
Identifikation von Biomarkern zur Abschätzung der individuellen Belastbarkeit des Gelenkknorpels bei Athleten hochbelastender Sportarten

Gert-Peter Brüggemann & Anja Niehoff

Deutsche Sporthochschule Köln,
Institut für Biomechanik und Orthopädie

Einleitung

Hochbelastende High-Impact Sportarten (z. B. Laufen, Dreisprung, Kunstturnen) beinhalten wiederholt starke stoßförmige mechanische Belastungen des muskulo-skelettalen Bewegungssystems, mit denen auch ein erhebliches Risiko für degenerative Schädigungen einhergeht (Buckwalter & Mankin, 1998). Dabei sind die Gelenke und insbesondere der Gelenkknorpel die kritischen Strukturen der Belastbarkeit. Als avaskuläres, alymphatisches und aneurales Biomaterial ist Knorpel ein limitierendes Gewebe bei Anpassungen des muskulo-skelettalen Bewegungssystems an vermehrte körperliche Aktivität. Die Bestimmung der Belastbarkeit des Knorpels, d. h. das physiologische Fenster, innerhalb dessen sich der hyaline Gelenkknorpel an mechanische Belastung anpassen kann ohne irreparable Schäden zu erleiden, ist von großer praktischer Relevanz für den Hochleistungs- bzw. Leistungssport. Während eine moderate Gelenkbelastung zur Erhaltung eines gesunden Knorpelstoffwechsels unverzichtbar ist (Buschmann et al., 1995), kann zu niedrige (Immobilisation) oder zu hohe mechanische Belastung den Gelenkknorpel dagegen schädigen (Farquhar et al., 1996; Jeffrey et al., 1995; Sah et al., 1991). In der internationalen Literatur gibt es jedoch nur relativ wenige Forschungsergebnisse, die sich mit der Adaptationskapazität des Gelenkknorpels beim Menschen beschäftigen. Ein großes Problem bei der Erforschung der Anpassungskapazität und Belastbarkeit des Gelenkknorpels sind die geringen nicht-invasiven Untersuchungsmöglichkeiten, um Aussagen zur funktionellen Adaptation von Gelenkknorpel im lebenden Menschen zu erhalten. Die wichtigste Methode, um heutzutage in vivo den humanen Gelenkknorpel zu untersuchen, ist die Kernspintomographie (Magnet-Resonanz-Tomographie, MRT). Die MRT stellt Weichteile in einem sehr guten Kontrast dar. Dabei erzeugen MRT-Methoden genaue (Cohen et al., 1999; Eckstein et al., 1998a, 2001; Peterfy et al., 1994) und reproduzierbare (Eckstein et al., 1998b; Peterfy et al., 1994) dreidimensionale Daten von relevanten Parametern der Kniegelenkmorphologie. Einen weiteren gangbaren Weg der Beurteilung von Knorpelreaktionen auf Belastung stellt der Nachweis von Knorpelmetaboliten im Blut dar. Ein etablierter Marker für die Knorpeldegeneration ist Cartilage Oligomeric Matrix Protein (COMP). COMP ist ein 524 kDa schweres pentameres Glykoprotein, das hauptsächlich im Knorpel vorkommt (Hedbom et al., 1992; Mörgelin et al., 1992). Das nicht-kollagene Matrix Protein interagiert mit Kollagen und scheint eine Rolle bei der Faserbildung und Erhaltung des reifen Kollagennetzwerkes zu spielen (Halasz et al., 2007). Erhöhte Serum COMP Konzentrationen wurden in Pati-

enten mit Osteoarthrose (Pettersson et al. 1998), Rheumatoider Arthritis (Månsson et al., 1995) und verletzten Kniegelenken (Dahlberg et al., 1994) diagnostiziert. Ein Zusammenhang zwischen körperlicher Aktivität und der Konzentration von COMP im Serum konnte in früheren wissenschaftlichen Studien festgestellt werden (Kim et al., 2009; Mündermann et al., 2005; Neidhart et al., 2000).

