et al, 1977 u. 1993), können eindeutig durch die vorliegenden histologischen Befunde untermauert werden. Diese Konzepte besagen, daß die Ernährung der Zellen innerhalb der Bandscheibe kritisch wird, sobald die Skelettreife erreicht ist und die Epiphysenfugen der Wirbelkörper geschlossen sind. Dadurch werden die Diffusionswege großer Makromoleküle in den Nucleus pulposus erheblich eingeschränkt. Horner et al lieferten 2001 klare Beweise für die kritische Wirkung der Nährstoffversorgung auf die Lebensfähigkeit von Zellen des Nucleus pulposus. Urban hatte schon 1993 zeigen können, daß eine Verminderung der Sauerstoffspannung in der Bandscheibe zu abnehmenden Matrixsyntheseraten und einem ph-Abfall in der Bandscheibe aufgrund zunehmender Lactatproduktion führt. Desweiteren können Faktoren, wie ein verminderter Blutfluß zur Bandscheibe oder eine Abnahme der Endplattendurchlässigkeit, die zur Abnahme der Sauerstoffspannung im Zentrum führt, sich nachteilig auf den Matrixstoffwechsel und letztlich auch auf die Zusammensetzung der Bandscheibe auswirken. Abnehmende Ernährung der Bandscheibe, Verlust der Organisation und Konzentration von Proteoglycanen, Abnahme der Zelldichte und synthetische Aktivität, gesteigerter Abbau der Bandscheibenmatrix bei gleichzeitig verminderter Matrixsynthese, dies alles kann zu einem Verlust der Bandscheibenstruktur und -funktion führen, die dann ihrerseits als Bandscheibendegeneration imponieren. Die Ergebnisse der vorliegenden histologischen Untersuchung unterstützen ganz klar das zeitliche Zusammentreffen des Endes der Blutversorgung der Endplatte mit der zunehmenden Desorganisation der Matrix. Letztere wird durch das Auftreten von Spalten und Mikrofrakturen in der Endplatte und von Rissen und Spalten im Nucleus belegt.

6.3. Klassifikation altersabhängiger Veränderungen

Basierend auf der semiquantitativen Auswertung histologischer Merkmale wurde ein Klassifikationssystem für die Bandscheibe und Endplatte entwickelt. Es kamen nur Variablen in Betracht, welche eine signifikante Korrelation mit dem Alter und der makroskopischen Bandscheibendege-

neration zeigten. Histologische Parameter, die nicht in allen Regionen der Bandscheibe in Erscheinung treten (wie z.B. Randläsionen und Gefäßneubildungen am Rande) wurden ausgeschlossen. Da konzentrische Risse hauptsächlich im Nucleus pulposus gefunden wurden und radiale Risse mehr im Anulus fibrosus, wurden diese beiden Variablen zu einem neuen Parameter „max. Auftreten von Spalten oder Rissen“ zusammengefaßt. In fortgeschrittenen Stadien kann das ursprüngliche Bandscheibengewebe durch Narben ersetzt werden. Die Gewebszerstörung kann dann so schwerwiegend sein, daß Gewebsdefekte auftreten. Um dem gerecht zu werden, wurde als schwerste Form der Ausprägung, bezogen auf alle erfassten Variablen, die Ausprägung „Narbengewebe/Gewebsdefekte“ eingeführt.

Bei der Bewertung des Klassifikationssystems wurde deutlich, daß das System besser auf vollständige Schnitte lumbaler Bewegungssegmente anzuwenden ist als auf Op-Material. Dies liegt an der Varianz der Veränderungen innerhalb der Bandscheibe. So sind Veränderungen in der Bandscheibe an verschiedenen Stellen unterschiedlich ausgeprägt. Da für eine Graduierung die als höchstgradig angesehene Veränderung gewertet wird, kann es bei dem üblicherweise nicht die gesamte Bandscheibe umfassenden Op-Material voraussichtlich zu einer Unterbewertung einzelner Parameter kommen. Vor allem die Beurteilung von Rissen und Spalten dürfte sich an Op-Material schwierig gestalten, besonders wenn kleine Stücke mit großer mechanischer Zerreißung des Bandscheibengewebes entnommen werden. Gleichfalls können granuläre Veränderungen während der Gewebsaufbereitung verlorengehen (bzw. ausgewaschen werden). Dafür können zelluläre Parameter (Zellproliferation und Zelltod) und Parameter der Matrix wie mucöse Degeneration als geeignet zur Anwendung an Op-Material betrachtet werden.

