

Aus dem Orthopädisch-Unfallchirurgischen Zentrum
der Medizinischen Fakultät Mannheim der Universität Heidelberg
Direktor: Prof. Dr. med. Sascha Gravius

Vergleich des Gelenkknorpels von jungen und alten Schweinen
vor und nach tribologischer Beanspruchung

Inauguraldissertation
zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades
der
Medizinischen Fakultät Mannheim
der Ruprecht-Karls-Universität
zu
Heidelberg

vorgelegt von
Jan Peter Engelhardt

aus
Heidelberg
2019

Dekan: Prof. Dr. med. Sergij Goerd
Referent: Prof. Dr. med. Markus L. R. Schwarz

FÜR MEINE MUTTER

DR. MED. RITA ANTONIA ENGELHARDT

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>1</u>
<u>1 EINLEITUNG</u>	<u>2</u>
1.1 Allgemeines zum Knorpel.....	2
1.2 Osteoarthrose: Definition und Einteilung	12
1.3 Tribologie	17
1.4 Zielsetzung.....	22
<u>2 MATERIAL UND METHODEN</u>	<u>23</u>
2.1 Versuchsaufbau und Gruppeneinteilung	23
2.2 Das Probenmaterial: Knorpel aus porkinen Kniegelenken.....	24
2.3 Technik der Bildgebung und röntgenologische Evaluierung	24
2.4 Präparation der Kniegelenke	25
2.5 Probenentnahme für die tribologischen Messungen.....	27
2.6 Der tribologische Prüfstand	33
2.7 Posttribologische Evaluation der Proben.....	39
2.8 Herstellung von histologischen Präparaten	39
2.9 Histologische Evaluation der Präparate.....	45
2.10 Statistische Auswertung.....	48
<u>3 ERGEBNISSE.....</u>	<u>49</u>
3.1 Röntgenologische Evaluation der Kniegelenke	49
3.2 Makroskopische Evaluation anhand des ICRS-Scores.....	55
3.3 Histologische Evaluation anhand des Little et al. Scores.....	63
3.4 Histologische Evaluation anhand des adaptierten Little et al. - Scores	70
3.5 Ergebnisse der tribologischen Messungen.....	73
3.6 Auswertung der Daten des Kraftsensors	83
3.7 Übersicht der verschiedenen Vergleiche mit Signifikanzwerten.....	89
3.8 Beziehung zwischen der Höhenabnahme in mm und den Scores	92
3.9 Einfluss verschiedener Variablen auf die Höhenabnahme.....	93
<u>4 DISKUSSION.....</u>	<u>95</u>
4.1 Diskussion: Material und Methodik.....	95
4.2 Diskussion: Die Ergebnisse.....	104
<u>5 ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>111</u>
<u>6 LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>113</u>
<u>7 ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>135</u>
<u>8 TABELLENVERZEICHNIS.....</u>	<u>137</u>
<u>9 LEBENS LAUF.....</u>	<u>138</u>
<u>10 DANKSAGUNG.....</u>	<u>139</u>

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ECF	Epiphyseolysis capitis femoris
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
engl	englisch
EZM	Extrazelluläre Matrix
F	Force (Kraft)
fem	femoral
GAG	Glykosaminoglykan
K&L	Kellgren&Lawrence
lat	lateral
Lig	Ligament
med	medial
mm	Millimeter
MPa	Megapascal
N	Newton
nm	Nanometer
Nr	Nummer
OA	Osteoarthrose
PBS	phosphate buffered saline
PTFE	Polytetrafluorethylen
SD	standard deviation (Standardabweichung)
Sek	Sekunde
Std	Standard
SZP	superficial zone protein
tib	tibial
TLR	Toll-like Rezeptor
trib	tribologisch
VKB	Vorderes Kreuzband

1 EINLEITUNG

1.1 Allgemeines zum Knorpel

Knorpelgewebe ist eine spezialisierte Form des Bindegewebes, welches dem Menschen durch seine Pluralität von Eigenschaften eine hervorragende Stützfunktion bietet [1], bestenfalls ein Leben lang. Histogenetisch entspringt Knorpel dem Mesenchym¹, indem sich Mesenchymzellen zusammenlagern und über teilungsfähige Chondroblasten (knorpelbildende Zellen) zu Chondrozyten (die eigentlichen Knorpelzellen) ausdifferenzieren [2]. Von den Chondroblasten ausgehend, werden Kollagenfibrillen gebildet und weitere Bausteine der extrazellulären Matrix (EZM), Chondroitinsulfat und Hyaluronsäure, sezerniert [3].

In der Phylogenese entwickelten sich infolge unterschiedlicher funktioneller Anforderungen drei Arten von Knorpel:

Hyaliner Knorpel (Hyalin von griechisch ὑαλος hyalos ‚Glas‘), welcher die häufigste vorkommende Knorpelart darstellt [4] und die Gelenkflächen als Belag bedeckt [1]. Er lässt sich allerdings auch an anderen Lokalisationen, beispielsweise in der Trachea in Form von hufeisenförmigen Spangen (Cartilagine tracheales), finden [5].

Faserknorpel kommt in Kiefer- und Sternoklavikulargelenken, Rippenwirbelgelenken, Bandscheiben [4] sowie am Sakroiliakal-Gelenk vor [6].

Elastischer Knorpel findet sich am Ohr und Kehlkopf (Cartilago epiglottica), wo hohe Elastizität erforderlich ist [4].

Das gesamte knöcherner Skelett entwickelt sich aus einer knorpeligen Vorstufe (Primordialskelett) während der Embryonalzeit über Ossifikationszentren. Die knorpeligen Wachstumsfugen ossifizieren zu unterschiedlichen Zeiten, manche bleiben bis in das 18. Lebensjahr erhalten. Das Längenwachstum der Röhrenknochen findet auf Höhe der knorpeligen Wachstumsfugen statt [7].

Schließlich wird in nicht erwünschter Weise Knorpel bei ausbleibender knöcherner Frakturheilung gesehen (Pseudarthrose) [7].

In der vorliegenden Arbeit wird ausschließlich Forschung an hyalinem Knorpel vorgenommen. Als Probenmaterial für die experimentellen Versuche wurde hyaliner Knorpel aus porkinen Kniegelenken verwendet, weshalb im Folgenden ausnahmslos hyaliner Knorpel besprochen wird.

1.1.1 Morphologie, struktureller Aufbau und Funktion des hyalinen Knorpels

Die Gelenkflächen artikulierender Knochen werden von einer unterschiedlich dünnen Schicht hyalinen Knorpels bedeckt. Diese Knorpelschicht ist je nach Gelenkgröße in

¹ Als Synonym wird auch „embryonales Bindegewebe“ verwendet.

ihrer Höhe unterschiedlich ausgeprägt. So beträgt die Höhe des Knorpelbelags an distalen Finger- und Zehengelenken 0,2 mm, wohingegen an der Patella eine Höhe von bis zu 6,4 mm gemessen werden kann [8, 9]. Die Knorpeldicke variiert innerhalb eines Gelenkes [10, 11]. Gelenkflächen, die nicht kongruent zu einander stehen, wie es beispielsweise am Kniegelenk der Fall ist, sind bevorzugt von einer dickeren Knorpelschicht überzogen [12]. Auch ist die Dicke des Knorpelbelages an der unteren Extremität positiv mit der Körperlänge und dem Körpergewicht korreliert [12]. Dank der glatten Knorpeloberfläche artikulieren knöchernen Gelenkkörper fast friktionslos miteinander, denn die Reibungszahl von hyalinem Knorpel wird in einer Größenordnung von wenigen Prozent bis Promille angegeben [13].

Makromorphologisch imponiert der normale, adulte, hyaline Gelenkknorpel als überwiegend glatte und durch die Synovialflüssigkeit spiegelnd-glänzender Gelenküberzug [14]. Farblich ist er durch seine glasige, weiß-bläulich schimmernde Oberfläche charakterisiert.

Die Struktur und Anordnung der Zellen sowie die je nach Schichttiefe unterschiedliche Zusammensetzung der extrazellulären Matrix erlauben histologisch und biochemisch eine vierschichtige, zonale Gliederung [15, 16] (Abb. 1). Diese wird nach folgendem Schema unterteilt:

Zone I – Tangentialzone: In dieser, dem Gelenkspalt am nächsten gelegene und etwa 10-20% der Knorpelhöhe ausmachenden Gleitschicht, sind die Chondrozyten abgeflacht und spindelförmig. Eine Besonderheit dieser oberflächlichen Chondrozyten ist die Fähigkeit Lubricin, welches als natürliches Schmiermittel dient, zu sezernieren [17]. Das ebenfalls von den Chondrozyten synthetisierte Kollagen hat hier seinen größten Anteil [18] und führt dazu, dass in dieser Zone der Gehalt an Wasser am höchsten ist [19]. Die Kollagenfibrillen verlaufen tangential zur Oberfläche und sind trajektorieell ausgerichtet [2]. Der Durchmesser dieser Kollagenfibrillen ist hier im Vergleich zu den anderen Schichten mit 10-34nm am dünnsten [20], auch ist der Gehalt an Proteoglykanen hier am niedrigsten [21, 22].

Zone II – Übergangszone: Der Anteil der Knorpelhöhe beträgt hier 40-60%. Die Chondrozyten lassen eine rundlichere Form als in Zone I erkennen und nehmen in ihrer Zelldichte ab. Der Gehalt an Proteoglykanen sowie der Durchmesser der Kollagenfibrillen (70-100 nm) nehmen kontinuierlich zu [20, 21].

Zone III – Radiärzone: Circa 30% der Höhe einnehmend. Die Chondrozyten haben eine sphärische Form und sind säulenartig entlang der vertikal zur Oberfläche angeordneten Kollagenfasern ausgerichtet [19]. Der Durchmesser der Kollagenfibrillen erreicht hier mit 140 nm sein Maximum [20]. Der Proteoglykananteil erreicht hier seinen höchsten Wert, wohingegen der Kollagengehalt sein Minimum erfährt [21]. Ebenfalls ist der Wassergehalt in dieser Zone am niedrigsten [15].

Tidemark: Zwischen Zone III und IV verläuft die sogenannte Tidemark oder auch Grenzlinie. Sie stellt den mit Hilfe von basophilen Färbetechniken (zum Beispiel Toluidin-Blau) gut darstellbaren und somit sichtbaren Übergang in den mineralisierten Knorpel dar. Sie besteht aus basophilen Stippchen, deren Quantität zum verkalkten Knorpel hin zunimmt [23]. Die lichtmikroskopisch sichtbare Verdopplung oder gar Vermehrung wird im Zusammenhang mit einer zusätzlichen Verkalkung angesehen [23],

welche sich progredient in den hyalinen Knorpel erstrecken kann [24]. Beim histologischen Scoring ist sie ein Kriterium für die Vergabe eines Punktwertes hinsichtlich Osteoarthritis (siehe Material und Methoden Teil). Die genaue Funktion der Tidemark ist noch nicht umfassend geklärt. Es ist davon auszugehen, dass sie eine Rolle bei der Überleitung der mechanischen Kräfte von Knorpel auf den subchondralen Knochen spielt [25].

