

PROJEKT „Einfluss der Menopause auf die Östrogenrezeptor-Konzentration des Kniegelenkknorpels - MenoCart“

I) Stand der Forschung und eigene Vorarbeiten

1. Frauengesundheit und Genderforschung in Orthopädie und Kniechirurgie

In der modernen Medizin setzt sich zunehmend die Erkenntnis durch, dass biologische sowie soziokulturelle Geschlechtsunterschiede einen erheblichen Einfluss auf Krankheitsentstehung, -verlauf und Therapieerfolg haben können [2, 56]. Dieser Ansatz der Gendermedizin gewinnt auch im muskuloskelettalen Bereich stetig an Bedeutung – insbesondere bei Erkrankungen, die das Kniegelenk betreffen. Gerade in der Orthopädie und Kniechirurgie zeigen sich deutliche geschlechtsspezifische Unterschiede in Anatomie, Physiologie und der klinischen Präsentation von Erkrankungen, die für Diagnose und Therapie relevant sind [24].

Das Kniegelenk zählt zu den früh untersuchten Bereichen geschlechtsspezifischer Unterschiede. Bereits in den 1990er-Jahren konnten Studien zeigen, dass Frauen ein erhöhtes Risiko für bestimmte Knieverletzungen – vor allem Rupturen des vorderen Kreuzbandes – aufweisen [2, 24]. Zur Erklärung dieser Unterschiede wurden anatomische Besonderheiten [20], hormonelle Einflüsse [29, 35, 55] sowie neuromuskuläre Faktoren mit abweichenden Bewegungsmustern [20] identifiziert.

Trotz dieser Entwicklungen werden geschlechtsspezifische Unterschiede bei degenerativen Knieerkrankungen – insbesondere der Arthrose – bis heute nur unzureichend berücksichtigt. Die Gonarthrose ist eine der häufigsten degenerativen Gelenkerkrankungen und stellt insbesondere für Frauen nach der Menopause eine erhebliche gesundheitliche und sozioökonomische Belastung dar [23, 53]. Epidemiologische Studien zeigen, dass Frauen nach der Menopause nicht nur häufiger, sondern auch schwerer an Kniegelenksarthrose erkranken als Männer [22, 30, 49]. Die Ursachen hierfür sind multifaktoriell und umfassen neben mechanischen und metabolischen Faktoren insbesondere hormonelle Einflüsse. Viele Leitlinien und therapeutische Standards basieren überwiegend auf Daten männlicher Patientenkollektive und sind weitgehend geschlechtsneutral formuliert. Dies birgt das Risiko, dass wichtige Unterschiede in Epidemiologie, Symptomatik, Krankheitsprogression und Therapieansprechen unentdeckt bleiben.

Vor diesem Hintergrund ist eine differenzierte gendermedizinische Betrachtung der Arthrose von zentraler Bedeutung. Sie ermöglicht nicht nur ein besseres Verständnis geschlechtsspezifischer Risikokonstellationen und Krankheitsverläufe, sondern bildet auch die Grundlage für individualisierte Präventions-, Diagnostik- und Therapieansätze.

2. Hormonelle Einflüsse auf das Gelenk

1925 wurde durch Cecil und Archer ein Zusammenhang zwischen Östrogen und der Entwicklung von Arthrose vermutet [6]. In den 1990er Jahren konnten erstmals Östrogenrezeptoren (ERalpha und ERbeta) auf humanen, männlichen und weiblichen Chondrozyten nachgewiesen werden, somit sind beide klassischen nukleären Östrogenrezeptoren im Knorpel vorhanden und potenziell funktionell aktiv. [8, 47]. Damit zählt artikulärer Knorpel zu den sexualhormonsensiblen Geweben. Am Knochen beeinflusst Östrogen die Kalziumhomöostase, erhöht die Osteoblastenaktivität und senkt die Osteoklastentätigkeit [25, 45].

Weibliche Chondrozyten weisen eine wesentlich höhere Östrogenbindungskapazität auf als männliche [32]. Östradiol erhöht die Chondrozytenproliferation [37]. Der Effekt von Östradiol auf das Knorpelgewebe wird dabei über einen genomischen und nicht-genomischen Prozess vermittelt [18]. Zudem hat Östrogen einen mediatorvermittelten Effekt auf den Gelenkknorpel. Unter anderem wird die Sekretion und Synthese, beispielsweise von TGF β (Transforming growth factor) und IL-1 (Insulin like growth factor) von Östradiol beeinflusst [18]. Fasst man alle Effekte von Östrogen am Knorpel zusammen, so wirkt dieses chondroprotektiv und somit kann damit zumindest in Teilen die erhöhte Vulnerabilität des Knorpels in der Menopause begründet werden [4]. Zusätzlich exprimiert Knorpel Aromatase (CYP19A1) und kann demnach lokal Östrogene synthetisieren; Inhibitor-Experimente (z. B. Letrozol) zeigten Veränderungen in Rezeptorleveln und katabolen Markern, was auf eine aktive Autoregulation hindeutet. Östrogene wirken

nicht nur direkt auf artikuläre Chondrozyten, sondern modulieren auch die Funktion und Struktur anderer Gelenkkomponenten wie Synovialis, subchondraler Knochen und Meniskus, wodurch sie indirekt das mechanische und biochemische Milieu des Gelenkknorpels beeinflussen [27, 48, 55]. Synoviale Fibroblasten und Makrophagen exprimieren sowohl ER α als auch ER β . Östrogene hemmen hier proinflammatorische Signalwege, insbesondere NF- κ B und IL-1 β -vermittelte Kaskaden. Nach der Menopause, mit fallenden systemischen Östrogenspiegeln, kommt es vermehrt zu einer synovialen Reizreaktion (synovitis-like changes), die katabolen Mediatoren wie MMPs, ADAMTS und Zytokine (IL-6, TNF- α) freisetzt, welche wiederum den Knorpelabbau fördern [35]. Östrogene regulieren physiologisch den Knochenumbau durch Hemmung osteoklastärer Aktivität und Förderung osteoblastärer Differenzierung. Nach der Menopause führt der Wegfall dieser Regulation zu einem beschleunigten subchondralen Remodeling, was die Ernährung des Knorpels reduziert und somit Anfälliger für Mikrotraumen macht [26, 55].

Diese Erkenntnis ist wichtig, weil sie nahelegt, dass sowohl systemische Östrogene (Menopause/HRT – Hormone replacement Therapy) als auch lokale Synthese die Knorpelphysiologie beeinflussen können [41].

Aktuelle Studien zeigen, dass eine Hormonersatztherapie (HRT) ab der Menopause das Arthroserisiko verringern kann, da die frühzeitige Gabe dem Verschleiß von Knorpel als östrogenaktivem Gewebe entgegenwirkt [37]. Neuere Arbeiten deuten darauf hin, dass ER α -Level in degeneriertem Knorpel vermindert sind und Verlust von ER α in Tiermodellen die Knorpeldegeneration beschleunigt — was ER α eine protektive Rolle nahelegt. Allerdings gibt es heterogene Befunde bzgl. ER β und nicht-genomischer Rezeptorwege (z. B. GPER1) [48].

Die genaue Rolle von Östrogen und seinen Rezeptoren in der Pathogenese der Arthrose ist daher weiterhin Gegenstand intensiver Forschung. Zum aktuellen Zeitpunkt liegen noch keine Daten vor ob das Alter oder die Zeit seit der Menopause den größeren Einfluss auf die Arthroseentstehung haben.