Das Ziel der Studie war es, die Morphologie und das Deformationsverhalten des Kniegelenkknorpels (Femur, Tibia, Patella) von Athleten aus High-Impact Sportarten mittels Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) zu bestimmen und mit gering-aktiven Probanden zu vergleichen. Außerdem sollte der Effekt von deutlich unterschiedlichen Belastungsmoduli auf die Serum COMP Konzentration und das Deformationsverhalten des Kniegelenkknorpels der gering-aktiven Probanden untersucht werden.

Methodik

Die Untersuchung beinhaltete ein Design mit Messwiederholung, in der die Antwort von Gelenkknorpel und Serum-COMP auf spezifisch variierte Interventionen untersucht wurde. Es wurden gesunde 18 bis 32 Jahre alte Hochleistungs-/Leistungssportlerinnen und -sportler aus High-Impact Sportarten [N = 10] und sportlich gering-aktive Kontrollen [N = 14] untersucht. Die Sportlerinnen und Sportler stammten aus dem Hochleistungs- und Leistungsbereich der Leichtathletik und des Turnens. Sie hatten seit mehreren Jahren auf Hochleistungs-/Leistungsebene mindestens 10 Stunden pro Woche trainiert und nahmen an internationalen und nationalen Wettkämpfen teil. Die gering-aktiven Kontrollen hatten seit mehreren Jahren höchstens 1 bis 2 Mal pro Woche Freizeitsport wie Jogging, Fitness oder Fußball getrieben.

Die gering-aktive Probandengruppe nahm an drei Untersuchungstagen teil. An den Experimentaltagen wurde den Teilnehmerinnen und Teilnehmern unmittelbar vor und an 6 verschiedenen Zeitpunkten nach einer 30 min langen Intervention Blut abgenommen. Zusätzlich wurde vor und direkt nach der Intervention eine MRT-Messung eines Kniegelenks durchgeführt. Es wurden folgende Interventionsprotokolle an den verschiedenen Experimentaltagen durchgeführt.

1. 30 min Laufen (Joggen) bei einer Geschwindigkeit von 2,2 m/s (zurückgelegte Distanz: 3,96 km).

2. 30 min Sprungintervention: 100 Sprünge von einer 73 cm hohen Plattform.

30 min vor und für den Rest des Tages nach den Interventionen saßen die Probanden auf einem Stuhl bzw. lagen für ca. 30 min im MRT.

Der 3. Experimentaltag war ein Tag mit kompletter Ruhe und die Probandengruppe saß über den gesamten Untersuchungszeitraum auf einem Stuhl. Die Athletengruppe nahm nur an einem Experimentaltag mit Sprungintervention teil.

MRT-Messungen:

Die MRT-Messungen wurden mit einem 1.0 Tesla Gerät (Philipps Intera 1.0T, Philipps Medical Systems) mit einer zirkulär polarisierten Extremitätenspule durchgeführt. Die Probanden lagen in Rückenlage in dem MRT. Das Knie wurde leicht gebeugt in der Extremitätenspule zentriert. Es wurde eine Fett-unterdrückende Gra-

dientenecho-Sequenz (WATS-3D, fast low angle shot) mit Wasseranregung angewendet. Zwei Scans mit coronaren (16 min) und transversalen (10 min) Bildern vom Knie wurden mit einer Schnittdicke von 1.5 mm und einer Auflösung von 0.31×0.31 mm² aufgenommen. Die coronaren Bilder wurden genutzt, um die femoro-tibialen Knorpelplatten und die transversalen Bilder um die Patella zu segmentieren. Die Datenauswertung erfolgte mit einer evaluierten Software (Chondrometrics GmbH, Ainring, Germany). Die verschiedenen Knorpelplatten wurden manuell segmentiert. Anschließend wurden die Knorpeldicke und das Knorpelvolumen für einzelne Subregionen berechnet.

Serum COMP Konzentration:

Das Blut wurde in Braunülen (5 ml) gesammelt und konnte für eine ½ h bei Raumtemperatur gerinnen. Anschließend wurden die Proben bei 2000 g für 10 min zentrifugiert. Danach wurde das Serum abpipettiert und bei -80° C bis zur Bestimmung eingefroren. Die Serum COMP Konzentration wurde mit kommerziell erhältlichen quantitativen Elisass (enzyme-linked immunosorbent assay, COMP® ELISA, AnaMar Medical AB, Göteborg, Schweden) bestimmt.