Zone IV – Mineralisierte Knorpelzone: Durch die mit Hydroxyapatit-Kristallen kalzifizierte Zone IV werden der nicht mineralisierte Knorpel (Zone I - III) und der subchondrale Knochen miteinander verzahnt [26]. Hierdurch wird eine mechanische Verankerung zwischen Knorpel und Knochen erreicht [15, 27]. Die Knorpelzellen in Zone IV zeigen eine geringe metabolische Aktivität. Ausschließlich diese Zellen sind in der Lage Kollagen X zu synthetisieren, das unter anderem verantwortlich für die strukturelle Integrität und stoßreduzierende Funktion dieser Nachbarzone zum subchondralen Knochen ist [19].

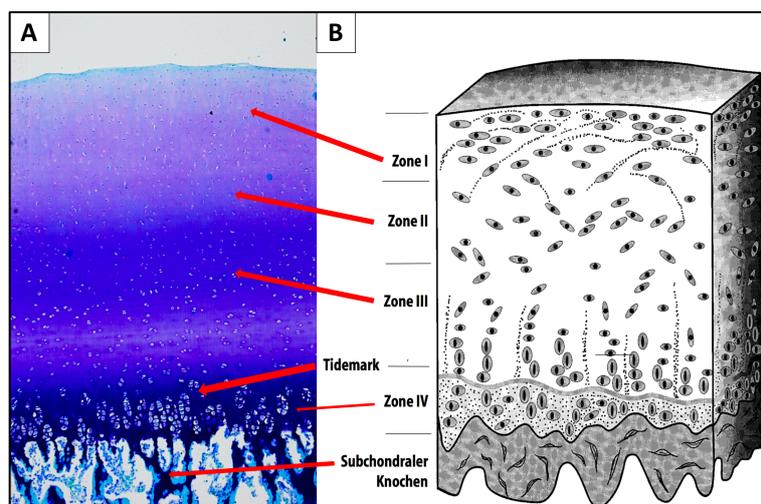


Abbildung 1: Zonale Gliederung hyalinen Knorpels: Bild A aus eigener Herstellung – Schweinnr. 1987 jung, lateraler Femurkondylus, Toluidinblau-Färbung; Bild B aus [15] – Zone I – Tangentialzone, Zone II – Übergangzone, Zone III – Radiärzone, Tidemark – Grenzlinie, Zone IV – kalzifizierte Zone

1.1.2 Biologische Bestandteile hyalinen Knorpels

Das formgebende Gerüst des hyalinen Gelenknorpels besteht aus den Chondrozyten und seiner aus unterschiedlichen Bestandteilen zusammengesetzten extrazellulären Matrix und Wasser. Insgesamt beläuft sich der von den Chondrozyten eingenommene zelluläre Anteil im Knorpel auf lediglich 1 [28] – 5% [29]. Die Chondrozyten sind für die Produktion und Aufrechterhaltung der Matrix-Infrastruktur verantwortlich [30]. Die Matrix-Infrastruktur besteht ca. zu 80% aus Wasser [31, 32]. Der relative Wasseranteil im Knorpel wiederum sinkt von der superfiziellen Zone mit ca. 80% in die tiefere Zonen mit 65% ab [28]. Abgesehen von Wasser besteht die extrazelluläre Matrix im Wesentlichen aus fibrillärer (Kollagene) und interfibrillärer (Proteoglykane) Grundsubstanz.

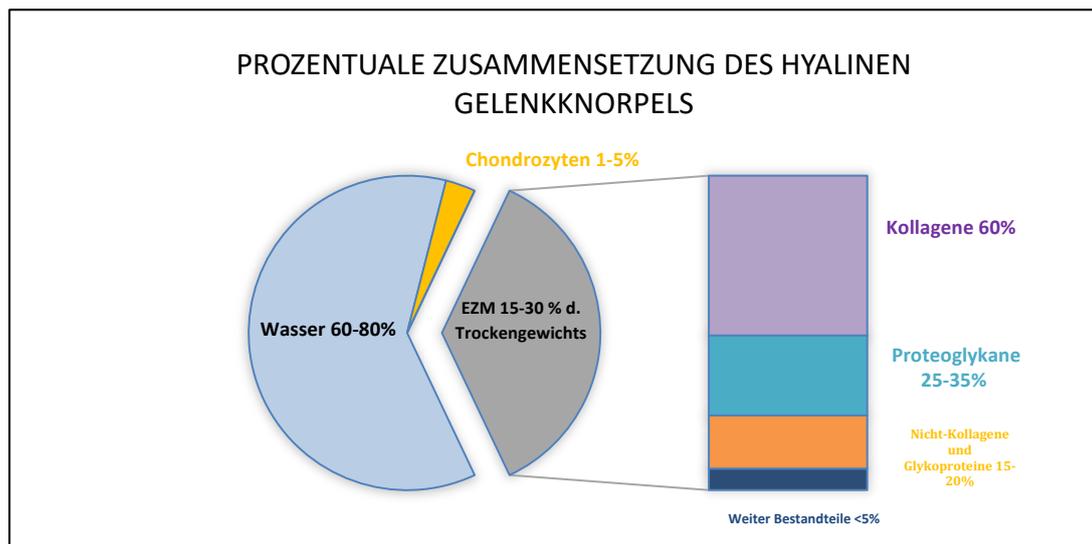


Abbildung 2: Prozentuale Zusammensetzung des hyalinen Gelenkknorpels

1.1.2.1 Die Chondrozyten

Der Chondrozyt ist die einzig physiologischerweise vorkommende hochspezialisierte Zelle im Knorpelgewebe, deren primäre Aufgabe das Erstellen und Wahren der sie umgebenden extrazellulären Matrix (EZM) ist [33]. Chondrozyten sind entgegen der früheren Auffassung nicht stoffwechselträge, sondern eher stoffwechselaktiv [7, 28, 34]. Allerdings muss zwischen dem Knorpelgewebe in seiner Gesamtheit und dem Chondrozyten unterschieden werden. Das Knorpelgewebe ist aufgrund der niedrigen Zelldichte durchaus als stoffwechselträge zu bezeichnen [34]. Die Form, Größe, Funktion sowie Stoffwechselaktivität der einzelnen Knorpelzelle ist abhängig von ihrer Lage im Knorpelgerüst [34-37]. Oberflächlich gelegene Chondrozyten weisen eine ovale oder längliche - diskoidale - Grundstruktur [38] auf, wohingegen in tieferen Schichten eine runde Form vorherrscht [34, 39]. Ihre Anzahl wird mit zunehmender Tiefe der Schicht geringer [32]. Die begrenzte Möglichkeit zur Mobilisation und Proliferation der Chondrozyten wird bei der Betrachtung des engen Maschenwerks der EZM deutlich [40]. Mit einem Durchmesser von circa 10 µm sind die Zellen einzeln in die EZM eingebettet, welche eine Maschenweite von lediglich 3 – 6,6 nm aufweist [15]. Durch die fehlende Vaskularisierung ist der Knorpel von der Sauerstoffversorgung nahezu vollständig abgeschnitten, und er besitzt daher einen anaeroben Stoffwechsel [41, 42]. Der pathologische Knorpel kann Brutkapseln aufweisen, eine Anhäufung von Chondrozyten zu sogenannten „Clustern“ [42-44].

Eingebettet in der von ihnen synthetisierten Knorpelmatrix haben adulte Chondrozyten keinen interzellulären Kontakt miteinander, was das Fehlen einer direkten Signaltransduktion und somit Kommunikation untereinander nicht zulässt [32, 34]. Im unreifen Knorpel haben die Chondrozyten noch einen relativ kleinen Abstand zueinander, der mit zunehmender Ausreifung immer größer wird [45]. Dessen ungeachtet sind sie in der Lage, auf Stimuli wie mechanische Belastungen, hydrostatische Drücke oder Wachstumsfaktoren zu reagieren und ihre metabolische Aktivität dementsprechend anzupassen [35]. Die Matrix hat dabei eine vermittelnde Funktion [46].

1.1.2.2 Die Extrazelluläre Matrix (EZM)

Die extrazelluläre Matrix besteht aus den Komponenten Wasser, einem Gerüst aus verschiedenen Kollagenen und den darin eingebetteten Makromolekülen, den sogenannten Proteoglykanen [28]. In kleinen Mengen kommen überdies noch nichtkollagene Proteine und Elektrolyte vor. Dieses Gerüst aus Kollagenen in Verbindung mit den Proteoglykanen verleiht dem Knorpel seine Form sowie biomechanische Eigenschaften [25, 47].

Mit einem Anteil von 90-95% dominiert das Kollagen vom Typ II [48]. Andere im hyalinen Gelenkknorpel vorkommende Kollagene sind hauptsächlich IX, XI und XVI [46, 49, 50]. Diese in der Minorität vorkommenden Kollagene haben eine supportive Funktion in der Formung sowie Stabilisierung der Kollagenfibrillen des Typs II [32]. Das fibrilläre Kollagen Typ II besteht aus drei identischen $\alpha 1(\text{II})$ - Polypeptidketten (Homotrimer), die zu einer 300nm langen Tripelhelix gewunden sind [51, 52]. So angeordnet, bilden sie eine arkadenförmige Struktur im Knorpel, das heißt, sie verlaufen ausgehend von ihrer Verankerung in der verkalkten Basis tangential zur Oberfläche, wo sie „umbiegen“ und dort parallel zur Oberfläche verlaufen [7, 15].

Die auf das Trockengewicht des Knorpels bezogene zweitgrößte Gruppe sind mit 25-35% die Proteoglykane [28, 53]. Es handelt sich hierbei um ein Kernprotein an das mindestens eine Glykosaminoglykankette (GAG-Kette) kovalent gebunden ist [32, 54]. Die Proteoglykane unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Größe, Zusammensetzung und Molekulargewicht, wobei das knorpelspezifische sich zwischen den Kollagenfibrillen befindliche Aggrecan das bedeutendste Proteoglykan darstellt. Hierbei handelt es sich um das größte und am häufigsten vorkommende Proteoglykan, an welchem über 100 GAG-Ketten (v.a. Chondroitinsulfat und Keratansulfat) gebunden sind [32]. Die Besonderheit des Aggrecans liegt in seiner Fähigkeit, Hyaluronat nicht-kovalent über spezielle Verbindungsproteine an sich binden um somit große, sogenannte Proteoglykanaggregate schaffen zu können [55-58]. Die Glykosaminoglykane, Chondroitinsulfat und Keratansulfat zeichnen sich durch ein anderes Charakteristikum aus: Mit ihrer großen Anzahl an negativ geladenen Sulfat- und Carboxylgruppen sind sie befähigt, positiv geladene Teilchen (Ionen) anzuziehen, beziehungsweise negative abzustößen. Im Kontext des Knorpels handelt es sich um das positiv geladene Natrium, welches angezogen wird und hierbei Gewebwasser mit sich nachzieht [53]. Hierdurch wird die hohe Wasserbindungskapazität des Knorpels begründet und die Kombination dieser chemischen, physikalischen und mechanischen Wechselwirkungen ist für die Funktion des Knorpels essentiell [25].