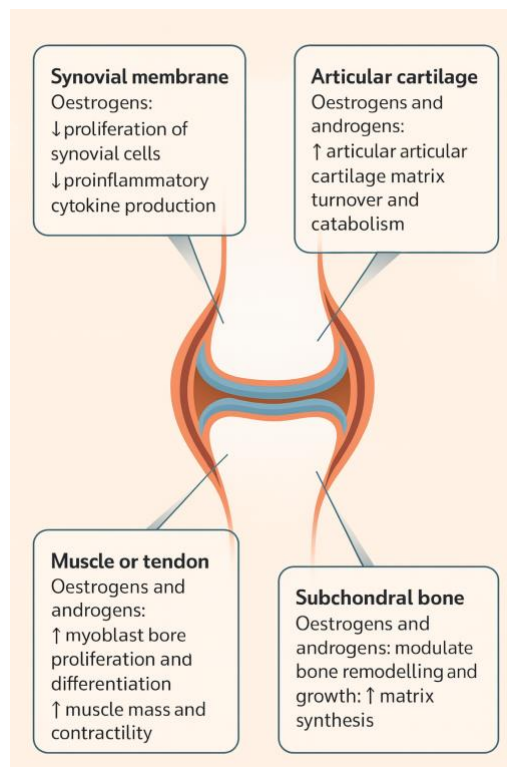


Abbildung 1 Einfluss der Sexualhormone auf die Gelenkhomeostase, modifiziert nach Gulati et. al, *Lancet Rheumatol.* 2023 [21, 26]

3. Geschlechtsunterschiede im Knorpel und Einfluss der Menopause

Bereits bei Kindern konnte sonographisch nachgewiesen werden, dass Mädchen generell an allen Gelenken einen signifikant dünneren Knorpel aufweisen als Jungs [19, 43]. Und auch Männer haben signifikant mehr Knorpelvolumen im Knie als Frauen, wobei dieser Unterschied im Alter noch zunimmt [7, 22]. Auch Prävalenz und Inzidenz einer Gonarthrose ist bei Frauen signifikant höher als bei Männern [44]. Wluka et al. berichteten, dass tibiales Knorpelvolumen bei postmenopausalen Frauen im Mittel zwischen 1,5–3,2 % Verlust pro Jahr liegt; andere Kohorten fanden ähnliche Raten (ca. 1–2 %/Jahr), wobei Alter und Geschlecht den Verlauf modifizieren [5, 51].

Postmenopausal kommt es dann zu einer signifikanten Progression der Knorpeldegeneration [30]. Nach Eintritt der Menopause sinkt der systemische Östrogenspiegel stark — dies vermindert die Aktivierung von Östrogenrezeptoren (z. B. ER α /ER β) in Chondrozyten sowie die ausgleichende lokale Östrogenwirkung. Dadurch kommt es zu einer verminderten Hemmung der Chondrozytenapoptose, einer reduzierten Synthese von Matrixbestandteilen (z. B. Proteoglykane, Kollagen II), und einer erhöhten Aktivität von Matrixabbauenzymen (z. B. MMPs) — all das führt langfristig zu Strukturverlust im Knorpel [38–40].

Eine klassische Beobachtung ist, dass Frauen, die längerfristig Östrogenersatztherapie (ERT/HRT) verwendeten (>5 Jahre), größere tibiale Knorpelvolumina aufwiesen als Nicht-Nutzer — dies wurde in mehreren Studien (querschnittlich und longitudinal) berichtet und spricht für einen möglichen schützenden Effekt systemischer Östrogene auf Knorpelmasse. Allerdings sind Ergebnisse nicht einheitlich für alle Gelenkkompartimente (z. B. Patella vs. Tibia) [38, 46, 50].

Die Zeit seit der Menopause (YSM – Years since Menopause) ist erst in den letzten Jahren in den Fokus der Wissenschaft als relevanter Faktor bei verschiedensten Beobachtungen der Gendermedizin gerückt

[1, 52]. In Bezug auf die orthopädische Forschung ist die Studienlage im Zusammenhang mit der YSM noch sehr dünn. 2016 wurde der Faktor bei einer MRT-morphologischen Studie berücksichtigt [30]. Hier zeigte eine größere klinische Studie an 860 Frauen, dass nach der Menopause die Knorpeldegeneration besonders in den ersten 25 Jahren zunahm. Bei sehr langen YSM (>25 Jahre) war der Unterschied zu jüngeren Postmenopausalen weniger ausgeprägt. Das legt nahe, dass die Perimenopause und die frühen Jahre nach dem Eintreten der Menopause eine besonders kritische Periode für Knorpelveränderungen sein könnten [29]. Mit steigendem YSM wächst die kumulative Exposition gegenüber ungünstigen Belastungs-, Entzündungs- und Alterungsprozessen, die durch den Wegfall estrogenabhängiger Protektion weniger effektiv kompensiert werden. In älteren postmenopausalen Jahren könnten mechanische Mikrotraumen, reduzierte regenerative Kapazität, Veränderungen des subchondralen Knochens [26] und Entzündungs- bzw. Metabolismus-Effekte dominanter werden als der direkte hormonelle Trigger — was das beobachtete Plateau bei YSM > 25 J erklären könnte [29]. Global-epidemiologische Daten zeigen zudem, dass die Anzahl von OA-Fällen bei postmenopausalen Frauen in den letzten Jahrzehnten stark gestiegen ist (über +130 % seit 1990) — was zumindest zu einem Teil auf hormonelle Umstellungen bzw. Menopause-Effekte zurückgeführt wird [53]. 2020 litten weltweit 8% aller Menschen an Arthrose, wobei postmenopausale Frauen einem deutlichen höherem Risiko unterliegen [54]. Hiermit wird auch deutlich wie relevant dieses Thema, sowohl gesellschaftlich als auch ökonomisch ist.

5. Eigene Vorarbeiten

Bereits seit Beginn meiner Weiterbildungszeit setze ich mich mit dem Thema Knorpelschäden und Gelenkerhalt auseinander [10, 11, 13–15]. Hier bin ich Mitglied in verschiedenen Komitees der Fachgesellschaften (Komitee „Meniskus & Knorpel“ und „Osteotomie“ der DKG – Deutsche Kniegesellschaft, „AG Geweberegeneration der DGOU“ – Deutsche Gesellschaft für Orthopädie und Unfallchirurgie) und veröffentliche in diesem Rahmen relevante Artikel zu Therapieempfehlungen im Bereich der gelenkerhaltenden Therapie [3, 33, 34]. Im Rahmen eigener Arbeiten konnte unsere Arbeitsgruppe die Bedeutung geschlechtsspezifischer Unterschiede in der Knorpelchirurgie und Arthrosenforschung herausarbeiten. In einer Analyse von 4.968 Patienten aus dem deutschen Knorpelregister (KnorpelRegister DGOU) wurde gezeigt, dass das Geschlecht einen signifikanten Einfluss auf das Outcome nach Knorpelreparatur hat [16]. Hier konnten wir erstmals zeigen, dass Frauen einen höheren Zuwachs an PROMS aufwiesen. Absolut gesehen – wie aus vielen Studien bekannt [17, 28] – weisen weibliche Patientinnen schlechtere funktionelle Ergebnisse auf, jedoch zeigt sich dieser schlechtere PROM bei Frauen bereits präoperativ. In diesem Zusammenhang wurden in Bezug auf die Knorpeltherapie auch erstmal gängige PROMS hinterfragt, und ob diese zur Beantwortung von Gender-Fragestellungen modifiziert bzw. differenzierter betrachtet werden sollten. In einer weiteren Publikation wurde die Gendermedizin in der Knorpelchirurgie umfassend dargestellt und die Notwendigkeit einer stärkeren Berücksichtigung von Geschlecht und Hormonen in der orthopädischen Forschung betont [12]. Diese Arbeiten wurden in hochrangigen Fachzeitschriften veröffentlicht und mehrfach zitiert. Obwohl mein wissenschaftlicher Schwerpunkt bisher überwiegend im Bereich der klinischen Forschung lag und ich hierzu umfangreich publiziert habe, verfüge ich über eine solide Grundlage für die Durchführung eines experimentellen Laborprojekts. Während eines dreiwöchigen Forschungsaufenthalts im Labor von Christian Letterman an der Harvard University konnte ich gezielte Einblicke in moderne laborbasierte Methoden der muskuloskelettalen Forschung gewinnen und praktische Fertigkeiten im experimentellen Arbeiten erwerben. Diese Erfahrung hat meine methodische Kompetenz im Labor vertieft und zugleich mein Interesse an der Verbindung klinischer Fragestellungen mit molekularbiologischen Analysen gestärkt.