Ergebnisse

MRT-Messungen:

Am Ruhetag waren bei den gering-aktiven Kontrollen keine signifikanten Veränderungen in der Knorpeldicke und dem Knorpelvolumen von Tibia, Femur und Patella nach 30 min Sitzen zu verzeichnen. Nach der 30-minütigen Laufintervention war bei den gering-aktiven Kontrollen sowohl die Knorpeldicke als auch das Knorpelvolumen von Tibia und Patella signifikant verringert. Am Femur kam es regional zu einer Abnahme der Knorpeldicke und des Knorpelvolumens. Die 30-minütige Sprungintervention führte bei den gering-aktiven Kontrollen zu einer signifikanten Knorpeldeformation an Tibia und Patella, jedoch veränderte sich die Knorpeldicke und das Knorpelvolumen nicht am Femur. Die Art der Belastung (Lauf- versus Sprungintervention) hatte einen signifikanten Effekt auf die Knorpeldeformation.

Auch bei der Athletengruppe konnte nach der Sprungintervention eine Knorpeldeformation an Tibia und Patella, nicht aber am Femur festgestellt werden. Die Knorpeldeformation unterschied sich im Mittel nicht zwischen der Athletengruppe und den gering-aktiven Kontrollen.

Serum COMP Konzentration:

Am Ruhetag war bei den gering-aktiven Kontrollen keine signifikante Veränderung der Serum COMP Konzentration über den gesamten Untersuchungszeitraum im Vergleich zum Basislevel zu verzeichnen. Jedoch war unmittelbar nach der 30-minütigen Lauf- oder Sprungintervention die Serum COMP Konzentration der gering-aktiven Kontrollen signifikant erhöht und kehrte erst nach 1 h auf das Ausgangslevel zurück. Bei der Erhöhung der Serum COMP Konzentration hatte die Charakteristik der Belastung im Mittel keinen Effekt.

Der Vergleich der Serum COMP Konzentration nach einer 30-minütigen Sprungbelastung zwischen den gering-aktiven Kontrollen und der Impact-Athletengruppe

zeigte im Mittel keinen signifikanten Unterschied. Beide Gruppen wiesen einen signifikanten Anstieg der Serum COMP Konzentration unmittelbar nach der mechanischen Belastung auf. Nach 1 h kehrte die Serum COMP Konzentration wieder auf das Basislevel zurück.

Diskussion

Das Ziel der Studie war es, den Effekt von deutlich unterschiedlichen Belastungsmoduli auf die Serum COMP Konzentration und die Knorpeldeformation am Kniegelenk zu bestimmen. Außerdem sollte die Serum COMP Konzentration und die Knorpeldeformation im Kniegelenk nach einer Sprungintervention zwischen Athletinnen und Athleten aus High-Impact Sportarten und gering-aktiven Probandinnen und Probanden verglichen werden. Sowohl die Lauf- als auch Sprungintervention führte bei den gering-aktiven Kontrollen zu einem unmittelbaren Anstieg der Serum COMP Konzentration und zu einer Knorpeldeformation. Dabei hatte die Art der mechanischen Belastung einen Effekt auf die Knorpeldeformation. Im Vergleich zwischen der Athletengruppe und den gering-aktiven Kontrollen konnte kein Unterschied im Anstieg der Serum COMP Konzentration und der Knorpeldeformation nach der Sprungintervention festgestellt werden.