1.1.3 Ernährung und Innervation des hyalinen Gelenkknorpels

„In adult life, the articular cartilage contains no blood-vessels“. Toynebee prägte diesen Satz bereits 1841 [59]. Gefäße, welche aus der subchondralen Knochenregion in Richtung Gelenk sprießen, perforieren nicht in die unverkalkte Knorpelschicht hinein [60]. Der Stofftransport in Richtung Gelenkspalt wird nur bis zur Tidemark realisiert [61]. Die Ernährung über den vaskulären Weg ist aufgrund des Fehlens von Blutgefäßen somit nicht möglich [18, 62]. Darüber hinaus besitzt Knorpel keine Innervation und keine Lymphgefäße [28, 63]. Aus diesem Grund spricht man beim Knorpel über ein stoffwechselreduziertes und somit bradytrophes Gewebe [28, 34]. Einzig während der Wachstumsphase ist eine Ernährung des Knorpels über die Epiphysenfuge möglich [64-66].

Es besteht Übereinstimmung, dass die Knorpelernährung im Erwachsenenalter fast ausschließlich über den synovialen Weg mittels Diffusion erfolgt [67, 68].

Synovia wird um 1800 von Bichat folgendermaßen beschrieben: „Die Synovia erscheint, als ein weißliches, klebriges und durchsichtiges Fluidum. Sie zieht Fäden, wie manche Syrupe. Diese schmierige Beschaffenheit macht sie besonders geschickt zur Vermeidung der Reibung“ [69]. Synovia ist eine von den Synoviozyten hergestelltes Ultrafiltrat des Blutes, mit einer hohen Hyaluronat Konzentration von 1,45 – 3,12 mg/ml [70]. Eine ihrer Funktionen ist die von der Gelenkoberfläche ausgehende nutritive Versorgung des Knorpels. Das Volumen der auch als „Gelenk- oder Synovialflüssigkeit“ bezeichneten Synovia beträgt im Kniegelenk 4,4 – 9 ml [71] und bedeckt die Knorpeloberflächen als circa 15 [72] bis 30 μm [73] dünnen Film. Wie hoch die Rolle der von Bichat vermutete „Vermeidung der Reibung“ dem Hyaluronat zugeschrieben werden kann, ist Gegenstand der momentanen wissenschaftlichen Diskussionen.

1.1.4 Biomechanische Eigenschaften des hyalinen Knorpels

Das friktionsarme Gleiten der Diarthrosen untereinander und die Absorption sowie das Verteilen und Weiterleiten von Kräften zum subchondralen Knochen stellen die zentralen Funktionen des hyalinen Gelenkknorpels dar [74-76]. Die biomechanischen Eigenschaften werden durch die komplexe Interaktion seiner Komponenten untereinander definiert [43]. Die je nach Schichttiefe inhomogene Zusammensetzung und Organisation der EZM des Knorpels (siehe Kapitel 1.3.1 und 1.3.2.2) hat zur Folge, dass dieser anisotropes und nicht-lineares mechanisches Verhalten unter Zug- [77] sowie Druckbelastungen [78] zeigt [79, 80]. Die inhomogene Morphologie der kollagenen Fasern mit ihrer unterschiedlichen Orientierung und wechselnden Eigenschaften (Anisotropie), die Höhe des Knorpelbelags sowie die interstitielle Flüssigkeit ist maßgebend für die räumlich unterschiedlichen biomechanischen Eigenschaften [81, 82].

Zum genaueren Verständnis ist es notwendig, sich einen Überblick über die theoretischen Modelle zur Beschreibung der Materialeigenschaften des Knorpels zu verschaffen. Unter den verschiedenen theoretischen Modellen wird an dieser Stelle auf drei eingegangen:

- (1) monophasisch-linear-elastisches Modell (isotropes und elastisches Material)

- (2) biphasisches Modell (auf dieses Modell wird weiter unten ausführlich eingegangen)

- (3) triphasisches Modell

- (1) Monophasisch-linear-elastisches Modell: hier wird vereinfacht angenommen, es handele sich beim Knorpel um ein isotropes (aufgrund der homogenen räumlichen Struktur) und linear elastisches Material. Als Grundlage dieses Modells dient ein aus der Werkstofftechnik abgeleiteter Materialkennwert, der Elastizitätsmodul bzw. Youngscher-Modul (Thomas Young † 10. Mai 1829; englischer Physiker und Augenarzt [83]). Der Elastizitätsmodul beschreibt den proportionalen Zusammenhang zwischen Spannung und Dehnung bei der Verformung des Knorpels unter linear-elastischem Verhalten. Ausgedrückt wird dies durch die Formel:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \textit{konstant}$$

σ bezeichnet hierbei die mechanische Spannung (Kraft/Querschnittsfläche = N/m^2) und ε die Dehnung (Längenänderung = dimensionslos), welche das Verhältnis von Längenänderung ($\Delta l = l - l_0$) zur ursprünglichen Länge (l_0) darstellt.

Der Elastizitätsmodul ist definiert als lineare Steigung eines Graphen im Spannungs-Dehnungs-Diagramm im elastischen Bereich. Der lineare Bereich wird in der englischen Literatur als Hookesche Gerade bzw. Gesetz bezeichnet:

$$\sigma = E \times \varepsilon$$

Der zweite Bestandteil des monophasisch-linear-elastischen Modells ist die Beschreibung der volumetrischen Veränderung des Knorpels unter Druckbelastung. Dies wird durch die Poisson Zahl μ ausgedrückt, bei der es sich um eine Materialkonstante handelt:

$$\mu = \frac{\Delta d/d}{\Delta l/l}$$

Wobei l die ursprüngliche Länge und d die ursprüngliche Dicke bezeichnet.

Diese beiden Gleichungen erlauben im monophasisch-linear-elastischen Modell eine gute Beschreibung und Vorhersage des mechanischen Verhaltens von Knorpelgewebe. Allerdings trifft dieses Modell nur unter der Voraussetzung einer sehr kurz und/oder sehr geringen statischen Belastung bei großen osteoarthrotischen Defekten zu und berücksichtigt nicht die tatsächlich stattfindende Flüssigkeitsumverteilung im Knorpel [84-86]. Der Flüssigkeitsfluss wird hier, nachdem sich ein Gleichgewicht eingestellt hat, als beendet angesehen und befindet sich dann im Gleichgewichtszustand [87].

Aufgrund der Tatsache, dass Knorpelgewebe anisotrope, nicht-lineare und visko-elastische Zustände hinsichtlich seiner Beschaffenheit zeigt, sind mehr als zwei autonome Parameter zur vollständigen Beschreibung notwendig. Erst durch die Abbildung der flüssigen Phase können dynamische und zeitabhängige Prozesse abgebildet werden und somit ein realitätsnahes Modell vorgestellt werden.

- (2) Das biphasische Modell beschreibt den Knorpel als ein Material, welches aus einer flüssigen und einer festen Phase besteht [88-90]. Die aus einem porösen Grundgerüst bestehende Knorpelmatrix bildet hierbei die feste Phase; Die interstitielle Flüssigkeit bildet die flüssige Phase, mit der ein Flüssigkeitsaustausch dank der Porosität der festen Phase hindurch ermöglicht wird [88, 91]. Das viskoelastische Modell ist befähigt, zeitabhängiges Materialverhalten während Kriechprozessen, Relaxation und bei dynamischen Lasten abzubilden und vorherzusagen [92]. Hierfür sind die drei Größen Elastizitätsmodul, Aggregat und Permeabilität erforderlich [78, 89].

In der Literatur hat sich zur Bestimmung der biomechanischen Charakteristika von Knorpel das biphasische Modell als ausreichend erwiesen [93, 94], weshalb im nachfolgenden Abschnitt auf dieses eingegangen wird.

- (3) Triphasisches Modell: Die interstitielle Flüssigkeit enthält unter anderem gelöste Elektrolyte wie Na^+ , Ca^{2+} und Cl^- [95]. Diese sind zusammen mit der Ladungsdichte der negativ geladenen Proteoglykane der Knorpelmatrix für elektromechanische Effekte wie beispielsweise Strömungspotentiale verantwortlich und bewirken einen osmotischen Schwellendruck, welcher dem Knorpel zu seiner Kompressionssteifigkeit verhilft [96-98]. Die Kationen und Anionen der Salze bilden als „ionische Phase“ zusammen mit den geladenen Proteoglykanen die Erweiterung des biphasischen Modells und sind im triphasischen Modell vereint [95, 99]. Hierdurch ist es möglich, die mechanischen und physiochemischen Eigenschaften des hyalinen Gelenkknorpels realitätsnäher als im biphasischen Modell abzubilden.

Neben diesen drei Modellen existieren noch weitere, komplexere Modelle, welche versuchen, die mechanischen Eigenschaften des Knorpels unter verschiedenen Umständen wie Zug, Druck und Scherung abzubilden.

Biphasisches, viskoelastisches Modell („load bearing through interstitial fluid“):

Wie schon unter (2) beschrieben, bildet das von Mow et al. (1980 [92] und 1982 [100]) vorgeschlagene Modell aus den 80er Jahren die Grundlage zur Beschreibung der Knorpelmechanik als biphasisches, viskoelastisches Material. Der Knorpel wird hierzu in zwei unterschiedliche, jeweils inkompressible Phasen unterteilt.

Die solide Phase wird durch Bestandteile der EZM gebildet. Diese sind hauptsächlich Kollagene und Proteoglykane (Abb.2). Das dreidimensionale Kollagennetzwerk ist hier primär für die elastischen Eigenschaften des Knorpels verantwortlich [78, 101, 102], denn sie nehmen Kräfte richtungsabhängig (anisotrop) auf [52]. Den Proteoglykanen (im Zusammenspiel mit der interstitiellen Flüssigkeit) wiederum verdankt der Knorpel seine viskosen Eigenschaften [78, 101, 102] sowie seine Steifigkeit [103, 104]. Die flüssige Phase wird durch Bestandteile der frei beweglichen interstitiellen Flüssigkeit gebildet, die neben Wasser auch geladene Teilchen (Ionen) enthält. Wirkt nun eine Last auf den Knorpel, so wird diese initial zu 90% vom hydrostatischen Druck der flüssigen Phase getragen [105, 106], wobei es primär noch nicht zu einer Deformation der Kollagen-Proteoglykan-Matrix kommt [107] (engl. „load support of the fluid phase“)

Wenn eine Belastung auf den Knorpel über einen längeren Zeitraum anhält, entstehen Bewegungen der fluiden Phase durch die poröse, dreidimensionale Struktur der soliden Kollagen-Proteoglykan-Matrix (EZM) hindurch. Aufgrund des Widerstands, welcher von der Kollagen-Proteoglykan-Matrix ausgeht, geschieht dies nur mit zeitlicher Verzögerung. Dieser Widerstand ist dabei abhängig von der Permeabilität (Permeabilität des Knorpels: 10^{-15} bis 10^{-16} m^4/Ns [108]) und der Reibung zwischen Wasser und Proteoglykanen und erklärt teilweise die Kompressionssteifigkeit des Knorpels. Der zeitliche Verzug stellt hierbei das visköse Element des visko-elastischen Verhaltens des Knorpels dar [105]. Die Permeabilität nimmt bei großen Kräften ab, da sich unter anderem die EZM mit den GAGs unter Last komprimiert [108-110]. Auch ist sie nicht über die ganze Tiefe des Knorpelbelages konstant, sondern am höchsten nahe der Knorpeloberfläche und am niedrigsten in den tiefen Zonen [47, 111-113]. Dem hohen Gehalt an GAGs in tiefen Zonen und der damit verbundenen geringeren Permeabilität im Vergleich zu den oberflächlichen (GAG ärmeren) Regionen des Knorpels wird hierbei ebenfalls eine Rolle zugeschrieben [29] (Abschnitt 1.3.2.2). Das Ausmaß der Hydratierung der EZM korreliert invers mit der Kompressionssteifigkeit (hohe Steifigkeit – geringe Hydratierung und umgekehrt), wohingegen die Kompressionssteifigkeit positiv mit der GAG-Konzentration korreliert [87]. Ebenfalls invers korreliert ist die Wasserbindungskapazität mit dem Kollagenanteil [114].