Durch meine ausgeprägte Expertise in klinisch-orthopädischer Forschung, meine Fähigkeit zur strukturierten Studienplanung und Datenauswertung sowie die vorhandene laborpraktische Vorerfahrung bin ich gut dafür qualifiziert, das beantragte translational ausgerichtete Projekt erfolgreich umzusetzen und die Brücke zwischen klinischer Relevanz und experimenteller Detailanalyse zu schlagen.

6. Forschungsbedarf und Beitrag des geplanten Projekts

Trotz der beschriebenen Fortschritte bestehen weiterhin wesentliche Wissenslücken: Es ist bislang unklar, ob das Alter oder die Zeit seit der Menopause den größeren Einfluss auf die Arthroseentstehung und die Knorpeldegeneration haben. Auch die Rolle der Östrogenrezeptordichte im Kniegelenkknorpel in Abhängigkeit vom Menopausenstatus ist nicht abschließend geklärt. Das geplante Projekt adressiert diese Lücken durch eine prospektive, translational angelegte Studie, die erstmals den Zusammenhang zwischen Menopause, Zeit seit der Menopause, Östrogenrezeptordichte und Knorpelvolumen systematisch untersucht. Damit leistet das Vorhaben einen innovativen und weiterführenden Beitrag zur Gendermedizin und zur Pathophysiologie der Arthrose.

II) Ziele und Arbeitsprogramm inkl. Methoden

Hypothese I:

Es gibt einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Östrogenrezeptordichte und dem histologischen Arthrostadium im Kniegelenkknorpel von Arthrosepatientinnen.

Hypothese II:

Es gibt einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Immunhistochemie (histologischem Arthrostadium & Östrogenrezeptordichte) mit dem Östrogenspiegel im Blut und in der Synovialflüssigkeit.

Primäres Ziel:

Analyse des Zusammenhangs zwischen der Menopause, der Zeit seit der Menopause, dem Östrogenspiegel im Blut und in der Synovialflüssigkeit, der Östrogenrezeptordichte, sowie deren Genexpression in Knorpelzellen des Kniegelenks

Sekundäre Ziele:

Gewinnung von Erkenntnissen zur Pathophysiologie der Arthroseprogression postmenopausal. Identifikation von Ansatzpunkten für zukünftige Studien zur geschlechtsspezifischen Arthroserforschung und potenziellen Therapien.

Arbeitsprogramm inkl. Methoden

1. Rekrutierung und Probenentnahme

Ethikvotum: Die Ethikkommission der LMU München hat diesem Forschungsantrag am 20.11.2025 zugestimmt. Das positive Votum ist dem Antrag angehängen.

Population / Einschluss: Geplant sind mindestens 18 Patientinnen mit Gonarthrose (ICD-10 M17) (mind. 3 prämenopausal, mind. 15 postmenopausal) bei denen die Implantation einer Knie-Totalendoprothese (K-TEP) bevorsteht. Das Screening erfolgt anhand des Operationplanes. Der Studieneinschluss erfolgt im Rahmen des OP-Vorbereitungsgesprächs am Vortag der Operation. In diesem Zusammenhang werden die Studiendokumente ausgehändigt und im Anschluss ausgefüllt und unterschrieben wieder eingesammelt. Im Rahmen der präoperativen Vorbereitung wird routinemäßig das Patientenblut im Zentrallabor des LMU-Klinikums untersucht. Im Rahmen dessen wird der Östrogenspiegel im Serum bestimmt.

Ausschluss: Infektionen, Rheumatoide Arthritis oder andere inflammatorische Arthritis, Autoimmunerkrankungen.

Datenerhebung (präoperativ): Alter, Menopausenstatus (Datum der letzten Menstruation), Zeit seit der Menopause (Monate), Medikation (ggf. HRT, orale Kontrazeptiva), Voroperationen (Gynäkologisch und am Kniegelenk), radiologische Befunde (MRT falls vorhanden).

Probengewinnung: Die Verschnitte der KTEP-Implantation werden direkt aus dem Operationssaal abgeholt. Dieses Verfahren ist bereits im Rahmen der Biobank BaMuFo etabliert. Anschließend wird der OARSI Score visuell im Labor bestimmt. Hierfür werden alle Verschnitte fotografiert. Außerdem wird Synovialflüssigkeit aspiriert (nach arthrotomischer Öffnung) und anteilig einerseits ans Zentrallabor für die Bestimmung der Zellzahl und Leukozytendifferenzierung und andererseits für Folgeprojekte und ggf. Hormonbestimmung im Forschungslabor eingelagert. Aus den Kniegelenksverschnitten werden pro Patientin 10 Stenzen (jeweils 3 am medialen & lateralen Kondylus, 3 in der Trochlea und 1 in der Notch) zur immunhistochemischen und genomischen Analyse genommen. Somit wird ein Minimum von 180 Proben erreicht.

2. Probenverarbeitung und -analyse

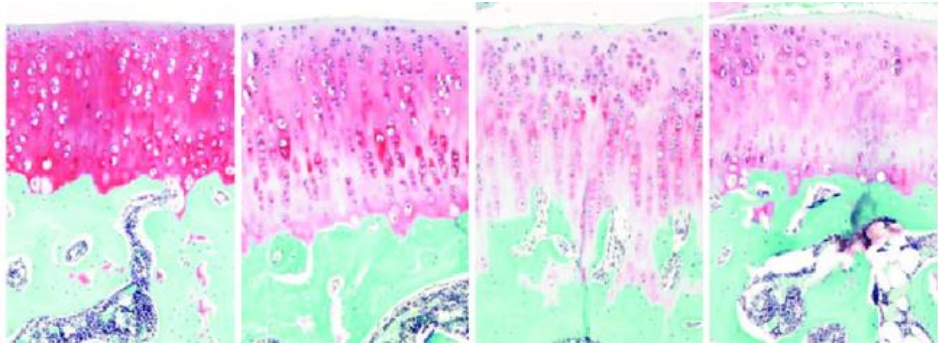
2.1) Bildgebung

Falls eine MRT-Untersuchung (nicht älter als 1 Jahr zum Operationszeitpunkt) des operierten Kniegelenkes vorhanden ist, soll eine volumetrische Bestimmung des Knorpelvolumens und der durchschnittlichen Knorpeldicke in vordefinierten Subregionen (medial/lateral/patellofemoral) mithilfe einer 3D-Slicer-Software erfolgen [37]. Hierfür wird eine Anleitung und Anlernen durch einen Facharzt für Radiologie erfolgen.

2.2) Makroskopie & Histologie

Die Verschnitte werden makroskopisch nach dem OARSI-Score [21] und SFA-Score [9, 36] eingeteilt. Zur Qualitätssicherung werden die Verschnitte hochauflösend fotografiert.

Es werden Standardfärbungen (Hämatoxylin-Eosin, Safranin-O/Fast-Green) zur strukturellen Beurteilung des Knorpels durchgeführt. Nach Färbung erfolgt die doppel-verblindete Einstufung der Chondrozyten nach dem modifizierten Score nach Mankin [31, 42] durch zwei unabhängige Beurteilende.



Modified Mankin Scoring System

Total score	0	3	6	9
Structure	0	0	2	3
Cellular abnormalities	0	1	1	3
Matrix staining	0	2	3	3

Abbildung 2 Beispielhafte Anwendung des modified Mankin Scores [26]

2.3) Immunhistochemische Analyse der ER- α -Expression

Zur Untersuchung der Expression des Östrogenrezeptors- α (ER- α) im Gelenkknorpel werden formalinfizierte, paraffineingebettete Proben in 5- μ m-dicke Gewebeschnitte überführt.