6.4. Unterscheidung von Altern und Degeneration

In ihrem Artikel über die Pathologie der Bandscheibe haben Saunders et al (1940) eine Übersicht geliefert, die besagt, daß die Bandscheibe während des Lebens ständigen und fortschreitenden Veränderungen unterworfen ist und es somit schwierig ist, normales von pathologischem Gewebe zu unterscheiden. Sie merkten weiterhin an, daß Degenerationsphänomene angeblich so häufig auch in gesunden Wirbelsäulen in der mittleren Altersgruppe sind, daß die Veränderungen zum großen Teil als Ergebnis von Alterungsprozessen in einem Organ, welches zerstörerischen Kräften beträchtlicher Größenordnung ausgesetzt ist, anzusehen sind. Normales Altern von Degener-

tion zu unterscheiden ist deshalb sehr schwierig, weil kein diskriminierender Faktor (d.h. ein "Goldstandard") verfügbar ist. Dies zeigt, daß eine korrekte Beurteilung der Zuverlässigkeit des Klassifikationssystems schwer zu erzielen ist. Es gibt einen Konsens in der Literatur, daß das Bandscheibengewebe drastischen destruktiven und reparativen Veränderungen während des Alterns unterliegt. Dieser Zusammenhang konnte auch durch die vorliegende systematische Untersuchung erhärtet werden.

Es gibt auch eine enge Korrelation zwischen der Zunahme von histologischen Veränderungen und dem begleitenden makroskopisch sichtbaren Ausmaß der Gewebszerstörung. Jedoch zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit eindeutig, daß über die unterschiedlichen Kategorien von Alter und makroskopischer Veränderungen wesentliche Schwankungen im Ausmaß begleitender histologischer Veränderungen zu finden sind. Die hier durchgeführte Untersuchung konnte zeigen, daß die Bandscheiben jüngerer Personen schon sehr fortgeschrittene Veränderungen aufweisen können, während die Bandscheiben älterer Personen z.T. nur geringfügigere histologische Veränderungen zeigen. Dasselbe gilt für die makroskopischen Graduierungen der Bandscheibendegeneration. Dies impliziert, wie hier gezeigt wurde, daß die Einstufung von Bandscheibenmaterial allein durch Alter oder makroskopische Beurteilung aufgrund grundlegender individueller und regionaler Unterschiede unzulänglich ist. Dies wirft die Frage auf, ob Ergebnisse von biochemischen Analysen ohne einen morphologischen Referenzstandard aussagekräftig sind. Das in der vorliegenden Arbeit vorgeschlagene histologische Klassifikationssystem könnte zukünftig als morphologischer Rahmen dienen. Jedoch ist es nur als Vorläufer zu sehen und sollte weiter getestet und modifiziert werden.

6.5. Forschungsergebnisse und klinische Relevanz

Als wesentliche Befunde dieser Untersuchung sollten morphologische Beweise geliefert werden, daß die Abnahme und schließlich der Verlust der Gefäßversorgung der Endplatte für die Erhaltung der strukturellen Integrität der Bandscheibenmatrix von entscheidender Bedeutung sind. Diese Befunde werden auch durch verschiedene experimentelle Studien zur Versorgung der Bandscheibe mit Nährstoffen (Holm et al, 1981; Horner et al, 2001; Ogata et al, 1981) und ihrer Wirkung auf Matrixstoffwechsel (Horner et al, 1981) untermauert. Die klinische Relevanz dieser Untersuchung ist, daß jeder Versuch, die strukturelle Matrixzerstörung zu verhindern oder zu reparieren zum Ziel haben muß, die Gefäß- bzw. Versorgungssituation mit Nährstoffen bereits im sehr frühen Kindesalter zu verbessern. Obwohl die Versuche, durch Genthherapie einen Gewebs-