Ein Zusammenhang zwischen körperlicher Aktivität und der Serum COMP Konzentration wurde nach Laufbelastung festgestellt (Kim et al., 2009; Mündermann et al., 2005; Neidhart et al., 2000). Es wird spekuliert, dass die Erhöhung der Serum COMP Konzentration nach zyklischer Belastung den gesteigerten Knorpelstoffwechsel und eventuelle Gewebeschädigung reflektiert (Andersson et al., 2006; Neidhart et al., 2000). In dieser Studie führte sowohl die 30-minütige Lauf- als auch Sprungintervention zu einer Erhöhung der Serum COMP Konzentration bei der gering-aktiven Probandengruppe, wobei es schien, dass die Charakteristik der mechanischen Belastung im Mittel keinen Einfluss auf den Anstieg der Serum COMP Konzentration hatte. Innerhalb 1 Stunde nach der Lauf- oder Sprungbelastung war die Serum COMP Konzentration wieder zum Basislevel zurückgekehrt. Eine dosis-abhängige Steigerung der Serum COMP Konzentration kann jedoch nach Durchsicht der vorhandenen wissenschaftlichen Literatur angenommen werden, da sich je nach Intensität der mechanischen Belastung die Dauer des Anstiegs der Serum COMP Konzentration in den verschiedenen Studien unterschied (vgl. Kim et al., 2009; Mündermann et al., 2005; Neidhart et al., 2000). Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Serum COMP Konzentration auf vermehrte mechanische Belastung reagiert und COMP möglicherweise ein geeigneter Biomarker zur Beurteilung der individuellen Belastbarkeit des Gelenkknorpels sein könnte. Weitere Untersuchungen zum exakten Zusammenhang zwischen Intensität der Belastung für den Gelenkknorpel und der Serum COMP Konzentration sind hier notwendig. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen weiterhin, dass die unterschiedlichen Belastungscharakteristika zu einer regional unterschiedlichen Knorpeldeformation führten. Die Sprungintervention führte sowohl bei der Athletengruppe als auch bei den gering-aktiven Kontrollen zu einer Steigerung der Serum COMP Konzentration und zu einer Knorpeldeformation, wobei es im Mittel keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen gab. Die in dieser Studie eingesetzten Lauf- und Sprunginterventionen sind von der Intensität

für die Athletengruppe als gering und für die gering-aktiven Kontrollen als hoch einzuschätzen, so dass in auf diesen Ergebnissen aufbauenden Untersuchungen die Serum COMP Konzentration und die Knorpeldeformation nach sportartspezifischen und intensiven mechanischen Belastungen von Athletinnen und Athleten untersucht werden sollte.

Insgesamt konnte mit dieser Studie gezeigt werden, dass mittels Serum-Biomarker, die im Zusammenhang mit dem Metabolismus der Knorpelmatrix stehen, eine individuelle Abschätzung der Reaktion des Gelenkknorpels auf mechanische Belastung möglich ist. Auch die Bestimmung der Knorpeldeformation nach einer definierten mechanischen Belastung mittels Kernspintomographie erwies sich als ein wichtiger Marker zur Identifikation der Belastung und individuellen Belastbarkeitsabschätzung des Gelenkknorpels.

Literatur

- Andersson, M.L., Thorstensson, C.A., Roos, E.M., Petersson, I.F., Heinegård, D. & Saxne, T. (2006). Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) increase temporarily after physical exercise in patients with knee osteoarthritis. *BMC Musculoskeletal disorders*, 7, 98.
- Buckwalter, J.A. & Mankin, H.J. (1998). Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *Instructional course lectures*, 47, 487-504.
- Buschmann, M.D., Gluzband, Y.A., Grodzinsky, A.J. & Hunziker, E.B. (1995). Mechanical compression modulates matrix biosynthesis in chondrocyte/agarose culture. *Journal of cell science*, 108 (4), 1497-1508.
- Cohen, Z.A., McCarthy, D.M., Kwak, S.D., Legrand, P., Fogarasi, F., Ciaccio, E.J. & Atheshian, G.A. (1999). Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: In-vitro calibration and in-vivo measurements. *Osteoarthritis and cartilage*, 7 (1), 95-109.
- Dahlberg, L., Roos, H., Saxne, T., Heinegård, D., Lark, M.W., Hoerrner, L.A. & Lohmander, L.S. (1994). Cartilage metabolism in the injured and uninjured knee of the same patient. *Annals of the rheumatic diseases*, 53 (12), 823-827.
- Eckstein, F., Reiser, M., Englmeier, K.H. & Putz, R. (2001) In vivo morphometry and functional analysis of human articular cartilage with quantitative magnetic resonance imaging – from image to data, from data to theory. *Anatomy and embryology*, 203 (3), 147-173.
- Eckstein, F., Schnier, M., Haubner, M., Priebisch, J., Glaser, C., Englmeier, K.-H. & Reiser, M. (1998a). Accuracy of cartilage volume and thickness measurements with Magnetic Resonance Imaging. *Clinical orthopaedics and related research*, 352, 137-148.
- Eckstein, F., Westhoff, J., Sittek, H., Maag, K.P., Haubner, M., Faber, S., Englmeier, K.-H. & Reiser, M. (1998b). In vivo reproducibility of three-dimensional cartilage volume and thickness measurements with MR imaging. *American journal of roentgenology*, 170 (3), 593-597.