Für die immunhistochemische Detektion von ER- α werden die Schnitte auf haftende Objektträger aufgezogen und mit Poly-L-Lysin beschichtet. Eine Blockierung der endogenen Peroxidaseaktivität erfolgt durch eine 10-minütige Inkubation in 3 % Wasserstoffperoxid in 100%igem Methanol. Anschließend wird ein hitzeinduziertes Antigen-Retrieval in Citratpuffer (pH 6,0) bei 95 °C durchgeführt.

Nach einer Blockierung unspezifischer Bindungsstellen (10 % normales Ziegeserum, 1 % BSA in PBS) werden die Gewebepreparate über Nacht bei 4 °C mit einem primären Anti-ER- α -Antikörper (Anti-Estrogen Receptor alpha antibody [SP1] (ab16660)) inkubiert. Die Detektion erfolgt anschließend über einen biotinylierten Sekundärantikörper (EnVision+ Single Reagent (HRP, Rabbit)). Die Gegenfärbung wird mit Harris-Hämatoxylin vorgenommen, bevor die Schnitte dehydriert, geklärt und eingedeckt werden. Negative Kontrollen entstehen durch das Weglassen des Primärantikörpers. Dieses Verfahren gewährleistet eine reproduzierbare Darstellung ER- α -positiver Chondrozyten [23].

Die Intensität der ER- α -Immunreaktivität wird anhand einer vierstufigen Skala (1 = niedrig bis 4 = hoch) semiquantitativ unter Zuhilfenahme von KI-basierten Methoden bewertet. Die Schnitte werden anonymisiert und unabhängig von zwei verblindeten Untersuchern beurteilt; etwaige Unterschiede in der Bewertung werden über einen Konsensprozess ausgeglichen. Für beide Gruppen wird der prozentuale

Anteil an Zellkernen mit starker ER- α -Expression (Score 3–4) ermittelt. Dieses Vorgehen ermöglicht eine präzise Erfassung hormonrezeptorabhängiger Aktivitätsmuster im Gelenkknorpel.

2.4) Chondrozyten-RNA / Genexpressions-Analyse

Mittels RNA Analyse werden chondrogene Proben auf das Vorliegen von Arthrosemarkern analysiert. Das Sequencing wird in Zusammenarbeit mit dem Genzentrum München (Ansprechpartner Dr. Stefan Krebs) durchgeführt.

Zur Untersuchung des hormonellen Einflusses der Menopause auf das Transkriptionsprofil von Knorpelzellen analysiere ich Primärzellpräparationen mittels 3'-mRNA-Sequenzierung. Die Gesamt-RNA wird nach standardisierten Isolationsprotokollen aus den Knorpelzellen der KTEP-Verschnitte gewonnen und zunächst auf Qualität und Integrität überprüft.

Für die Bibliothekspräparation setze ich das QuantSeq 3' mRNA-Seq Library Prep Kit (FWD) von Lexogen ein. Dieses umfasst das Library Generation Module (Ref: M11296-2-0200, Lot: 018059, 96 Prep) sowie das Purification Module (Cat. No. 022). Die Amplifikation der Bibliotheken erfolgt mithilfe eines Unique Dual Index Primer Pairs (UDI12A_0001–0384), wodurch eine eindeutige Probenidentifikation und Minimierung von Index-Hopping gewährleistet ist.

Zur Feinabstimmung der Amplifikationsbedingungen und Sicherstellung einer optimalen Bibliotheksqualität verwende ich zusätzlich das PCR Add-on and Reamplification Kit V2 (Cat. No. 208). Dieses dient der Anpassung der Zykluszahl und ermöglicht bei Bedarf eine kontrollierte Reamplifikation. Die finalen Libraries werden anschließend auf dem AVITI24-Sequenziersystem sequenziert. Die Plattform unterstützt kurze Fragmentbibliotheken und gewährleistet eine hohe Sequenzierqualität sowie eine präzise Quantifizierung der Genexpression. Die Rohdaten werden nach dem Sequenzierlauf einem standardisierten Bioinformatik-Workflow unterzogen, der Qualitätskontrolle, Alignment und Quantifizierung der 3'-Transkriptenden umfasst.

Dieser methodische Ansatz ermöglicht eine robuste und reproduzierbare Analyse der genomischen Antworten von Knorpelzellen auf hormonelle Veränderungen im Kontext der Menopause (z.B. Erfassung der Expression von Estrogen-responsive genes, Knorpel-Remodelling-Genen (z.B. MMPs (Matrix-Metallo-Proteinase) und ADAMTS (A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-1-like domains)), Inflammations-Genen, Seneszenzmarker, Genexpression von Östrogenrezeptoren [47]).

2.5) Hormonmessungen

Es erfolgt eine Messung der Östrogenkonzentration im Serum über das Zentrallabor des LMU Klinikums Großhadern. Die Analyse der Östrogenkonzentration in der Synovialflüssigkeit wird in Zusammenarbeit mit dem Forschungslabor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe (Leitung PD Dr. rer. Nat. Mirjana Kessler) mittels eines quantitativen CLIA-Assays bestimmt. Nach Zentrifugation zur Entfernung zellulärer Bestandteile werden die Proben gemäß den Herstellerangaben verdünnt und in die beschichteten CLIA-Platten pipettiert. Nach Zugabe der Detektionsreagenzien und Inkubation erfolgt die Farbreaktion über das enzymgekoppelte Substrat. Die optische Dichte der einzelnen Wells wird anschließend mit einem modernen Varioskan-Reader erfasst, der eine präzise Mehrwellenlängenmessung sowie interne Qualitätskontrollen ermöglicht. Die Auswertung der Messwerte erfolgt durch automatische Generierung einer Standardkurve und Berechnung der Östrogenkonzentrationen in den Proben.

3. Statistische Auswertung

Zur Auswertung wird eine SPSS Datenbank erstellt. Alle Datensätze werden zunächst auf Normalverteilung und Varianzhomogenität geprüft. Abhängig von der Verteilungsstruktur kommen parametrische oder nichtparametrische Tests zur Anwendung. Für Gruppenvergleiche werden t-Tests, Mann-Whitney-U-Tests oder ANOVA/ANCOVA-Modelle eingesetzt; bei multiplen Vergleichen wird eine geeignete Korrektur (z. B. Holm-Šidák oder Benjamini-Hochberg) vorgenommen. Für die Transkriptionsdaten des Genome Sequencing erfolgt die Identifikation differentiell exprimierter Gene über DESeq2 mit Shrinkage-basierter Schätzung der log2-Fold-Changes (z. B. apeglm-Methode). Batch-Effekte und technische Kovariablen werden über entsprechende Modellterme oder Surrogate Variable Analysis berücksichtigt. Zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen hormonellen Parametern (z. B. Östrogenkonzentrationen), zellulären Phänotypen (z.B. der Östrogenrezeptordichte, OARSI Score) und Expressionsprofilen werden Pearson- oder Spearman-Korrelationen, lineare Regressionsmodelle sowie ggf. Regularisierungsverfahren (Lasso/Ridge, Elastic Net) eingesetzt. Multivariate Zusammenhänge werden zusätzlich mittels PCA oder hierarchischem Clustering exploriert. Für alle

Analysen gilt ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$. Effektgrößen (Cohen's d, η^2 , log2FC), 95 %-Konfidenzintervalle und adjustierte p-Werte werden systematisch berichtet. Die angestrebte Power liegt über 0,8. Im Rahmen einer Sample-Size-Kalkulation durch Dr. Crispin vom IBE (IBE - Institute for Medical Information Processing, Biometry and Epidemiology) wurde für die Analyse von reaktiven Chondrozyten eine Power von 0,993 bei 18 Proben (3 prämenopausal und 15 postmenopausal) berechnet. Die Auswertung soll in Zusammenarbeit mit dem IBE erfolgen.