Sobald während der länger andauernden Belastung kein interstitieller Flüssigkeitsfluss mehr vorhanden ist, stellt sich ein Gleichgewichtszustand ein, bei dem die gesamte Last nun nicht mehr von der flüssigen Phase, sondern ausschließlich von der Kollagen-Proteoglykan-Matrix (EZM) getragen wird [103]. Dieser Zustand wird als Gleichgewicht beschrieben [103].

Bei den im Rahmen dieser Dissertationsarbeit durchgeführten Versuche wurde die auf den Knorpel aufzubringende konstante Last auf 1 MPa über einen Zeitraum von 2,05 Stunden eingestellt. Während dieser konstanten Lastaufbringung verformt sich der Knorpel zunehmend durch das Ausströmen von interstitieller Flüssigkeit, bis er sich einem Grenzwert nähert. Dieser Vorgang wird als „Kriechen“ bezeichnet. Vorliegend handelt es sich um ein biphasisches Kriechverhalten entsprechend der englischen Beschreibung „biphasic creep behavior“ (Abb. 3) [115].

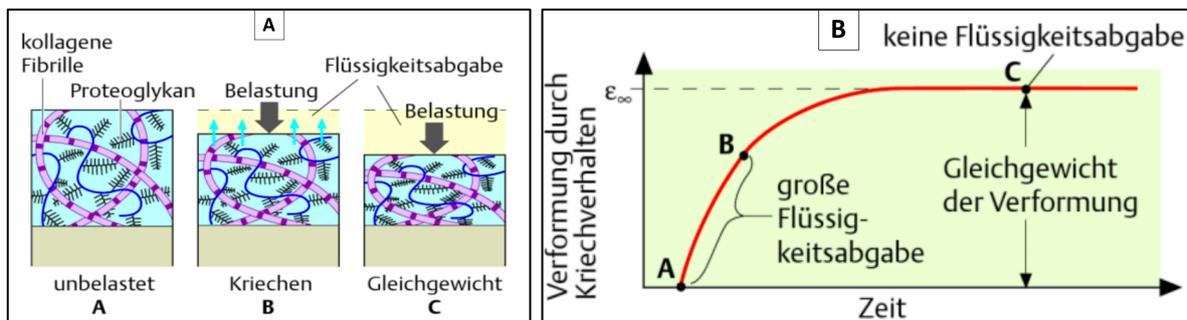


Abbildung 3: Flüssigkeitsabgabe (A) und Verformung in Abhängigkeit der Zeit (B), beide Abbildungen aus [115]

1.1.5 Oberflächen-Charakteristika des Knorpels

Die mechanischen Eigenschaften des Knorpels sind ausgeprägt an seine Oberflächenbeschaffenheit gekoppelt. In Form von Gelenkpartnern treten die knorpeligen Oberflächen in Kontakt, um Kräfte direkt oder teilweise indirekt zu übertragen. Der Knorpelbelag lässt unter physiologischen Bedingungen auch im höheren Alter (bei

über 75-Jährigen) eine makroskopisch glatte Struktur erkennen und kann minimal fibrilliert sein [43]. Auch wenn die Knorpeloberfläche makroskopisch als glatt imponiert, so beschreiben Gardner und McGillivray [116] oberflächliche Irregularitäten und unterteilen diese in vier Ordnungen². Diese „Oberflächen-Irregularitäten“ sind u.a. für Reibungsphänomene verantwortlich [22]. Die Rauheit des Knorpels wird ausgedrückt mit R_a und in der Literatur mit durchschnittlich $\sim 0,5 \mu\text{m}$ angegeben [79, 117]. Um diese Reibung zu minimieren, liegt der Gelenkoberfläche ein dünner Film von Synovialflüssigkeit auf, welcher einen direkten Kontakt der Oberflächen im Größenbereich von R_a miteinander verhindert [22]. Somit trägt die Synovialflüssigkeit als Schmiermittel wesentlich zur Minimierung des Reibungskoeffizienten bei [118, 119].

Dieser Reibungskoeffizient beträgt bei Knorpel auf Knorpel Reibpaarungen lediglich 0,015 – 0,34 [13, 119]. In der Literatur werden aufgrund der Abhängigkeit vom jeweils benutzten tribologischen Prüfsystem unterschiedliche Reibungskoeffizienten für die jeweils benutzten Materialien angegeben [120]. Ein derart niedriger Wert wird in der Materialforschung/-prüfung für Materialien kaum erreicht. Zum Vergleich beträgt der Referenzwert bei der Reibung von Polytetrafluorethylen (PTFE, auch bekannt als Teflon® beispielsweise im Küchengebrauch) gegen PTFE 0,04-0,2 [121].

Bei der Rasterelektronenmikroskopie der Superficialzone fällt auf, dass der Durchmesser der Kollagenfibrillen hier am dünnsten ist, dafür die Dichte hoch ist. Die Orientierung der Kollagenfibrillen in der Superficialzone ist parallel zur Oberfläche hin orientiert und zwar längs der Bewegungsrichtung des Knies [106, 122]. Die besondere Architektur der Superficialzone ist in der Lage, sich bei mechanischer Last stärker zu verformen als die tieferliegenden Schichten, und ist somit vor Scherspannungen geschützt [32, 123, 124].

Ebenfalls von Bedeutung für das biomechanische Verständnis ist die Betrachtung der Interaktionen zwischen subchondralen Knochen und Knorpel. Bei Lastübernahme ist der subchondrale Knochen in der Lage, die auftretenden Kräfte gleichmäßig auf das Gelenk zu verteilen [125-127]. Während einer Be- und Entlastung ist nicht nur der Knorpelbelag, sondern auch der subchondrale Knochen in der Lage sich zu verformen [128, 129]. Diese Verformung dient nicht nur der Stoßabsorption, sondern ist auch als Schutzmechanismus des darüber liegenden Knorpels vor Überbeanspruchung zu verstehen [129-131]. Auch bei der Pathogenese der Osteoarthritis kommt dem subchondralen Knochen eine hohe Bedeutung zu (Abschnitt 1.2) [132].

² Irregularitäten nach Gardner und McGillivray:

1. Ordnung – Gelenkinkongruenz
2. Ordnung – Erhebungen und Einsenkungen unter Lupenbetrachtung im Abstand von 0,4 - 0,5 mm
3. Ordnung – Höhenunterschiede im Abstand von 20 - 30 μm ,
4. Ordnung – granuläre Mikrostrukturen unter anderem aus Proteoglykanen

1.2 Osteoarthrose (OA): Definition und Einteilung

Der terminologische Begriff der Osteoarthrose ist in der deutschsprachigen Literatur nicht eindeutig definiert. Dies lässt mit seinem historischen Kontext begründen. Die Unterscheidung zwischen entzündlicher und primär nicht-entzündlicher Arthropathie erfolgte aufgrund der begrenzten diagnostischen Möglichkeiten Anfang des 20. Jahrhunderts [133]. Der Internist Aßmann führte den Begriff der Arthrose als „nicht-entzündliche Gelenkkrankheit“ im deutschen Sprachraum 1925 ein [134]. Mit zunehmender Progredienz der Erkrankung bilden sich knöcherne Formabweichungen, was zu Synonymen wie Arthritis deformans beziehungsweise Arthrosis deformans führte [135]. Im angelsächsischen Sprachgebiet wird hingegen weiterhin der entzündungsprozess-fokussierte Begriff der „Osteoarthritis“ verwendet [7].

In der vorliegenden Dissertation wird der Begriff *Osteoarthrose* verwendet, denn dadurch wird die Krankheit sowie ihre knöcherne Beteiligung im Präfix ersichtlich.

Zur Definition der Osteoarthrose gehört die Berücksichtigung aller gelenkbildenden Strukturen. Diese sind, wenn man ein Gelenk als Organsystem betrachtet, der hyaline Knorpelbelag, der subchondrale Knochen sowie die synovial ausgekleidete Gelenkkapsel [44, 99, 136]. Somit kann die Osteoarthrose als heterogene, üblicherweise progressive Erkrankung eines synovialen Gelenkes mit einhergehender Knorpelläsion angesehen werden [137-140]. Voraussetzung hierfür ist, dass ätiologisch keine andere Ursache identifiziert werden kann [43].

Den Osteoarthrosen werden zwei unterschiedlichen Sub-Gruppen zugewiesen [7, 14, 139-141]:

Die primär- beziehungsweise idiopathische Arthrosen, bei denen keine Krankheit und keine andere pathologische Ursache auszumachen ist, sowie den davon abzugrenzenden sekundären Arthrosen, welche kausal auf einen prädisponierenden angeborenen oder erworbenen Schaden zurückgeführt werden können (Tab. 1).

primäre (idiopathische) Arthrosen	<ul style="list-style-type: none"> - Lokalisiert an: Hände/Füße, Knie, Hüfte, Wirbelsäule... - Generalisierte Arthrose: \geq drei Gelenkregionen
sekundäre Arthrosen	<ul style="list-style-type: none"> - Posttraumatisch - Nach kongenitaler oder erworbener Gelenkschädigung <ol style="list-style-type: none"> 1. lokalisiert: bspw. Genu varum/valgum, M. Perthes, avaskuläre Knochennekrose, Hüftdysplasie, ECF 2. generalisiert: bspw. Epiphysäre Dysplasie, metabolische Erkrankungen, M. Paget

Tabelle 1: Klassifikation der Arthrosen modifiziert nach [139]

1.2.1 Ätiopathogenese der Osteoarthrosen

Die Identifikation von Risikofaktoren zur Entstehung einer Osteoarthrose aus dem gesunden Gelenkknorpel heraus ist essentiell für das Verständnis dieser Erkrankung. Übereinstimmend ist die multifaktorielle Genese der Osteoarthrose anerkannt [136,

142-144]. Die Pathogenese spielt sich auf biomechanischer, zellulärer sowie genetischer Ebene ab.

Das heute favorisierte Modell weist systemischen Faktoren (beispielsweise Geschlecht, Alter, ethnische Zugehörigkeit, genetische Disposition oder auch metabolische Erkrankungen) eine entscheidende Rolle für die Anfälligkeit eines „Gelenkorgans“ zur Arthrose zu.

Unter den systemischen Faktoren findet sich der bedeutendste Risikofaktor für die Entstehung einer Osteoarthritis, das Alter [143, 145-148]. Das weibliche Geschlecht ist häufiger als das männliche von Osteoarthritis betroffen [143, 146, 149, 150]. Neben dem Alter und dem Geschlecht sind multiple Genabschnitte bei der Vulnerabilität hinsichtlich einer OA involviert [151]. Diese Genabschnitte sind unter anderem für die Kodierung des Kollagen Typ II, der extrazellulären Matrix, Vitamin D und Östrogenrezeptoren sowie Wachstumsfaktoren verantwortlich [152]. In der relativen Häufigkeit gering vertreten sind hereditäre Osteoarthrosen. Als Beispiel ist das Stickler-Syndrom I-III zu nennen und über 30 weitere inzwischen bekannte durch Genmutation bedingte Osteoarthrosen [141, 153].