- Farquhar, T., Xia, Y., Mann, K., Bertram, J., Burton-Wurster, N., Jelinski, L. & Lust, G. (1996). Swelling and fibronectin accumulation in articular cartilage explants after cyclical impact. *Journal of orthopaedic research*, 14, 417-423.
- Halasz, K., Kassner, A., Morgelin, M. & Heinegard, D. (2007). COMP acts as a catalyst in collagen fibrillogenesis. *Journal of biological chemistry*, 282 (43), 31166-31173.
- Hedbom, E., Antonsson, P., Hjerpe, A., Aeschlimann, D., Paulsson, M., Rosa-Pimentel, E., Sommarin, Y., Wendel, M., Oldberg, A. & Heinegård, D. (1992). Cartilage matrix proteins: an acidic oligomeric protein (COMP) detected only in cartilage. *Journal of biological chemistry*, 267 (9), 6132-6136.
- Jeffrey, J.E., Gregory, D.W. & Aspden, R.M. (1995). Matrix damage and chondrocyte viability following a single impact load on articular cartilage. *Archives of biochemistry and biophysics*, 322 (1), 87-96.
- Kim, H.J., Lee, Y.H. & Kim, C.K. (2009). Changes in serum cartilage oligomeric matrix protein (COMP), plasma CPK and plasma hs-CRP in relation to running distance in a marathon (42.195 km) and an ultra-marathon (200 km) race. *European journal of applied physiology*, 105 (5), 765-770.
- Månsson, B., Carey, D., Alini, M., Ionescu, M., Rosenberg, L.C., Poole, A.R., Heinegård, D. & Saxne, T. (1995). Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis. Differences between rapid and slow progression of disease identified by serum markers of cartilage metabolism. *Journal of clinical investigation*, 95 (3), 1071-1077.
- Mörgelin, M., Heinegård, D., Engel, J. & Paulsson, M. (1992). Electron microscopy of native cartilage oligomeric matrix protein purified from the Swarm Rat chondrosarcoma reveals a five-armed structure. *Journal of biological chemistry*, 267 (9), 6137-6141.
- Mündermann, A., Dyrby, C.O., Andriacchi, T.P. & King, K.B. (2005). Serum concentration of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) is sensitive to physiological cyclic loading in healthy adults. *Osteoarthritis cartilage*, 13 (1), 34-38.
- Neidhart, M., Müller-Ladner, U., Frey, W., Bosserhoff, A.K., Colombani, P.C., Frey-Rindova, P., Hummel, K.M., Gay, R.E., Häuselmann, H. & Gay, S. (2000). Increased serum levels of non-collagenous matrix proteins (cartilage oligomeric matrix protein and melanoma inhibitory activity) in marathon runners. *Osteoarthritis cartilage*, 8 (3), 222-229.
- Peterfy, C.G., van Dijke, C.F., Janzen, D.L., Gluer, C.C., Namba, R., Majumdar, S., Lang, P. & Grenant, H.K. (1994). Quantification of articular cartilage in the knee with pulsed saturation transfer subtraction and fat suppressed MR imaging: optimization and validation. *Radiology*, 192 (2), 485-491.
- Petersson, I.F., Boegard, T., Svensson, B., Heinegård, D. & Saxne T. (1998). Changes in cartilage and bone metabolism identified by serum markers in early osteoarthritis of the knee joint. *British journal of rheumatology*, 37 (1), 46-50.
- Sah, R.L., Doong, J.Y., Grodzinsky, A.J., Plaas, A.H. & Sandy, J.D. (1991). Effects of compression on the loss of newly synthesized proteoglycans and proteins from cartilage explants. *Archives of biochemistry and biophysics*, 286 (1), 20-29.