Zur Minimierung systematischer Verzerrungen werden mehrere Maßnahmen umgesetzt. Ein Selektionsbias wird durch die konsekutive Rekrutierung aller geeigneten Patientinnen sowie die Dokumentation von Dropouts und Ausschlussgründen reduziert. Informationsbias wird durch standardisierte Datenerhebungsbögen vermieden; die Bildauswertung erfolgt geblendet hinsichtlich des Menopausenstatus, biochemische Experimente werden in randomisierter Reihenfolge bearbeitet, um Batch-Effekte zu verhindern. Confounder wie Alter, BMI, Medikation, Komorbiditäten und Hormonersatztherapie werden erfasst und in multivariablen Modellen adjustiert. Fehlende Daten werden dokumentiert. Zusätzlich wird die Primäranalyse statistisch geblendet durchgeführt: Der Menopausenstatus ist bis zur finalen Analyse kodiert, sodass die Auswertung objektiv erfolgt.

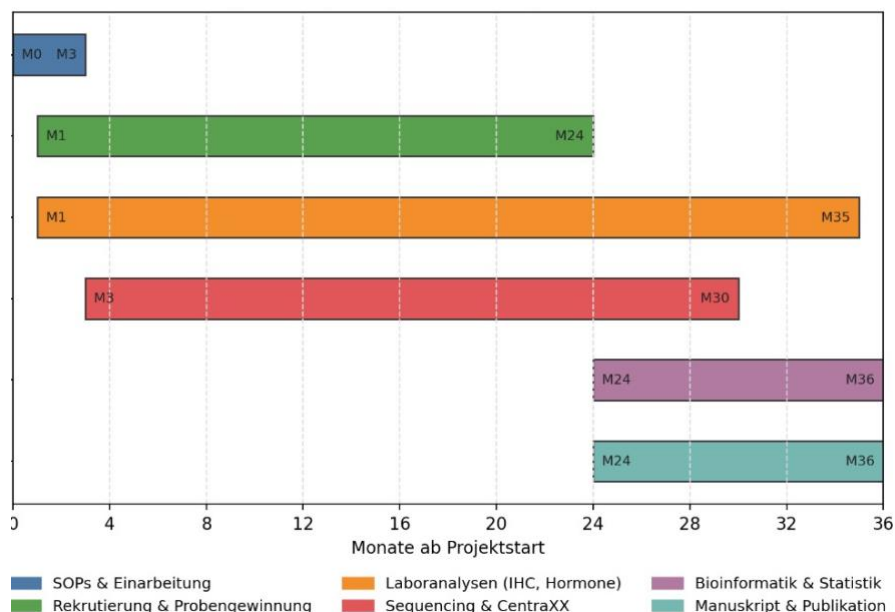
4. Translatiöner Charakter

Der translatiöner Charakter des Projektes ergibt sich aus der direkten Verbindung molekularer Marker mit klinisch relevanten Endpunkten (OARSI- bzw. SFA-Score, Knorpeldicke/-volumen). Die Identifikation von Biomarkern erfolgt durch die Kopplung der Östrogenrezeptordichte sowie spezifischer ER-abhängiger Gene mit bildgebenden Parametern wie dem Knorpelvolumen, wodurch potenzielle Diagnose- und Prognosemarker entwickelt werden können. Sekundär wird dies in Korrelation mit dem Östrogenspiegel im Blut und der Synovialflüssigkeit gestellt. Sollte sich zeigen, dass die Östrogenrezeptorexpression bzw. bestimmte Östrogen-sensitive Gene im Gelenkknorpel Veränderungen in Korrelation mit dem Östrogenspiegel im Blut und der Synovialflüssigkeit zeigen, liefert dies rationale Ansatzpunkte für die Evaluation systemischer oder lokal gerichteter therapeutischer Strategien, etwa einer Hormonersatztherapie (HRT). Gegebenenfalls lässt sich dies mit Serum-Östrogen-Level korrelieren und somit ein Screening für Hormon-induzierte-Arthrose etablieren. Darüber hinaus können die Ergebnisse genutzt werden, um postmenopausale Subgruppen zu identifizieren, die für geschlechtsspezifische Interventionen besonders geeignet sind, und damit die Stratifizierung zukünftiger klinischer Studien zu verbessern. Schließlich trägt das Projekt wesentlich zum wissenschaftlichen Verständnis der molekularen Mechanismen postmenopausaler Arthroseprogression bei, indem es eine direkte Verknüpfung zwischen bildgebenden Endpunkten und molekularer Pathophysiologie herstellt.

6. Zeit- und Ressourcenplan

- **Monat 0–3:** Erstellung von SOPs, Rekrutierung von 1 Doktorand/in, Einarbeitung, Briefing des Teams
- **Monat 1–24:** Rekrutierung und Probengewinnung (abhängig OP-Volumen).
 - **parallel:** Laboranalysen (IHC, Hormone) laufend; in Batches dann das Genome Sequencing Einpflegen in die CentraXX Datenbank

- **Monat 24–36:** Bioinformatik + Statistik, Manuskript/Reporting, Publikation



Umgang mit Forschungsdaten

Die Datenerhebung und -speicherung erfolgt pseudonymisiert auf einem gesicherten Server des MUM. Es erfolgt keine Weitergabe von Patientendaten oder Gewebe an Dritte. Restmaterial kann nach separater Einwilligung in die BaMuFo-Biobank eingelagert werden.

Open Science

Das Forschungsvorhaben orientiert sich an den Leitlinien guter wissenschaftlicher Praxis der DFG sowie an den Open-Science-Prinzipien der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU). Alle Arbeitsschritte werden nach standardisierten SOPs (Standard Operating Procedures) durchgeführt und dokumentiert, um Reproduzierbarkeit und Nachvollziehbarkeit sicherzustellen.

Die Probenverarbeitung und Datenauswertung erfolgen verblindet und nach einem vorab definierten, statistisch kontrollierten Ablaufplan. Die Gruppenzuordnung (prä- vs. postmenopausal) wird durch eine unabhängige Person codiert, sodass Laboranalysen und Bioinformatik-Auswertungen ohne Kenntnis des Menopausenstatus erfolgen. Die statistische Auswertung wird in enger Kooperation mit dem Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE) der LMU durchgeführt, welches die Randomisierung, Poweranalyse und Modellvalidierung begleitet.

Das Datenmanagement erfolgt gemäß der LMU Open Data Policy. Forschungsdaten werden nach den FAIR-Prinzipien (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable) verarbeitet. Eine Datenmanagement-Plattform (CentraXX) wurde am MUM implementiert, um klinische und Forschungsdaten zusammenzuführen und einen direkten Zugriff auf das KAS-System zu ermöglichen. Die Pseudonymisierung einschließlich einer sicheren und nachvollziehbaren Datenspeicherung der Proben erfolgt über CentraXX. Der Rollout von CentraXX wurde bereits abgeschlossen.

Die Ergebnisse werden in Open-Access-Journals publiziert. Präregistrierung und Studienprotokoll werden in OSF und ClinicalTrials.gov hinterlegt, um Transparenz, Nachvollziehbarkeit und Reproduzierbarkeit zu gewährleisten.

Relevanz von Geschlecht und/oder Vielfältigkeit

Das Geschlecht spielt in diesem Forschungsvorhaben eine zentrale biologische und pathophysiologische Rolle. Die Menopause ist ein geschlechtsspezifisches, hormonell determiniertes Ereignis, das ausschließlich Frauen betrifft und mit einem drastischen Abfall zirkulierender Östrogenspiegel einhergeht. Dieser hormonelle Übergang wird als maßgeblicher Faktor für strukturelle und funktionelle Veränderungen im Gelenkknorpel sowie für die höhere Prävalenz und Progression der Arthrose bei postmenopausalen Frauen angesehen. Entsprechend fokussiert die Studie auf weibliche Probandinnen und untersucht explizit den Einfluss des Menopausenstatus, der Zeit seit der Menopause und der Östrogenrezeptor-Dichte auf die Genexpression und das Knorpelvolumen.