aufbau zu erzielen, (Moon et al, 2000; Nishida et al, 1998; Nishida et al, 1999; Wehling et al, 1997) sehr faszinierend sind, können diese beträchtlich behindert werden, wenn die Nährstoffversorgung nicht (ausreichend) berücksichtigt wird. Wenn man die Untersuchungsergebnisse betrachtet, wird der Versuch einer Gewebsregeneration wohl noch erheblich schwieriger, sobald ein Stadium erreicht ist, in dem die Bandscheibenveränderungen schon zu einer entsprechenden Schmerzsymptomatik geführt haben. Das Ausmaß der histologischen Veränderungen in Form von Rissen und Spaltbildungen in der Bandscheibe und Mikrofrakturen der Endplatte, welche schon bis zum Ende der zweiten Lebensdekade vorhanden sind, stellen eine Herausforderung an alle Gewebstechniken und Reparaturversuche dar (Moon et al, 2000; Nishida et al, 1998; Nishida et al, 1999; Wehling et al, 1997). Wegen der frühen und schwerwiegenden Gewebsveränderungen lumbaler Bandscheiben muß der Erfolg solcher Konzepte im Hinblick auf seine klinische Relevanz in Frage gestellt werden.

Neuere Studien haben Beweise für Entzündungsreaktionen innerhalb der Bandscheibe bzw. im Randbereich der Bandscheibe, insbesondere an benachbarten Nervenwurzeln geliefert (Chatani et al, 1994; Kawakami et al, 1994; Olmarker et al, 1993, 1995, 1998). Diese dürften vermutlich wichtige Faktoren für die Entstehung von Rücken- und Beinschmerzen darstellen. Weiterhin ist anhand von MRI Studien gezeigt worden, daß sogar schwerwiegende Bandscheibenveränderungen bei einer Mehrheit betroffener Personen asymptomatisch verlaufen (Boos et al, 2000; Borenstein et al, 1998). Die Ergebnisse könnten dazu führen, daß zukünftige Forschungsbemühungen darauf abzielen, in die Entzündungsreaktionen der Bandscheibe auf molekularer Ebene einzugreifen, anstatt den Versuch zu unternehmen das Gewebe zu reparieren, um letztendlich symptomatische in asymptomatische Bandscheibenveränderungen zu verwandeln.

7. Zusammenfassung

Dies ist die erste Arbeit, welche systematisch histologische Merkmale altersabhängiger Veränderungen anhand von 180 vollständigen Schnitten lumbaler Bewegungssegmente von insg. 43 Personen analysiert hat. Diese umfassen den Altersbereich von der Fetalperiode bis zum Alter von 88 Jahren. Jede der 180 Bandscheibenschnitte wurde auf insgesamt 11 histologische Variablen sowohl in der Bandscheibe als auch in der Endplatte untersucht und das Ausmaß der Veränderungen semiquantitativ abgeschätzt. Die Untersuchungen erstreckten sich jeweils auf 5 verschiedene Regionen der Bandscheibe (d.h. vorderer äußerer und vorderer innerer Anulus fibrosus, Nucleus pulposus, hinterer innerer und hinterer äußerer Anulus fibrosus) und 3 Regionen der Endplatte (vorderes, mittleres und hinteres Drittel - jeweils cranial und caudal an die Bandscheibe angrenzend).

Dabei konnten die zeitlichen und regionalen Unterschiede im Hinblick auf Anwesenheit und Ausprägung in den unterschiedlichen Ebenen, Regionen und Altersgruppen gezeigt werden.