Auf biomechanischer Ebene schädigen exogene Faktoren wie Übergewicht, Fehlstellungen, Verletzungen usw. das Gelenk [136, 150].

Die Biomechanik eines Gelenkes wird determiniert durch anatomische und funktionelle Faktoren [143]. So zählt das Übergewicht zu einem der wichtigen Faktoren, welches nicht nur an der Entstehung (dreifach-vierfach höheres Risiko an OA zu erkranken) beteiligt ist, sondern auch die Progredienz der OA beschleunigt [136, 141, 154, 155], denn für jedes Kilogramm weniger an Körpergewicht erniedrigt sich die Kontaktbelastung im Kniegelenk um ein Vierfaches [156]. Verletzungen am Knie erhöhen die Wahrscheinlichkeit einer Gonarthrose um das Vierfache [157]. Die Folgen der Ruptur des vorderen Kreuzbandes führt experimentell am caninen Kniegelenk zu einer Instabilitätsarthrose [158]. In 50-70% der Patienten mit einem VKB-defizitären Kniegelenk zeigen sich osteoarthrotische Veränderungen 10-15 Jahre später [159]. Ebenfalls biomechanisch relevant ist die Kongruenz der Gelenkflächen, bei welchen die Menisci eine wichtige Rolle einnehmen. Bei einer nur partiellen Entfernung des Meniskus entstehen weniger OA-Veränderungen im Vergleich zu einer Totalresektion im Langzeitverlauf [160].

Abweichungen von der physiologischen Gelenkmorphologie führen regelhaft zur Arthrose: Hüftdysplasie [161], Epiphyseolysis capitis femoris (ECF) [161], Femoro-acetabuläres Impingement [162] sind mit einer höherem OA-Risiko verbunden und werden deshalb präarthrotische Deformität genannt.

Die Forschung zur Ätiologie der primären Osteoarthritis ist nicht abgeschlossen.

1.2.2 Pathomorphologie und Pathochemie der Osteoarthrosen

Evident ist, dass ein Missverhältnis im Gleichgewicht zwischen anabolen und katabolen Stoffwechselprozessen die Integrität und Elastizität des hyalinen Gelenkknorpels beeinträchtigt und zu einer Destruktion im Sinne einer Osteoarthritis desselbigen führt [42, 49].

Pathomorphologisch imponiert der Beginn einer Osteoarthrose am hyalinen Gelenkknorpel durch den makroskopisch sichtbaren Verlust des normalen Glanzes und einer Gelbfärbung seiner Oberfläche (der Normalzustand ist glänzend, weiß/bläulich opaleszierend) [14, 43, 44]. Die von den Chondrozyten aufrechterhaltene Knorpel-Infrastruktur ist gegenüber externen mechanischen und chemischen Reizen sensibel und reagiert in Verbindung mit der Synovialmembran mit einer inflammatorischen Antwort [44, 163-165]. Diese beinhaltet die Produktion von verschiedensten inflammatorischen, katabol wirkenden Reaktionsproteinen wie Zytokinen (Interleukin 1 β , Interleukin 6, Tumornekrosefaktor α) [164, 166]. Einen besonderen Stellenwert nehmen die Kollagenasen vom Typ Matrixmetalloproteinasen (Typ 1, 3 und 13) ein, welche als Schlüsselenzyme an der Knorpeldestruktion beteiligt sind [43, 44, 143, 167, 168].

Neben diesen reaktiv freigesetzten Proteinen, werden außerdem - durch den cartilaginären Schaden vermittelt - Toll-like-Rezeptoren (TLR) von den Chondrozyten exprimiert. Die TLR mit ihren Liganden wiederum induzieren katabole Vorgänge die zu einer weiteren Destruktion des Knorpels führen [169].

Makroskopisch stellen sich diese Prozesse anfänglich als Erweichung, oberflächliche Fibrillierung und Rissbildung des Knorpelbelags dar. Mikroskopisch hingegen äußern sich diese Alterationen in einem oberflächennahen Proteoglykanverlust begleitet von einer vertikalen Rissbildung [14]. In dieser Fibrillationszone sind durch apoptotische Vorgänge die Chondrozyten üblicherweise nicht oder kaum mehr existent [43, 170]. Auf die bei der Knorpeldestruktion freiwerdenden Enzyme und Matrixpartikel reagiert die gelenkauskleidende Synovialmembran mit einer reaktiven Entzündung (Synovialitis) und einem Gelenkerguss [164, 165].

Dieser Entzündungsprozess lässt sich in vier unterschiedliche Formen unterscheiden [165]:

- eine osteoarthrotisch „entzündete“ Synovia, vermittelt durch ein lymphozytäres Infiltrat, bestehend aus B- und T-Zellen sowie Plasmazellen
- eine „hyperplastische“ Synoviopathie ohne entzündliches Infiltrat
- eine „fibrotische“ Synoviopathie, welche durch eine Verdickung der Gelenkkapsel zu einer Versteifung des Gelenks führen kann
- eine durch Abbauprodukte „Detritussynovialitis“ auf dem Boden von Knorpel- und Knochenrümmern.

Die Synoviozyten ihrerseits sind befähigt, ebenfalls inflammatorische Mediatoren zu sezernieren, was abermals zu einem weiteren Abbau des Knorpelbelags führt. Dies hat im Sinne eines positiven Feedbacks wiederum zur Folge, dass weitere katabole Prozesse den Knorpel angreifen [166].

Das Konglomerat dieser Entzündungsreaktion tritt direkt in Form einer klinischen Symptomatik als Gelenkschwellung/Erguss, inflammatorischer Schmerz und Einsteifung in Erscheinung [136].

Einen Überblick gibt die Abbildung 4, auf welcher die durch Mediatoren gesteuerten Prozesse im Gelenkorgan abgebildet sind.

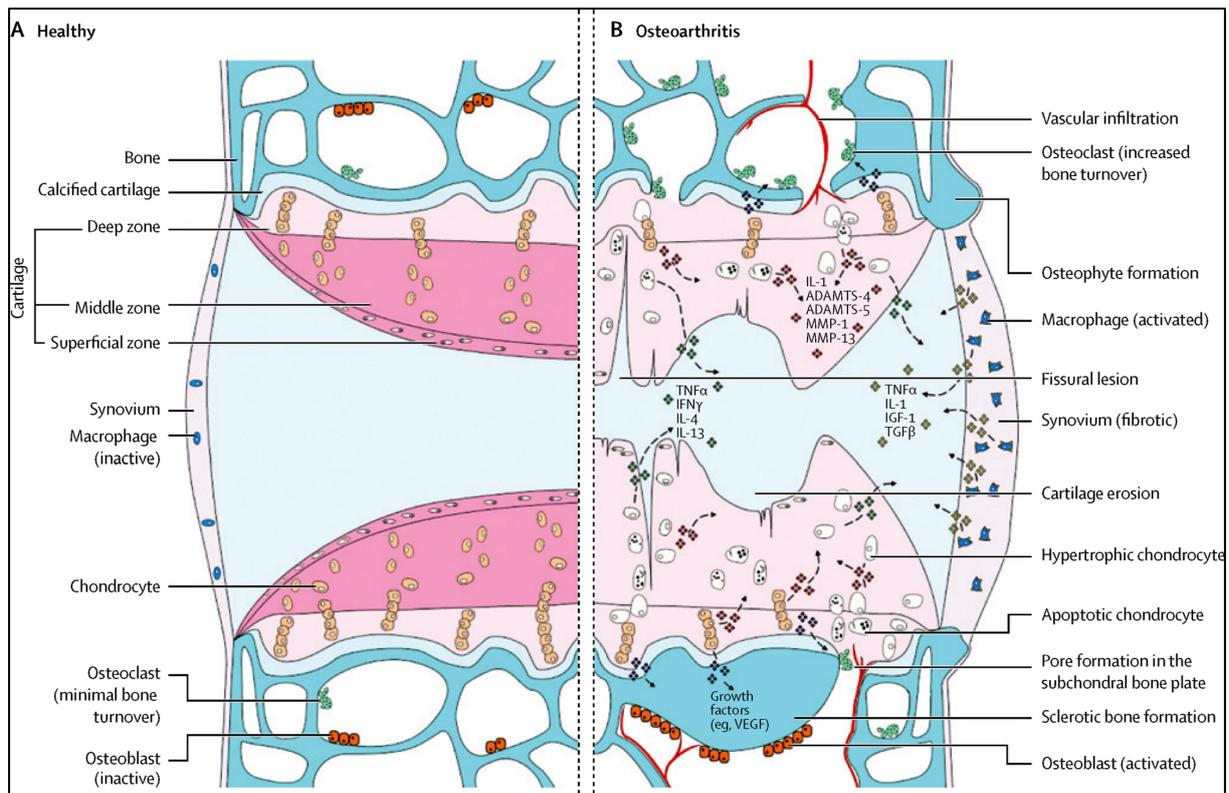


Abbildung 4: Verschiedene Signaltransduktionswege im gesunden- (A - links) und im osteoarthrotischen (rechts - B) Gelenkteil, sowie die daraus resultierenden strukturellen Veränderungen. ADAMTS=a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin-like motifs, IL=Interleukin, MMP=Matrix metalloproteinase, TNF=Tumour Nekrose Faktor, IFN=Interferon, IGF=insulin-like growth factor, TGF=transforming growth Faktor, VEGF=vascular endothelial growth Faktor; aus [143], mit freundlicher Genehmigung Nature Publishing Group)

Nicht nur der Knorpelbelag und die Synovialmembran unterliegen dem pathologischen Prozess innerhalb der Osteoarthrose, sondern auch der subchondral liegende Knochen. Zu diesen periartikulären Knochenveränderungen gehören unter anderem die schon frühzeitig radiologisch sichtbaren sklerotischen Veränderungen (Verdickung der subchondralen Knochenplatte und Knochentrabekel) [171-173]. Die vermehrte subchondrale Sklerosierung ist reaktiver Ausdruck einer Dysbalance zwischen osteoklastischen und osteoblastischen Vorgängen zugunsten letzterer [132, 174].

Die weitere Progredienz der OA geht häufig mit der Bildung von Regeneratknorpel an den Gelenkrandbereichen einher, sogenannten Osteophyten bzw. Randexostosen. Osteophytäre Anbauten entstehen anhand von enchondraler Ossifikation, welche durch eine Proliferation von periostalen Zellen an den Gelenkgrenzen initiiert wird. Diese Zellen differenzieren sich zu Chondrozyten, welche hypertrophieren und so Osteophyten bilden können [175-177].

Röntgenologisch finden sich an dem osteoarthrose-befallenen Knochen im fortgeschrittenen Stadium Pseudozysten (Geröllzysten). Der genaue Pathomechanismus zur Entstehung ist noch nicht hinreichend geklärt [178]. Man nimmt an, dass sie ihre Entstehung durch das „Einpressen“ von Synovialflüssigkeit verdanken [43, 174, 179], da der Knorpelbelag über dem subchondralen Knochen defekt ist und somit einen „locus minoris resistentiae“ darstellt.