Der Gesundheitszustand der Teilnehmerinnen ist ebenfalls von hoher Relevanz: Eingeschlossen werden ausschließlich Patientinnen mit klinisch und bildgebend gesicherter Gonarthrose, um eine homogene Studienpopulation mit klar definierter Erkrankung zu gewährleisten. Komorbiditäten (z. B. Voroperationen, Medikation, hormonelle Therapien) werden systematisch erfasst, da sie potenzielle Confounder für hormonelle, metabolische und entzündliche Mechanismen darstellen.

Die Herkunft der untersuchten Personen spielt für die wissenschaftliche Fragestellung nur eine untergeordnete Rolle. Die Rekrutierung erfolgt konsekutiv und ohne Einschränkung bezüglich ethnischer Zugehörigkeit, um eine möglichst repräsentative Patientinnenkohorte zu erzielen.

Insgesamt ist das weibliche Geschlecht eine notwendige biologische Variable für die Beantwortung der Forschungsfrage, während Gesundheitszustand und Herkunft als Kovariablen kontrolliert bzw. dokumentiert werden, um Verzerrungen zu vermeiden und die Generalisierbarkeit der Ergebnisse zu sichern.

III) Literatur

1. Arana A, Ocerin I, López JI, Echevarría E, Larrinaga G (2025) Duration of Menopause, Rather than Primary Hyperparathyroidism Severity, Predicts Osteoporosis in Postmenopausal Women: A Pilot Study from a Spanish Reference Center. *J Clin Med* 14(20):7398
2. Arendt E, Dick R (1995) Knee Injury Patterns Among Men and Women in Collegiate Basketball and Soccer: NCAA Data and Review of Literature. *Am J Sports Med* 23(6):694–701
3. Balke M, Metzlaß S, Faber S, Niethammer T, Roessler PP, Henkelmann R, Diermeier T, Kurme A, Winkler PW, Colcuc S, Zimmermann G, rald, Petersen W (2021) Posterior meniscus root tears. *Orthopäde* 50(12):1039–1050
4. Breu A, Sprinzing B, Merkl K, Bechmann V, Kujat R, Jenei-Lanzl Z, Prantl L, Angele P (2011) Estrogen reduces cellular aging in human mesenchymal stem cells and chondrocytes. *J Orthop Res* 29(10):1563–1571
5. Cai G, Jiang M, Cicuttini F, Jones G (2019) Association of age, sex and BMI with the rate of change in tibial cartilage volume: A 10.7-year longitudinal cohort study. *Arthritis Res Ther* 21(1):1–11
6. Cecil RL, Archer BH (1925) ARTHRITIS OF THE MENOPAUSE: A STUDY OF FIFTY CASES. *J Am Med Assoc* 84(2):75–79
7. Cicuttini F, Forbes A, Morris K, Darling S, Bailey M, Stuckey S (1999) Gender differences in knee cartilage volume as measured by magnetic resonance imaging. *Osteoarthritis Cartilage* 7(3):265–271
8. Claassen H, Hassenpflug J, Schünke M, Sierralta W, Thole H, Kurz B (2001) Immunohistochemical detection of estrogen receptor alpha in articular chondrocytes from cows, pigs and humans: in situ and in vitro results. *Ann Anat* 183(3):223–227
9. Dougados M, Ayral X, Listrat V, Gueguen A, Bahaud J, Beaufils P, Beguin JA, Bonvarlet JP, Boyer T, Coudane H, Delaunay C, Dorfmann H, Dubos JP, Frank A, Kempf JF, Locker B, Prudhon JL, Thiery J (1994) The SFA system for assessing articular cartilage lesions at arthroscopy of the knee. *Arthroscopy* 10(1):69–77
10. Faber S (2021) Which factors influence patient satisfaction after cartilage repair? *Arthroskopie* DOI: 10.1007/s00142-021-00462-x
11. Faber S, Angele P, Zellner J, Bode G, Hochrein A, Niemeyer P (2020) Comparison of Clinical Outcome following Cartilage Repair for Patients with Underlying Varus Deformity with or without Additional High Tibial Osteotomy: A Propensity Score–Matched Study Based on the German Cartilage Registry (KnorpelRegister DGOU). *Cartilage* DOI: 10.1177/1947603520982347
12. Faber S, Bumberger A, Diermeier T (2024) Gendermedizin in der Knorpelchirurgie. *Knie Journal* 6(3):119–123
13. Faber S, Niemeyer P, Fickert S (2021) Knorpelersatzverfahren und Regeneration am Knie- und Hüftgelenk. *Orthopädie und Unfallchirurgie up2date* 16(04):335–356
14. Faber S, Zellner J, Angele P, Spahn G, Lör I, Zinser W, Niemeyer P (2020) Decision making for concomitant high tibial osteotomy (HTO) in cartilage repair patients based on a nationwide cohort study of 4968 patients. *Arch Orthop Trauma Surg* 140(10):1437–1444
15. Faber S, Zellner J, Hochrein A, Spahn G, Niemeyer P (2019) Current Practice of Analysis and Treatment of underlying Varus Deformity in Patients with Cartilage Defects of the medial Femoral Condyle: Data of the German Cartilage Registry (KnorpelRegister DGOU). *Orthop J Sports Med* 7(6_suppl4):2325967119S0023