Desweiteren wurde ein praktikables und verlässliches histologisches Klassifizierungssystem für Bandscheiben aus dem Lendenwirbelbereich entwickelt und getestet. Dabei wurden jeweils 5 Parameter in der Bandscheibe (Chondrozytenproliferation, mucöse Degeneration, Zelltod, Riß- und Spaltbildungen, granuläre Veränderungen) und 6 Parameter in der Endplatte (Chondrozytenproliferation, Knorpeldesorganisation, Spaltbildungen im Knorpel, Mikrofrakturen, Knochenneubildung, Knochensklerose) auf ihre Tauglichkeit untersucht. Unter Berücksichtigung des in der Regel unvollständigen Op-Materials und möglicher Materialverluste bei der Gewebsaufbereitung sind insbesondere zellulären Parametern (Zellproliferation und Zelluntergänge) und Parametern der Matrix wie mucöse Degeneration bei der Beurteilung von Op-Material Vorrang zu geben. Das Klassifikationssystem könnte zukünftig als eine Art morphologischer Referenzrahmen für weitere Untersuchungen dienen.

Die vorliegende Arbeit liefert desweiteren eindeutige histologische Hinweise für die abträgliche Wirkung einer verminderten Blutversorgung in der Bandscheibe, die den zunehmenden Matrixzusammenbruch zu initiieren scheint. Dabei fällt das Ende der Blutversorgung der Endplatte im zweiten Lebensjahrzent mit dem zunehmenden Zusammenbruch der Matrix, welche im zweiten Lebensjahrzent beginnt zusammen, wovon sowohl das Auftreten von Spalten und Mikrofrakturen in der Endplatte als auch Risse und Spaltbildungen im Nucleus zeugen.

Als weiterer Punkt dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, daß eine histologische Klassifikation der Veränderungen und damit Einstufung von pathologischen Prozessen im Bandscheidenmaterial allein durch Alter oder makroskopische Beurteilung wegen grundlegender individueller und regionaler Unterschiede unzulänglich ist.

8. Literaturverzeichnis

Antoniou J, Arlet V, Goswami T, Aebi M, Alini M.

Elevated synthetic activity in the convex side of scoliotic intervertebral discs and endplates compared with normal tissues.
Spine 2001;26:E198-206.

Antoniou J, Goudsouzian NM, Heathfield TF, et al.

The human lumbar endplate. Evidence of changes in biosynthesis and denaturation of the extracellular matrix with growth, maturation, aging, and degeneration.
Spine 1996;21:1153-61.

Bogduk N, Tynan W, Wilson AS

The nerve supply of the human lumbar intervertebral disc.
J Anat 1981; 132:39-56.

Boos N, Nerlich A, Wiest I, von der Mark K, Aebi M.

Immunolocalization of type X collagen in human lumbar intervertebral discs during ageing and degeneration.
Histochem Cell Biol 1997;108:471-480.

Boos N, Semmer N, Elfering A, et al.

Natural history of individuals with asymptomatic disc abnormalities in MRI.
Predictors of low-back pain related medical consultation and work incapacity.
Spine 2000;25:1484-1492.

Borenstein G, O'Mara JW, Boden SD, et al.

A 7-year followup study of the value of lumbar spine MR to predict the development of low back pain in asymptomatic individuals^{25th}.
Annual Meeting of the International Society for the Study of the Lumbar Spine.
Brussel, Belgium, 1998.

Buckwalter JA. Spine

Update: Aging and degeneration of the human intervertebral disc.
Spine 1995;20:1307-1314.

Chatani K, Kawakami M, Weinstein JN, Meller ST, Gebhart GF.

Characterization of thermal hyperalgesia, C-FOS expression and alterations in neuropeptides following mechanical irritation of the DRG.
Trans Orthop Res Soc 1994;19:295.

Coventry MB, Ghormley RK, Kernohan JW.

The intervertebral disc: Its microscopic anatomy and pathology. Part I. Anatomy, development and pathology.
J Bone Joint Surg 1945;27A:105-112.