Makroskopisch kommt es mit Fortschreiten der Destruktion im Endstadium der Osteoarthrose fokal zum makroskopisch sichtbaren vollständigen Verlust des Knorpelbelags. Der subchondrale Knochen ist nun entblößt, was als „Knochenglatze“ bezeichnet wird [44]. Die hierdurch resultierende Abnahme der mechanischen Fähigkeiten des Knorpelbelags resultieren in einer Deformation des Knochens, was im Falle einer Friktion von Knochen auf Knochen an Schliifspuren ersichtlich werden kann [14, 44]. Der subchondrale Knochen hat elfenbeinartiges Aussehen im Sinne einer Eburnisation.

Die röntgenologischen Äquivalente sind:

- Verminderung der Gelenkspaltweite durch Höhenabnahme des Knorpelbelags
- subchondrale Sklerosierung
- Osteophyten
- Pseudozysten

Diese morphologischen Zeichen finden sich in verschiedenen Bewertungssystemen des Schweregrads einer Osteoarthrose wieder [180] (Abschnitt 4.1.4 und 4.1.6).

1.3 Tribologie

Das Wort Tribologie hat seinen etymologischen Ursprung im Griechischen „tribein“ - reiben und „logia“ - die Lehre, und bedeutet Reibungslehre [181].

Die Tribologie tangiert Bereiche aus der Wissenschaft und Technik (wie in diesem Forschungsprojekt) sowie Wirtschaft und ist ausgesprochen multidisziplinär zu verstehen [181]. Die wissenschaftliche Betrachtung der Reibungslehre hat ihren Ursprung bei Leonardo da Vinci (Codex Madrid I, 1492, zit. in [181]) sowie Coulomb [182] und beschreibt die Physik von aufeinander einwirkenden Oberflächen in Relativbewegung [183]. Hierunter finden sich Begriffe wie Reibung, Schmierung und Verschleiß [181, 184]. In der biomechanischen Forschung - speziell der Arthrosetforschung - erlangt die Tribologie eine immer größere Bedeutung. Synoviale Gelenke werden als das komplexeste tribologische System überhaupt angesehen [184].

1.3.1 Reibung in synovialen Gelenken

Allgemein kann unter Reibung ein Bewegungswiderstand verstanden werden, der sich als Widerstandskraft gegen die Einleitung einer Relativbewegung oder deren Aufrechterhaltung ausdrückt [181]. Es kann zwischen Haftreibung (Widerstandskraft gegen die Einleitung einer Relativbewegung) und Gleitreibung (Widerstandskraft gegen die Aufrechterhaltung sich relativ zueinander bewegender Oberflächen) unterschieden werden.

Dabei stellt die Reibungszahl (Synonym: Reibungskoeffizient) μ bzw. f den Quotienten aus Reibungskraft F_R (parallel zur Kontaktfläche) und Normalkraft F_N (senkrecht zur Kontaktfläche) dar (Abb. 5).

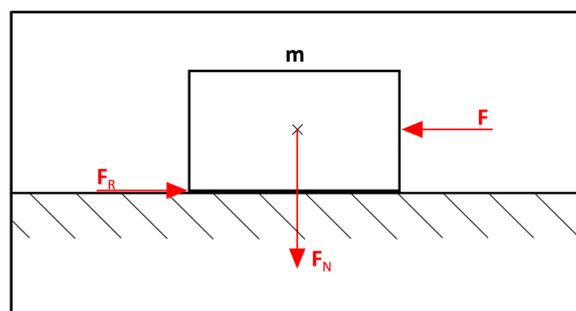


Abbildung 5: Zeichnung mit zwei Körpern und darauf wirkenden Kräften. F : Verschiebekraft; F_R : Reibungskraft; F_N : Normalkraft; m : Masse; für die Normalkraft gilt $F_N = m \times g$ und für die Reibkraft: $F_R = F_N \times \mu$

Der Zusammenhang zwischen Normalkraft und Reibungskraft wird als Coulombsches Gesetz definiert [182]:

$$\mu = \frac{F_R}{F_N}$$

In der biomechanischen Forschung werden verschiedene tribologische Prüfkonfigurationen zur Bestimmung der Reibungszahl von Knorpel beschrieben. Mit ihrer Hilfe können die herausragenden tribologischen Eigenschaften von Knorpelgewebe definiert werden. Unterschieden werden diese hinsichtlich ihres Systemaufbaus und ihrer Reibpartner. Zu den in der Literatur am häufigsten [185] dargestellten Konfigurationen gehören die „Pin-on-Disc“ bzw. „Pin-on-Plate“ Systeme [13, 118, 186-192]. Dabei kann das Gleitverhalten von Knorpel mit anorganischen Werkstoffen wie Glas [193-198], Keramik oder Metall [118, 186, 199] untersucht werden bzw. es wird Knorpel gegen Knorpel als Reibpaarung untersucht [13, 185, 200-204]. Die dabei ermittelten Reibungszahlen können Aufschluss über die biomechanische Kompetenz des Knorpels geben [13] und liegen bei nativem Knorpel bei lediglich 0,005 [184]. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass Reibzahlen nicht Materialkonstanten sind, sondern vom gesamten tribologischen System abhängen [13].

Eine bedeutende Rolle bei der Modulierung der Reibzahlen kommt der Schmierung innerhalb der synovialen Gelenk zu.

1.3.2 Lubrikation der synovialen Gelenke

Das Aufrechterhalten der niedrigen Reibzahl von Knorpel ist hauptsächlich der lasttragenden flüssigen Phase („fluid load support“) der EZM des Knorpels (siehe Abschnitt 1.1.4) zuzuschreiben. Reibungsphänomene beruhen hauptsächlich auf Interaktionen zwischen soliden Komponenten der Knorpeloberflächen [185]. Die Prägung der Begrifflichkeit „biphasic lubrication“ zur Beschreibung dieses Phänomens geht auf Forster und Fischer [118, 199] zurück, die auf der Grundlage des biphasischen Modells von Mow et al. [205] aufbauen konnten (Abschnitt 1.1.4). Krishnan et al. [195] konnten infolgedessen eine negativ-lineare Beziehung zwischen Reibzahl und der lasttragenden Komponente der interstitiellen Flüssigkeit darstellen. Wirkt eine Last nun kontinuierlich auf den Knorpel ein (die Last drückt die interstitielle Flüssigkeit aus dem porösen Gerüst des Knorpels und steht somit als lasttragende Komponente nicht mehr zur Verfügung), so rücken die Mechanismen des „fluid load support“ zur Reibungsminimierung in den Hintergrund und werden durch Schmiermechanismen direkt auf der Oberfläche des Knorpels ergänzt. Der hierfür im Englischen gebräuchliche Fachterminus lautet „boundary lubrication“ was zu deutsch mit Grenzflächenschmierung oder Grenzschmierungs-Ebene übersetzt werden kann. Einen die Rauheit des Knorpelbelags in seiner Ausdehnung überschreitender Lubrikationsfilm ist obligate Voraussetzung für eine effektive Grenzflächenschmierung [108]. Zu diesem Mechanismus gehören die sogenannten „Biolubrikantien“, die eigentliche Synovialflüssigkeit [199, 206] sowie ihre darin (und dem Knorpel) enthaltene Bestandteile [207]. Auf einige dieser substantiellen Bestandteile wird nachfolgend eingegangen.

Die Erstbeschreibung eines Lubrikans, das im folgenden Lubricin genannt wird, erfolgte 1981 durch Swann et al. [208]. Als Synonyme werden auch „superficial zone protein“ (SZP) oder Proteoglycan-4 (PRG4) verwendet. Diesem, von den Chondrozyten der Superficialzone und zu geringem Teil von Synoviozyten produzierten, muzinösem Glykoprotein kommt eine wichtige Rolle zur Lubrikation zu [17, 209]. So konnten beispielsweise Swann et al. [210] zeigen, dass ohne Synovialflüssigkeit der Reibungskoeffizient niedrig bleibt, wenn Lubricin als einziges Schmiermittel verwendet wird.

Als weiterer wichtiger Bestandteil ist die von Synovialzellen produzierte Hyaluronsäure zu nennen [43, 211] das einen Hauptbestandteil der Synovialflüssigkeit ausmacht

[211]. Seine genaue Funktion und sein rheologisches Verhalten als Lubrikans ist Teil des wissenschaftlichen Disputs. So hat Radin et al. [212, 213] keinen Einfluss auf die Reibungsminimierung festgestellt wohingegen andere Arbeitsgruppen von einem deutlichen, reibungsreduzierenden Effekt ausgehen [214-216].

Dem vergleichsweise wenig untersuchten [185] Chondroitinsulfat scheint ebenfalls eine Rolle in der Reibungsminimierung zuzukommen. Im Vergleich zu PBS scheint es ebenfalls in vitro reibungsreduzierende Eigenschaften zu besitzen und zwar im Reibungsversuch gegen Glas [217] und bei Knorpel gegen Knorpel [218].

Inwieweit jedem dieser einzelnen Bestandteile eine große oder kleine Rolle der Reibungsminimierung zuteil werden kann, ist Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion. Die vollumfängliche Beschreibung des Lubrikationsmechanismus in hyalinen Gelenken bleibt weiterhin offen. Der Fokus der Osteoarthroseforschung sollte sich aber nicht allein auf die Lubrikationsmechanismen beschränken, sondern auch auf das Thema des Verschleißes. Wie an den katastrophalen Folgen der ersten Hüftprothesen in den frühen 50iger Jahren zu erkennen ist, implizieren niedrige Reibzahlen nicht zwangsläufig auch niedrige Werte im Verschleißverhalten [219, 220].

1.3.3 Verschleiß

Verschleiß ist definiert als ein fortschreitender Materialverlust aus der Oberfläche eines festen Körpers, bedingt durch tribologische Beanspruchung [181]. Unterteilt werden kann zwischen der Verschleißart (bspw. Gleitverschleiß, Rollverschleiß, Wälzverschleiß, Stoßverschleiß usw.), dem Verschleißmechanismus (bspw. Adhäsion, Abrasion, tribochemische Reaktion, Oberflächenzerüttung usw.) sowie den daraus resultierenden Verschleißerscheinungsformen (Fresser, Riefen, Rinnen, Mulden, Furchen, Wellen, usw.) [181, 221]. Eine scharfe Abgrenzung dieser Termini ist aufgrund einer überlagerten Wirkweise häufig nicht möglich [221]. Im Folgenden wird ein Teil des für die Knorpelforschung von Relevanz erachteten Themengebietes erläutert. Auf die relevanten Bestandteile des Projektes wird im Verlaufe der Diskussion Bezug genommen.

Die Abbildung 6 gibt einen Überblick über die bei tribologischer Beanspruchung auftretenden Verschleißmechanismen.

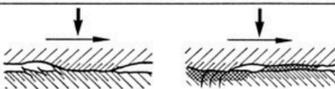
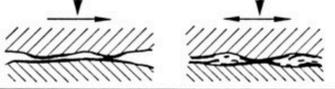
Mechanismus		Kennzeichen	Merkmal
Adhäsion			Vertiefungen, Riefen, Risse, Werkstoffübertrag, Verformung, Gefügeänderung
Abrasion			Riefen, Span, Wall, Mulden, Wellen, Verformung, Gefügeänderung
Oberflächenzerrüttung			Verformung, Risse, Grübchen, Gefügeänderung
Tribos-chemische und/oder tribo-physikalische Reaktionen	Reaktions-schicht-bildung		Schichtbildung, Oxidation
	Ablation		Verdampfen, Ausgasen, Zersetzen

Abbildung 6: Vereinfachte Verschleißmechanismen während tribologischer Beanspruchung; aus [221]

Verschleiß in Form von Abrasion, Adhäsion und Oberflächenzerrüttung (im englischen Sprachgebrauch wird hier der Terminus „fatigue wear“ gewählt) [22, 184-186, 222-225] werden in der Knorpelforschung vergleichsweise wenig untersucht [22, 226].