16. Faber S, Zinser W, Angele P, Spahn G, Löer I, Zellner J, Hochrein A, Niemeyer P (2020) Does Gender Influence Outcome in Cartilage Repair Surgery? An Analysis of 4,968 Consecutive Patients from the German Cartilage Registry (Knorpel Register DGOU). *Cartilage* DOI: 10.1177/1947603520923137
17. Filardo G, Kon E, Andriolo L, Vannini F, Buda R, Ferruzzi A, Giannini S, Marcacci M (2013) Does patient sex influence cartilage surgery outcome?: Analysis of results at 5-year follow-up in a large cohort of patients treated with matrix-assisted autologous chondrocyte transplantation. *American Journal of Sports Medicine* 41(8):1827–1834
18. Gambacciani M, Levancini M (2015) Bedeutung von Östrogenen für Knorpelgewebe und Bandscheiben. *Gynakol Endokrinol* 13(1):22–27
19. Gau CC, Yao TC, Gan ST, Lin SJ, Yeh KW, Chen LC, Ou LS, Lee WI, Wu CY, Huang JL (2021) Age, gender, height and weight in relation to joint cartilage thickness among school-aged children from ultrasonographic measurement. *Pediatr Rheumatol Online JDOI: 10.1186/S12969-021-00554-W*
20. Griffin LY, Agel J, Albohm MJ, Arendt EA, Dick RW, Garrett WE, Garrick JG, Hewett TE, Huston L, Ireland ML, Johnson RJ, Kibler WB, Lephart S, Lewis JL, Lindenfeld TN, Mandelbaum BR, Marchak P, Teitz CC, Wojtyk EM (2000) Noncontact anterior cruciate ligament injuries: risk factors and prevention strategies. *J Am Acad Orthop Surg* 8(3):141–150
21. H Pritzker KP, Gay MDxk S, Jimenez MDx SA, Ostergaard K, Pelletier J, Revell PhDxzz PA, Salter D, van den Berg PhDxkk WB Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging 1,2.DOI: 10.1016/j.joca.2005.07.014
22. Hanna FS, Teichtahl AJ, Wluka AE, Wang Y, Urquhart DM, English DR, Giles GG, Cicuttini FM (2009) Women have increased rates of cartilage loss and progression of cartilage defects at the knee than men: A gender study of adults without clinical knee osteoarthritis. *Menopause* 16(4):666–670
23. Hunter DJ, Schofield D, Callander E (2014) The individual and socioeconomic impact of osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 10(7):437–441
24. Hutchinson MR, Ireland ML (1995) Knee Injuries in Female Athletes. *Sports Medicine* 19(4):288–302
25. Khosla S, Oursler MJ, Monroe DG (2012) Estrogen and the Skeleton. *Trends Endocrinol Metab* 23(11):576
26. Khosla S, Oursler MJ, Monroe DG (2012) Estrogen and the skeleton. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 23(11):576–581
27. Knewton KE, Gonzalez Flores JG, Pacicca DM, Robinson JL (2020) Transcriptome Sequencing Reveals Sex Differences in Human Meniscal Cell Response to Estrogen Based on Dosing Kinetics.DOI: 10.1101/2020.04.27.064451
28. Kreuz PC, Müller S, Von Keudell A, Tischer T, Kaps C, Niemeyer P, Erggelet C (2013) Influence of sex on the outcome of autologous chondrocyte implantation in chondral defects of the knee. *American Journal of Sports Medicine* 41(7):1541–1548
29. Lou C, Xiang G, Weng Q, Chen Z, Chen D, Wang Q, Zhang D, Zhou B, He D, Chen H (2016) Menopause is associated with articular cartilage degeneration: a clinical study of knee joint in 860 women. *Menopause* 23(11):1239–1246
30. Lou C, Xiang G, Weng Q, Chen Z, Chen D, Wang Q, Zhang D, Zhou B, He D, Chen H (2016) Menopause is associated with articular cartilage degeneration: A clinical study of knee joint in 860 women. *Menopause* 23(11):1239–1246
31. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A (1971) Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am* 53(3):523–37
32. Nasatzky E, Schwartz Z, Soskolne WA, Brooks BP, Dean DD, Boyan BD, Ornoy A (1994) Evidence for receptors specific for 17 beta-estradiol and testosterone in chondrocyte cultures. *Connect Tissue Res* 30(4):277–294
33. Niemeyer P, Albrecht D, Aurich M, Becher C, Behrens P, Bichmann P, Bode G, Brucker P, Erggelet C, Ezechieli M, Faber S, Fickert S, Fritz J, Hoburg A, Kreuz P, Lützner J, Madry H, Marlovits S, Mehl J, Müller PE, Nehrer S, Niethammer T, Pietschmann M, Plaass C, Rössler P, Rhunau K, Schewe B, Spahn G, Steinwachs M, Tischer T, Volz M, Walther M, Zinser W, Zellner J, Angele P (2023) Empfehlungen der AG Klinische Geweberegeneration zur Behandlung von Knorpelschäden am Kniegelenk. *Z Orthop Unfall* 161(1):57–64
34. Niethammer TR, Aurich M, Brucker PU, Faber S, Diemer F, Pietschmann MF, Schoch W, Zinser W, Müller PE (2024) Follow-up Treatment after Cartilage Therapy of the Knee Joint - a Recommendation of the DGOU Clinical Tissue Regeneration Working Group. *Z Orthop Unfall* 162(6):614–622
35. Patel J, Chen S, Katzmeyer T, Pei YA, Pei M (2023) Sex-dependent variation in cartilage adaptation: from degeneration to regeneration. *Biol Sex Differ* 14(1):1–28

36. Pearson RG, Kurien T, Shu KSS, Scammell BE (2011) Histopathology grading systems for characterisation of human knee osteoarthritis e reproducibility, variability, reliability, correlation, and validity. DOI: 10.1016/j.joca.2010.12.005
37. Richmond RS, Carlson CS, Register TC, Shanker G, Loeser RF (2000) Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: Estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein 2. *Arthritis Rheum* 43(9):2081–2090
38. Richmond RS, Carlson CS, Register TC, Shanker G, Loeser RF (2000) Functional estrogen receptors in adult articular cartilage: Estrogen replacement therapy increases chondrocyte synthesis of proteoglycans and insulin-like growth factor binding protein 2. *Arthritis Rheum* 43(9):2081–2090
39. Ries C, Egea V, Karow M, Kolb H, Jochum M, Neth P (2007) MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 are essential for the invasive capacity of human mesenchymal stem cells: Differential regulation by inflammatory cytokines. *Blood* 109(9):4055–4063
40. Salerno A, Brady K, Rikkers M, Li C, Caamaño-Gutierrez E, Falciani F, Blom AW, Whitehouse MR, Hollander AP (2020) MMP13 and TIMP1 are functional markers for two different potential modes of action by mesenchymal stem/stromal cells when treating osteoarthritis. *Stem Cells* 38(11):1438–1453
41. Schicht M, Ernst J, Nielitz A, Fester L, Tsokos M, Guddat SS, Bräuer L, Bechmann J, Delank KS, Wohlrab D, Paulsen F, Claassen H (2014) Articular cartilage chondrocytes express aromatase and use enzymes involved in estrogen metabolism. *Arthritis Res Ther* 16(2):1–9
42. van der Sluijs JA, Geesink RGT, van der Linden AJ, Bulstra SK, Kuyer R, Drukker J (1992) The reliability of the mankin score for osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research* 10(1):58–61
43. Spannow AH, Pfeiffer-Jensen M, Andersen NT, Herlin T, Stenbøg E (2010) Ultrasonographic measurements of joint cartilage thickness in healthy children: age- and sex-related standard reference values. *J Rheumatol* 37(12):2595–2601
44. Srikanth VK, Fryer JL, Zhai G, Winzenberg TM, Hosmer D, Jones G (2005) A meta-analysis of sex differences prevalence, incidence and severity of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 13(9):769–781
45. Thomasius F, Hadji P (2020) Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: The role of hormone replacement therapy. *Gynakologe* 53(1):19–24
46. Thomasius F, Hadji P (2020) Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: The role of hormone replacement therapy. *Gynakologe* 53(1):19–24
47. Ushiyama T, Ueyama H, Inoue K, Ohkubo I, Hukuda S (1999) Expression of genes for estrogen receptors α and β in human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 7(6):560–566
48. Wang N, Zhang X, Rothrauff BB, Fritch MR, Chang A, He Y, Yeung M, Liu S, Lipa KE, Lei G, Alexander PG, Lin H (2022) Novel role of estrogen receptor- α on regulating chondrocyte phenotype and response to mechanical loading. *Osteoarthritis Cartilage* 30(2):302–314
49. Wluka AE, Cicuttini FM, Spector TD (2000, June 30) Menopause, oestrogens and arthritis. *Maturitas*
50. Wluka AE, Davis SR, Bailey M, Stuckey SL, Cicuttini FM (2001) Users of oestrogen replacement therapy have more knee cartilage than non-users. *Ann Rheum Dis* 60(4):332–336
51. Wluka AE, Wolfe R, Davis SR, Stuckey S, Cicuttini FM (2004) Tibial cartilage volume change in healthy postmenopausal women: a longitudinal study. *Ann Rheum Dis* 63(4):444
52. Xie B, Li M, Wang Q, Fu C, Wang X, Zhu D (2025) Years since menopause and its metabolomic signature with biological aging in women at midlife: a population-based study. *NPJ Aging* 11(1):58
53. Xu H, Xiao W, Ding C, Zou J, Zhou D, Wang J, Ding L, Jin C, Sun L, Li Y (2025) Global burden of osteoarthritis among postmenopausal women in 204 countries and territories: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *BMJ Glob Health* 10(3):e017198
54. Xu H, Xiao W, Ding C, Zou J, Zhou D, Wang J, Ding L, Jin C, Sun L, Li Y (2025) Global burden of osteoarthritis among postmenopausal women in 204 countries and territories: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *BMJ Glob Health* DOI: 10.1136/BMJGH-2024-017198
55. Xu X, Li X, Liang Y, Ou Y, Huang J, Xiong J, Duan L, Wang D (2019) Estrogen Modulates Cartilage and Subchondral Bone Remodeling in an Ovariectomized Rat Model of Postmenopausal Osteoarthritis. *Med Sci Monit* 25:3146
56. Gendermedizin in Orthopädie und Kniechirurgie | Knie Journal.