Coventry MB, Ghormley RK, Kernohan JW.

The intervertebral disc: Its microscopic anatomy and pathology. Part II. Changes in the intervertebral disc concomittant with age.
J Bone Joint Surg 1945;27A:233-247.

Coventry MB, Ghormley RK, Kernohan JW.

The intervertebral disc: Its microscopic anatomy and pathology. Part III. Pathological changes in the intervertebral disc.
J Bone Joint Surg 1945;27A:460-474.

Deyo RA, Cherkin D, Conrad D, Volinn E

Cost, controversy, crises: Low back pain and the health of the public.
Annu rev Publ Health 1991; 12:141-156.

Eyre D, Benya P, Buckwalter J, Caterson B, Heinegard D, Oegema T, Pearce R, pope M, Urban J.

Intervertebral disc: New perspectives on Low Back Pain.
Edited by Frymoyer, LS Gordon, Park ridge, American Academy of Orthopaedic Surgeons 1989:147-207

Fraser RD, Osti OL, Vernon-Roberts B.

Intervertebral disc degeneration.

Eur Spine J 1993;2:205-213.

Gruber HE, Ma D, Hanley EN, Jr., Ingram J, Yamaguchi DT.

Morphologic and molecular evidence for gap junctions and connexin 43 and 45 expression in annulus fibrosus cells from the human intervertebral disc.

Journal of Orthopaedic Research 2001;19:985-9.

Habtemariam A, Gronblad M, Virri J, et al.

Comparative immunohistochemical study of group II (synovial-type) and group IV (cytosolic) phospholipases A2 in disc prolapse tissue.

European Spine Journal 1998;7:387-93.

Hampton D, Laros G, McCarron R, Franks D

Healing potential of the anulus fibrosus

Spine 1989; 14:398-401

Hilton RC, Ball J.

Vertebral rim lesions in the dorsolumbar spine.

Ann Rheum Dis 1984; 43:302-307

Holm S, Maroudas A, Urban JPG, Selstam G, Nachemson AL.

Nutrition of intervertebral disc: Solute transport and metabolism.

Conn Tiss Res 1981;8:101-119.

Horner H, Urban J.

2001 Volvo Award in Basic Science. The effect of nutrient supply on viability of cells from the nucleus of the intervertebral disc.

Presented at Annual Meeting of the ISSLS, Edinburgh, Scotland, June 19-23, 2001.

Jackson HC II, Winkelmann RK, Bickel WH

Nerve endings in the human lumbar spinal column and related structures.

J bone Joint Surg 1966; 48A:1272-1281.

Kawakami M, Weinstein JN, Spratt K, et al.

Experimental lumbar radiculopathy: Which irritation of the lumbar nerve roots produces pain behaviors like those seen in lumbar radiculopathy?

Trans Orthop Res Soc 1994;19:108.

Landis JR, Koch GG.

The measurement of observer agreement for categorical data.

Biometrics 1977;33:159-174.

Milgram JW.

Intervertebral disc disease and degenerative arthritis of the spine.

In: Milgram JW, ed. Radiologic and Histologic Pathology of Nontumorous Diseases of Bones and Joints. Northbrook: Northbrook Publishing Company, 1990:519-588.

Moon SH, Gilbertson LG, Nishida K, et al.

Human intervertebral disc cells are genetically modifiable by adenovirus-mediated gene transfer: implications for the clinical management of intervertebral disc disorders.

Spine 2000;25:2573-9.

Nachemson A, Lewin T, Maroudas A, Freeman M.

In vivo diffusion of dye through the endplates and the annulus fibrosus of human lumbar intervertebral discs.

Acta Orthop Scand 1970;41:589-607.

Nerlich AG, Schleicher E, Boos N.

1997 Volvo Award in Basic Science. Immunohistochemical Markers of Age-related Changes in the Human Lumbar Intervertebral Disc.

Spine 1997 22 (24):2781-95

Nishida K, Kang JD, Gilbertson LG, et al.

Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: an in vivo study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor beta 1 encoding gene.

Spine 1999;24:2419-25.

Nishida K, Kang JD, Suh JK, Robbins PD, Evans CH, Gilbertson LG.

Adenovirus-mediated gene transfer to nucleus pulposus cells. Implications for the treatment of intervertebral disc degeneration.

Spine 1998;23:2437-42.

Oegema TR, Bradford DS, Cooper KM, Hunter RE.

Comparison of the biochemistry of proteoglycans isolated from normal, idiopathic scoliotic and cerebral palsy spines.

Spine 1983;8:378-84.

Oegema TR, Jr., Johnson SL, Aguiar DJ, Ogilvie JW.

Fibronectin and its fragments increase with degeneration in the human intervertebral disc.

Spine 2000;25:2742-7.

Ogata K, Whiteside LA.

1980 Volvo award winner in basic science. Nutritional pathways of the intervertebral disc.

An experimental study using hydrogen washout technique.

Spine 1981;6:211-6.

Olmarker K, Blomquist J, Strömberg J, Nannmark U, Thomsen P, Rydevik B.

Inflammatogenic properties of nucleus pulposus.

Spine 1995;20:665-669.

Olmarker K, Myers RR.

Pathogenesis of sciatic pain: Role of herniated nucleus pulposus and deformation of spinal nerve root and DRG.

Pain (in press) 2002.

Olmarker K, Rydevik B, Nordborg C.

Autologous nucleus pulposus induces neurophysiologic and histologic changes in porcine cauda equina nerve roots.

Spine 1993;18:1425-1432.

Osti OL, Vernon-Roberts B, Fraser RD.

Annular tears and intervertebral disc degeneration: An experimental study using an animal model.

Spine 1990;15:762-767.

Parke W, Burchiel K, Rydevik B, Weinstein J, Lamotte R, Campbell J, Elde R, Ruda MA.

Nerve: Basic science perspectives on Low Back Pain.

Edited by JW Frymore, LS Gordon, Park Ridge, American Academy of Orthopedic Surgeons 1989;57-123

Palmgren T, Gronblad M, Virri J, Kaapa E, Karaharju E.

An immunohistochemical study of nerve structures in the annulus fibrosus of human normal lumbar intervertebral discs.

Spine 1999;24:2075-9.

Pfirrmann CWA, Metzdorf A, Zanetti M, Hodler J, Boos N.

MR Classification of Lumbar Intervertebral Disc Degeneration.

Spine 2001; 26 (17):1873-8

Pritzker KPH.

Aging and degeneration in the lumbar intervertebral disc.

Orthop Clin North Am 1977;8:65-77.

Roberts S, Caterson B, Evans H, Eisenstein SM.

Proteoglycan components of the intervertebral disc and cartilage endplate: an immunolocalization study of animal and human tissues.

Histochemical Journal 1994;26:402-11.

Roberts S, Caterson B, Menage J, Evans EH, Jaffray DC, Eisenstein SM.

Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc.

Spine 2000;25:3005-13.

Roberts S, McCall IW, Menage J, Haddaway MJ, Eisenstein SM.

Does the thickness of the vertebral subchondral bone reflect the composition of the intervertebral disc?

Eur Spine J 1997;6:385-9.

Roberts S, Menage J, Urban JPG.

Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc.

Spine 1989;14:166-174.

Roofe PG

Innervation of annulus fibrosus and posterior longitudinal ligament: Fourth and fifth lumbar level.

Arch Neurol Psychiatry 1940; 44:100-103.

Saunders JB, Inman VT.

Pathology of the intervertebral disk.

Arch surg 1940;40:389-416.

Sinohara H

Lumbar disc lesion with special reference to the histological significance of nerve endings of the lumbar disc.

J Jpn Orthop Assoc 1970;44:553-570.

Schmorl G, Junghanns H.

Pathologische Anatomie der Zwischenwirbelscheiben. Die gesunde und die kranke Wirbelsäule in Röntgenbild und Klinik.