Für die qualitative und quantitative Bestimmung des Verschleißes von Knorpel bieten sich mehrere experimentelle Möglichkeiten an. In Anlehnung an die Materialwissenschaft können diese zum einen in der Deskription von Verschleißmessgrößen (bspw. Änderung der Masse der Proben, Untersuchung des Abriebs im Schmiermedium) und zum anderen in der Charakterisierung der Verschleißerscheinungsformen (makro- und mikroskopische Beschreibung von Veränderungen der Oberflächenstruktur) erfasst werden [181, 221].

Zur Beschreibung von Verschleißmessgrößen eignet sich beispielsweise die in vitro etablierte Konzentrationsbestimmung von 4-Hydroxyprolin, einer alpha-Aminosäure welche unter anderem im Kollagen des Knorpels vorkommt. Dieses kommt im Verlaufe eines tribologischen Tests als biologischer Abrieb im Schmiermedium vor, und dessen Konzentration kann dort mittels biochemischer Messmethoden bestimmt werden [185, 226-230].

Eine ähnliche Methode stellt die Bestimmung von Konzentration und/oder Gewicht von Glykosaminoglykanen dar, welche ebenfalls mit Hilfe der Analyse des Schmiermittels als Abriebprodukt quantifiziert werden kann [185, 187, 226, 227].

Rückschlüsse auf das Verschleißgeschehen lassen sich auch aus der Morphologie der biologischen Verschleißpartikel im Schmiermedium gewinnen, indem die Trümmer (englisch „debris“) im Abrieb mikroskopisch untersucht werden [222, 231-233].

Die Beschreibung von Verschleißerscheinungsformen (die durch den Verschleiß hervorgehenden Alterationen der Knorpeloberfläche) hingegen können mittels makro- bzw. mikroskopischer Untersuchung visuelle Hinweise auf das Verschleißgeschehen geben. Als Beispiele sind hier die Evaluation der Oberflächenbetrachtung mittels Rasterkraftmikroskop (engl: atomic force microscope (AFM)) [79, 186, 196, 199, 234] und/oder mittels Lichtmikroskop zu nennen [203, 234]. Die visuelle Charakterisierung des Verschleißes ist als ergänzende Untersuchungstechnik anzusehen und wird meist mit anderen Methoden kombiniert [185].

Die Bestimmung der Abrasionstiefe beziehungsweise der Penetrationstiefe - ähnlich diesem Forschungsprojekt - einer Metall versus Knorpel- [224] bzw. Knorpel versus Knorpelreibpaarung [187] stellt ebenfalls ein valides Instrument zur Quantifizierung von Verschleißereignissen dar.

Die Vielfalt dieser Untersuchungen stellt lediglich einen kleinen Ausschnitt der „Bio-tribologie“ dar und vermag nicht ein vollständig geschlossenes Bild des Verschleißprozesses abzubilden [184].

Speziell im Kontext von osteoarthrotisch geschädigtem Knorpel gilt, dass nicht ausschließlich mechanisch induzierter Verschleiß vorliegt, sondern biochemische Faktoren eine Rolle spielen (Abschnitt 1.2) [235].

Zusammenfassend wird festgehalten, dass Reibung und Verschleiß keine festen Werkstoffkennwerte darstellen, sondern in Relation zu verschiedenen Einflussfaktoren betrachtet werden müssen [181, 221]. Beispielsweise sind zu nennen:

- Materialpaarung
- Geometrie der Kontaktpartner
- Reibungsgeschwindigkeit und Dauer
- Viskosität des Schmiermittels
- Normalkraft
- Umgebungsbedingungen

1.4 Zielsetzung

Das grundlegende Ziel dieser Forschungsarbeit war es, das tribologische Verhalten von jungem und altem Gelenkknorpel aus porkinen Kniegelenken zu vergleichen. Die folgenden Fragestellungen sollten dabei eruiert werden:

1. Kann bei Knorpel, welcher von alten Schweinen aus dem örtlichen Schlachthof bezogen wurde, Osteoarthrose nachgewiesen werden? Falls Osteoarthrose vorhanden sein sollte, wie stark ist diese ausgeprägt?
2. Gibt es einen statistisch belastbaren Unterschied zwischen dem Knorpelbelag der alten und jungen Schweine?
3. Kann ein Unterschied im biomechanischen Verhalten nach einer tribologischen Belastung zwischen den jungen und alten Knorpelproben nachgewiesen werden?
4. Welchen Effekt auf der morphologischen Ebene hinterlassen die tribologischen Belastungen an den Knorpelproben? Gibt es einen Unterschied zwischen den jungen und alten Tieren im Hinblick auf diesen Effekt?

Zur Beantwortung von 1. und 2. sollte unter Zuhilfenahme von verschiedenen Bewertungskriterien bezüglich osteoarthrotischer Alterationen der Knorpel beider Gruppen (jung/alt) untersucht und verglichen werden. Im Anschluss (3.) soll der Knorpel mit Hilfe eines tribologischen Prüfsystems getestet werden. Hauptzielkriterium hier ist die mittels Höhenmesser aufgezeichnete Höhenabnahme des Knorpels nach 1108 Test-Zyklen. Die Höhenabnahmen beider Gruppen sollen miteinander verglichen werden. Für 4. sollte mittels geeigneter Evaluationsverfahren der Effekt der Testung auf die jeweilige Gruppe bewertet und auch hier miteinander verglichen werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Versuchsaufbau und Gruppeneinteilung

Die Dissertation untersucht das tribologische Verhalten von Knorpel-Knorpel-Reibpaarungen von insgesamt 54 Proben, welche aus porcinen Kniegelenken bestanden. Diese Proben wurden aus zwei Gruppen, nämlich von 16 jungen (nachfolgend als „JUNG“ bezeichnet) und 15 alten („ALT“) Schweinen entnommen.

Das jeweilige Kniegelenk wurde in ein laterales und mediales Kompartiment unterteilt. Jedes dieser Kompartimente bestand somit aus dem Femurkondylus und dem korrespondierendem Tibiaplateau (Abb. 15). Als Reibpartner dienten osteochondrale Blöcke, die als zylinderförmiger Pin aus dem Femur und als quadratischer Plate aus dem Tibiaplateau gewonnen wurden. Damit war es möglich Knorpel auf Knorpel in Form einer Reibpaarung zu untersuchen, mit weitgehender Übereinstimmung zu der natürlichen Knie-Anatomie.

Forschungsgegenstand der Arbeit ist es, eventuelle Unterschiede an nativem und arthrotisch verändertem Knorpel nach tribologischer Testung zu identifizieren. Zur Quantifizierung von arthrotischen Veränderungen wurden die Kniegelenke röntgenologisch untersucht sowie die einzelnen Kompartimente vor der tribologischen Messung makroskopisch und nach der tribologischen Messung makro- und mikroskopisch ausgewertet.

Der systematische Ablauf der Untersuchungen wird in der Abbildung 7 verdeutlicht.

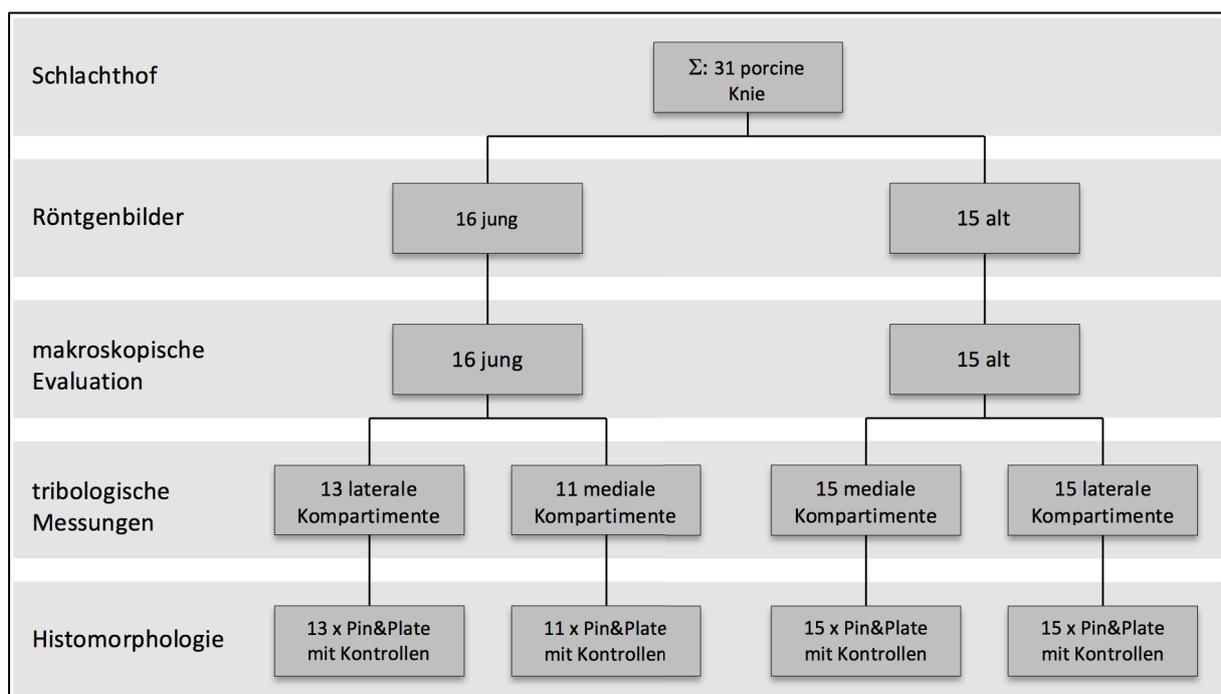


Abbildung 7: Die insgesamt 31 porcinen Beine wurden in zwei Gruppen, alt und jung, aufgeteilt. Jede Gruppe wurde hinsichtlich Arthrose-Zeichen geröntgt und makroskopisch untersucht. Für die tribologischen Messungen wurden die Knie in ein laterales und mediales Kompartiment aufgeteilt. Aus jedem Kompartiment wurden vier histologische Proben gewonnen (Pin/Plate/jeweils histologische Kontrollen).

2.2 Das Probenmaterial: Knorpel aus porkinen Kniegelenken

Die Schweine wurden am örtlichen Schlachthof (Fleischversorgungszentrum (FVZ) Mannheim GmbH, Mannheim, Deutschland) geschlachtet und deren Kniegelenke über den Fleischgroßhandel Straub (Straub Fleischwaren GmbH, Mannheim, Deutschland), welcher sich auf dem FVZ-Gelände befindet, bezogen. Es handelte sich um konventionelle Mastschwein-Extremitäten der Hausschweinrasse (*Sus scrofa domestica*) „Schwäbisch-Hällisches-Landschwein“, welche auch für die Lebensmittelproduktion verwendet werden [236].

Um sicher zu stellen, dass sich die Knie in einem möglichst in vivo-nahem Zustand befanden, wurden die Beine unmittelbar vor Abholung ausgekeult und anschließend mit dem PKW in das Labor transportiert.