IV) Mittelbedarf

Personalkosten gesamt € 107.500,00

Personalmittel für eine Arzt-Kompensationsstelle
zur klinischen Leistungserbringung (TVÄ1-Stelle, 15 Monate, Vollzeitäquivalent)

Verbrauchskosten gesamt inkl. MwSt € 13951

- 1) Agilent Dako Wash Buffer 20x, K800721-2 440 €
- 2) Anti-Estrogen Receptor alpha antibody [SP1], abcam ab16660, 100 µL 452 €
- 3) Agilent, EnVision+ Single Reagent (HRP, Rabbit), K400311-2 3167 €
- 4) Direct-zol RNA Miniprep, Zymo Research 635 €
- 5) TRIzol Reagent, Thermo Fischer 200ml 490 €
- 6) DNase I 2x, Merck 276 €
- 7) PureLink™ Genomic Digestion Buffer, Thermo Fischer 151 €
- 8) Library Preparation Materialkosten (Genzentrum München) 4140 €
- 9) Sequenzierungskosten AVITI24 (Genzentrum München) 2700 €
- 10) CLIA Kit for Estradiol (E2) (GYN) 1500 €

Gebühr für Ethik- / Tierversuchsvotum gesamt inkl. MwSt € 00,00

Probandengelder und -versicherung gesamt inkl. MwSt € 00,00

Dienstleistung/en gesamt inkl. MwSt € 5049

- 1) Technische Laborassistenz oder studentische Hilfskraft zur Vorbereitung der IHC & Sequencing 5049 €

Publikationskosten gesamt inkl. MwSt € 00,00

Reisekosten und Qualifikation gesamt inkl. MwSt € 00,00

Gesamtsumme inkl. MwSt für alle beantragte Mittel **€ 126.500,00**

V) Rahmenbedingungen und Voraussetzungen für die Durchführung des Vorhabens

Zusammensetzung der Arbeitsgruppe

Dr. med. Svea Faber (Antragstellerin):

Assistenzärztin (Ende 5. Weiterbildungsjahr) und wissenschaftliche Mitarbeiterin am Muskuloskelettalen Universitätszentrum München (MUM), LMU Klinikum. Verantwortlich für die Gesamtleitung des Projekts, einschließlich Konzeption, Studiendesign, Koordination der Probenakquise, klinische Datenerhebung und statistische Auswertung in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE). Zuständig für die wissenschaftliche Interpretation der Ergebnisse sowie die Erstellung und Einreichung der Publikationen.

Prof. Dr. med. Susanne Mayer (Betreuerin):

Forschungsleiterin am Muskuloskelettalen Universitätszentrum München (MUM), LMU Klinikum. Verantwortlich für die Bereitstellung der Forschungsinfrastruktur, Laboreinrichtungen und Geräte für das geplante Projekt sowie für die wissenschaftliche Supervision und methodische Beratung.

Dr. Gayathri Kilayilthodiyil Guruvayurappan (Teammitglied):

Erfahrene Wissenschaftlerin im Bereich der Zell- und Molekularbiologie mit Schwerpunkt auf präklinischen in-vitro-Studien und Sequenzierungstechnologien. Verantwortlich für die Durchführung und

Auswertung der Genexpressionsanalysen (RNA-Sequencing) sowie die Unterstützung bei der Datenaufbereitung, bioinformatischen Analyse und Ergebniskonsolidierung.

PD Dr. rer. Nat. Mirjana Kessler (Mentorin);

Forschungsleiterin am Forschungslabor der Klinik für Gynäkologie und Geburtsmedizin, LMU Klinikum. Ihr Labor bringt ihre ausgewiesene gynäkologische und endokrinologische Expertise in das Projekt ein. In ihrem Labor erfolgt die sensitive Bestimmung von Östrogenspiegeln in der Synovialflüssigkeit,

Projektassistent (noch zu rekrutieren):

Unterstützt die Antragstellerin und das Team bei der Probenverarbeitung, Datenerfassung und organisatorischen Abläufen des Projekts. Ziel wäre die Rekrutierung von 1 Doktorand/innen.

Forschungstätigkeit und Infrastruktur:

1) Orthopädisches Forschungslabor

Das Projekt ist in die bestehende Forschungsstruktur der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Susanne Mayer eingebettet, die eine enge Verzahnung zwischen klinischer Orthopädie, Molekularbiologie und translationaler Forschung gewährleistet. Es stehen vollständig ausgestattete Zell- und Molekularlabore sowie histologische Arbeitsplätze zur Verfügung. Die Labore sind in unmittelbarer räumlicher Nähe zu den klinischen Einrichtungen des MUM, was eine effiziente Probenlogistik (Operationssaal – Labor – Lagerung) ermöglicht. Im Forschungslabor Martinsried wird die Immunhistologie und die RNA-Analyse in Zusammenarbeit mit dem Genlabor erfolgen. Dieses befindet sich in unmittelbarer Nähe zum Klinikum Großhadern, in dem die KTEP-Operationen, Laboranalysen und Auswertung der MRT-Bilder erfolgen.

2) Gynäkologisches Forschungslabor

Die Analyse der Östrogenkonzentration in der Synovialflüssigkeit wird durch das von PD Dr. rer. Nat. Mirjana Kessler geleitete Labor am LMU Campus Innenstadt in der Pettenkoferstr. 9b erfolgen. Hier wird ein regelmäßiger Probentransport durch ein Mitglied der Arbeitsgruppe sichergestellt.

3) Forschungstätigkeit

Der Förderzeitraum vom 36 Monaten wird in Gänze benötigt (siehe II. Abs.6.). Zu welchen Anteilen die 15 Monate Vollzeitäquivalent Arztstelle für den jeweiligen Forschungsabschnitt genutzt werden, wird individuell anhand des Arbeitsaufkommens entschieden. Geplant ist im Schnitt eine Aufteilung von 40% Forschung & 60% Klinik (=14,4 Monate Vollzeitäquivalent bei 36 Monaten).

Geräteausstattung:

Die für das Vorhaben erforderlichen Geräte sind vorhanden, darunter Mikrotome, Kryostate, automatisierte Immunfärbereinheiten, Fluoreszenz- und Konfokalmikroskope, Real-Time-PCR-Systeme, Zentrifugen, Zellkultursicherheitswerkbänke und Kühlzentrifugen. Für die Genexpressionsanalysen (RNA-Sequencing) wird die Infrastruktur der Core Facility Genomics der LMU (Gene Center) genutzt, die modernste Sequenzierplattformen (Illumina NovaSeq, NextSeq, AVITI24) und bioinformatische Auswertungsumgebungen bereitstellt. Über das gynäkologische Forschungslabor steht ein moderner Varioskan-Reader zur Verfügung.

Kooperationspartner

Kooperation zwischen dem MUM – Muskuloskelettalen Universitätszentrum München im Bereich der Klinik am Campus Großhadern und ggf. auch in der Innenstadt mit dem MUM Forschungscampus in Martinsried. Außerdem wird eine Zusammenarbeit mit der Klinik für Radiologie zur Auswertung der MRT-Bilder angestrebt. Das Zentrallabor wird für die Analyse der Serumproben benötigt. Die Analyse der Östrogenkonzentration in der Synovialflüssigkeit erfolgt in Zusammenarbeit mit dem Forschungslabor der Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe (Leitung PD Dr. rer. Nat. Mirjana Kessler) in der Pettenkoferstr. 9b. Außerdem erfolgt eine Zusammenarbeit mit dem Genlabor Core Facility Genomics der LMU (Gene Center) und dem IBE (Institute for Medical Information Processing, Biometry and Epidemiology).

Drittmittel für dieses Vorhaben

Es wurden keine weiteren Drittmittel für dieses Vorhaben eingeworben.

MCSP-BETREUUNGSKOMITEE

Wissenschaftliche Supervisorin: Prof. Dr. med. Susanne Mayer
Klinische Supervisoren: Prof. Dr. Wolfgang Böcker & Prof. Boris Holzapfel
Persönliche Mentorin: PD Dr. rer. Nat. Mirjana Kessler