Edited 1968:153-203

Thompson JP, Pearce RH, Schechter MT, Adams ME, Tsang IKY, Bishop RB.

Preliminary evaluation of a scheme for grading the gross morphology of the human intervertebral disc.

Spine 1990;15:411-415.

Urban JPG.

The effect of physical factors on disc cell metabolism. In: Buckwalter JA, Goldberg VM, Woo SLV, eds. *Musculoskeletal Soft-Tissue Aging: Impact on Mobility*. Rosemont: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1993:391-412.

Urban JPG, Holm S, Maroudas A, Nachemson AL.

Nutrition of the intervertebral Disk. An in vivo study of solute transport. *Clin Orthop* 1977;129:101-114.

Vernon-Roberts B.

Disc pathology and disease states.

In: Gosh P, ed. *The Biology of the Intervertebral Disc*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1988:73-119.

Vernon-Roberts B.

Age-related and degenerative pathology of intervertebral discs and apophyseal joints.

In: Jayson MIV, ed. *The Lumbar Spine and Back Pain*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1992: 17-41.

Wassilev W, Kühnel W

Struktur und Funktion der Zwischenwirbelscheibe.

Ann Anat 1992;174:54-65.

Wehling P, Schulitz KP, Robbins PD, Evans CH, Reinecke JA.

Transfer of genes to chondrocytic cells of the lumbar spine. Proposal for a treatment strategy of spinal disorders by local gene therapy.

Spine 1997;22:1092-7.

Waddell G:

A new clinical model for the treatment of low-back-pain.

Spine 1987; 12:632-644.

Weidner N, Rice DT.

Intervertebral disk material: Criteria for determining probable prolapse.

Hum Pathol 1988;19:406-410.

Yasuma T, Koh S, Okamura T, Yamauchi Y.

Histological changes in aging lumbar intervertebral discs. Their role in protrusions and prolapses.

J Bone Joint Surg 1990;72 A:220-229.

9. Dank

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. U. Löhrs (Direktor des Pathologischen Institutes der LMU, München) dafür, daß ich an seinem Institut die vorliegende Untersuchung durchführen konnte.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Nerlich für die Themenstellung und die dauerhafte, immer für Fragen offene, geduldig-liebenswerte Betreuung.

Ganz herzlich danken möchte ich auch Herrn Dr. N. Boos für die Hilfestellungen in Statistik und Diagrammgestaltung, sowie Herrn Dr. H. Rohrbach und Herrn Dr. Ch. Weiler für die unabhängige Durchführung der Evaluation des Klassifikationsschemas, ohne die die Bestimmung der Interobserver-Variabilität nicht hätte ermittelt werden können.

Zuletzt möchte ich noch meinem Schwager und meinem Vater für die Hilfestellungen bei Computerproblemen danken.

10. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Sabine Weißbach
Geburtsdatum: 21. November 1969
Geburtsort: München
Wohnort: Allacherstr. 10, 85757 Karlsfeld
Familienstand: verheiratet

Schulbildung

1976 – 1980 Volksschule in München
1980 – 1989 Willi-Graf-Gymnasium in München

Freiwilliges soziales Jahr

1989 – 1990 Kliniken Dr. Michael Schreiber in München als Pflegehelferin

Studium

1990 – 1996 Studium im Fach Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
1996 – 1997 Praktisches Jahr
Erstes Tertial: Städtisches Krankenhaus Neuperlach
Zweites Tertial: Pathologisches Institut der Universität München
Drittes Tertial: Städtisches Krankenhaus Neuperlach
1997 Abschluß des Studiums und Approbation

Angestelltenverhältnisse

05/1998-10/1999 Ärztin im Praktikum in der Angiologischen Abteilung des Städt. Krankenhauses München-Schwabing, Chefarzt Dr. H. Stiegler
Seit 12/1999 Assistenzärztin in der Inneren Abteilung des Krankenhauses Peißenberg, Chefarzt Dr. W. Fischer