Die als „jung“ definierten Schweine sind solche, welche zum Zeitpunkt der Schlachtung sechs Monate alt waren. Bei Kniegelenken dieses Alters ist davon auszugehen, dass arthrotische Veränderungen noch nicht stattgefunden haben [237]. Die als alt definierten Schweine waren zum Zeitpunkt der Schlachtung circa fünf Jahre alt. Bei diesen handelt es sich ausschließlich um Mutterschweine, Lose genannt, welche ausschließlich für die Aufzucht von Jungtieren verwendet werden. Diese Gruppe wurde aufgrund der höheren Wahrscheinlichkeit hinsichtlich des Auftretens einer OA im Kniegelenk für die weiteren Untersuchungen ausgewählt [238].

2.3 Technik der Bildgebung und röntgenologische Evaluierung

2.3.1 Röntgen der porkinen Kniegelenke

Um arthrotische Veränderungen zu identifizieren, wurden die Kniegelenke vor der Präparation für die tribologische Messung geröntgt. Aufgrund des beschränkten Platzangebotes im Kabinen-Röntgengerät wurden die Oberschenkel der Schweinebeine vor dem Röntgen in einem Schraubstock fixiert und am distalen Ende des Unterschenkels mit einer Amputationssäge (Model BIER FH 313, Aesculap AG, Tuttlingen Deutschland) gekürzt.

Als Röntgengerät diente das Model Faxitron® 43855A (Faxitron X-Ray Corporation, Buffalo Grove, USA) unter der Verwendung einer Fujifilm IP-Kassette 18x24cm mit Fujifilm ST-V Speicherfolie (FUJIFILM Corporation, Tokio, Japan). Der Abstand der Strahlenquelle zur Auflage betrug 61cm Film-Fokus-Abstand. Von dieser Distanz muss die individuelle Dicke der Kniegelenke abgezogen werden, um den tatsächlichen Abstand der Strahlenquelle zur Kniegelenksmitte festzulegen. Vor der ersten Benutzung durchlief das Gerät eine vorgeschriebene zehnmündige Aufwärmphase, in der die Röntgenkassetten zur Vermeidung von Verschmutzungen durch die Schweinebeine (bspw. Blut, Weichteilgewebe) in Folientüten verpackt wurden.

Von jedem Knie wurden eine anterior-posteriore und eine seitliche Aufnahme angefertigt. Die der Röntgenröhre zugeführte Spannung betrug 50kV über einen Zeitraum von fünf Sekunden.

Mit dem Gerät Philips Eleva CosimaX (Koninklijke Philips N. V., Amsterdam, Niederlande) wurden die Aufnahmen entwickelt und auf Röntgenfolie gedruckt. Darüber hinaus wurden die Aufnahmen auch als jpeg-Datei digital gespeichert. Die Auswertung der digitalen Aufnahmen erfolgte am Computer (MacBook Pro, Apple Inc., Cupertino, U.S.A.).

2.3.2 Radiologische Graduierung der Kniegelenke hinsichtlich Osteoarthritis

Als Klassifikation zur Graduierung der Osteoarthritis hat sich diejenige von Kellgren & Lawrence 1957 [180] bewährt. Die in dieser Dissertation verwendete Klassifikation folgt derjenigen von Kellgren & Lawrence-Score (Tab. 2), welche fünf Stadien mit zunehmender Destruktion unterscheidet.

Grad	Original Beschreibung
0	definite absence of x-ray changes of osteo-arthritis
1	doubtful narrowing of joint space and possible osteophytic lipping
2	definite osteophytes and possible narrowing of joint space
3	moderate multiple osteophytes, definite narrowing of joint space, some sclerosis and possible deformity of bone ends
4	large osteophytes, marked narrowing of joint space, severe sclerosis and definite deformity of bone ends

Tabelle 2: Graduierung der röntgenologischen Kriterien nach Kellgren und Lawrence [180]

2.4 Präparation der Kniegelenke

2.4.1 Präparationsprocedere

Um neben der radiologischen Evaluation der Kniegelenke auch eine makroskopische durchführen zu können, wurde stets die gleiche Präparationstechnik durchgeführt. Hierzu wurde der Oberschenkel in einem Drehblock-Schraubstock (Model 1B-DB, Günter Scheidt GmbH, Velbert, Deutschland) fixiert. Mit verschiedenen großen Einweg-Standardskalpellens (FEATHER® Safety Razor Co. Ltd., Osaka, Japan) ist das Knie unter Zuhilfenahme von chirurgischen Pinzetten (Model BD 539R und BD512R, Aesculap, Tuttlingen, Deutschland) und einer Mikulicz-Klemme (KLS Martin Group, Tuttlingen, Deutschland) von seinem Weichteilmantel befreit worden. Dazu wurde mit einem Hautschnitt auf Höhe des medialen Pateleapols begonnen und durch die einzelnen Schichten bis auf die Gelenkkapsel hinunter präpariert. Nach Eröffnung der Kapsel erfolgte das Durchtrennen der patellar-ligamentären Aufhängungen und schließlich das Absetzen der Patella.

Nach Durchtrennung der nun ersichtlichen Kreuzbänder in maximaler Flexion im Kniegelenk und der M. extensor digitorum longus-Sehne, konnten die Ligg. collaterale mediale und laterale dargestellt und ebenfalls durchtrennt werden. Bei vierfüßigen Säugetieren wie Schweinen zeigt sich im Vergleich zum Menschen ein Verlauf dieser Sehne durch eine umhüllte Aussackung der Kniegelenkskapsel in Form einer Kapselsehnen Scheide („Recessus subextensorius“) [239]. Da die Oberflächen des Gelenkknorpels als „no touch area“ angesehen wurden, ist eine subtile Präparationstechnik für ein artefaktfreies Vorgehen praktiziert worden. Im Anschluss an die nun

mögliche Exartikulation des Kniegelenkes erfolgte eine bilaterale Menishektomie, sodass der komplette Knorpelbelag des Tibiaplateaus und der beiden Femurkondylen uneingeschränkt frei einsehbar waren. Die sich teilweise auf dem Knorpelbelag noch befindlichen Verunreinigungen wie bspw. Blut oder Weichteilreste wurden sorgsam mit PBS-Flüssigkeit mittels einer Pipette spülend entfernt, um die zu untersuchende Knorpeloberfläche nicht zu berühren. Unter Zuhilfenahme einer Canon EOS 7D Digitalkamera mit einem Makroobjektiv Canon Macro Lens EF 100mm 1:2.8 (Canon Inc., Tokio, Japan) wurden hochauflösende Fotos zur makromorphologischen Begutachtung der Knorpeloberflächen angefertigt und auf dem Computer gespeichert.

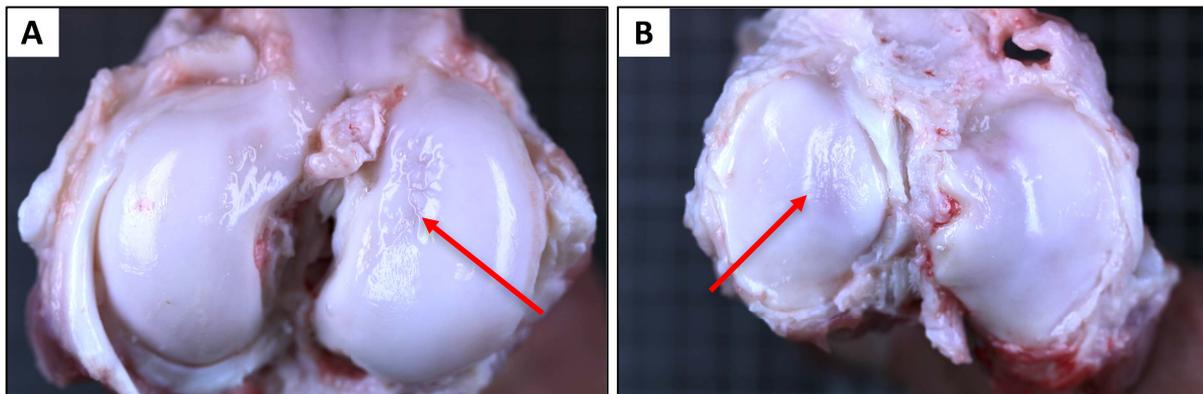


Abbildung 8: Fotos des makroskopischen Knorpelbelages der Femurkondylen (A) und des korrespondierenden Tibiaplateau (B) von einem alten Schwein. Durch Pfeile gekennzeichnet sind arthrotische Veränderungen.

2.4.2 Makroskopische Stadieneinteilung der arthrotischen Veränderungen

Die in dieser Dissertation verwendete Bewertung bezieht sich auf die Klassifikation der International Cartilage Repair Society (ICRS), welche die ursprüngliche Klassifikation nach Outerbridge von 1961 [240] aufgriff und weiter differenziert hat [240-243]. Diese Einteilung bezieht sich ausschließlich auf Knorpelschäden, welche nicht auf dem Boden einer Osteochondrosis dissecans entstanden sind und orientiert sich vorwiegend an der Tiefe der Läsionen. Das Grading erfolgte am Computer (Macbook Pro, Apple Inc.), auf welchem die Fotos gespeichert wurden.

Für dieses Projekt wurde die ICRS-Klassifikation aufgegriffen und numerisch adaptiert (Tab. 3), sodass eine statistische Auswertung der Ergebnisse möglich war.

Grad	Numerische Adaptierung	Veränderungen am Knorpelbelag
0	0	Makroskopisch normaler Knorpel mit glatter, intakter Oberfläche
1 A	1	Intakte Oberfläche, allerdings Fibrillierungen und/oder Erweichung der Oberfläche
1 B	1,5	Und oberflächliche Fissuren bzw. Risse
2	2	Defekte, welche weniger als 50% der gesamten Knorpeldicke einnehmen
3 A	3	Defekte, welche mehr als 50% der gesamten Knorpeldicke einnehmen
3 B	3,25	Defekte reichen bis zur mineralisierten Zone des Knorpelbelags
3 C	3,5	Defekte reichen bis zur subchondralen Lamelle
3 D	3,75	Blasenbildung periläsional
4 A	4	Defekte reichen bis kurz unter die subchondrale Lamelle
4 B	4,5	Defekte reichen tief in den spongiosen Knochen hinein

Tabelle 3: Makroskopische Graduierung der Osteoarthrose nach ICRS [243] bzw. eigen numerisch adaptiert.

2.5 Probenentnahme für die tribologischen Messungen

Um den Knorpel für die tribologische Testung verwenden zu können, war es notwendig, die beiden Reibpartner aus den Kniegelenken zu gewinnen. Zur Gewinnung der Proben für den tribologischen Versuch wurden eigens dafür vorgesehene Spezialinstrumente angefertigt (Abb. 9). Diese ermöglichten es den Pin und die Plate ohne Berührung der Knorpeloberfläche aus den Kniekompartimenten zu entnehmen.

Für den Pin-on-Plate Prüfstand (Abschnitt 2.6) diente als obere Probe ein osteochondraler, zylinderförmiger Pin, welcher aus dem Femurkondylus gewonnen wurde. Der Durchmesser des Pins betrug $\varnothing = 5$ mm. Für die untere Probe, die Plate, diente ein osteochondraler, quadratischer Block, welcher aus dem korrespondierendem Tibiaplateau stammte. Dieser hatte eine Kantenlänge von je 20 mm.

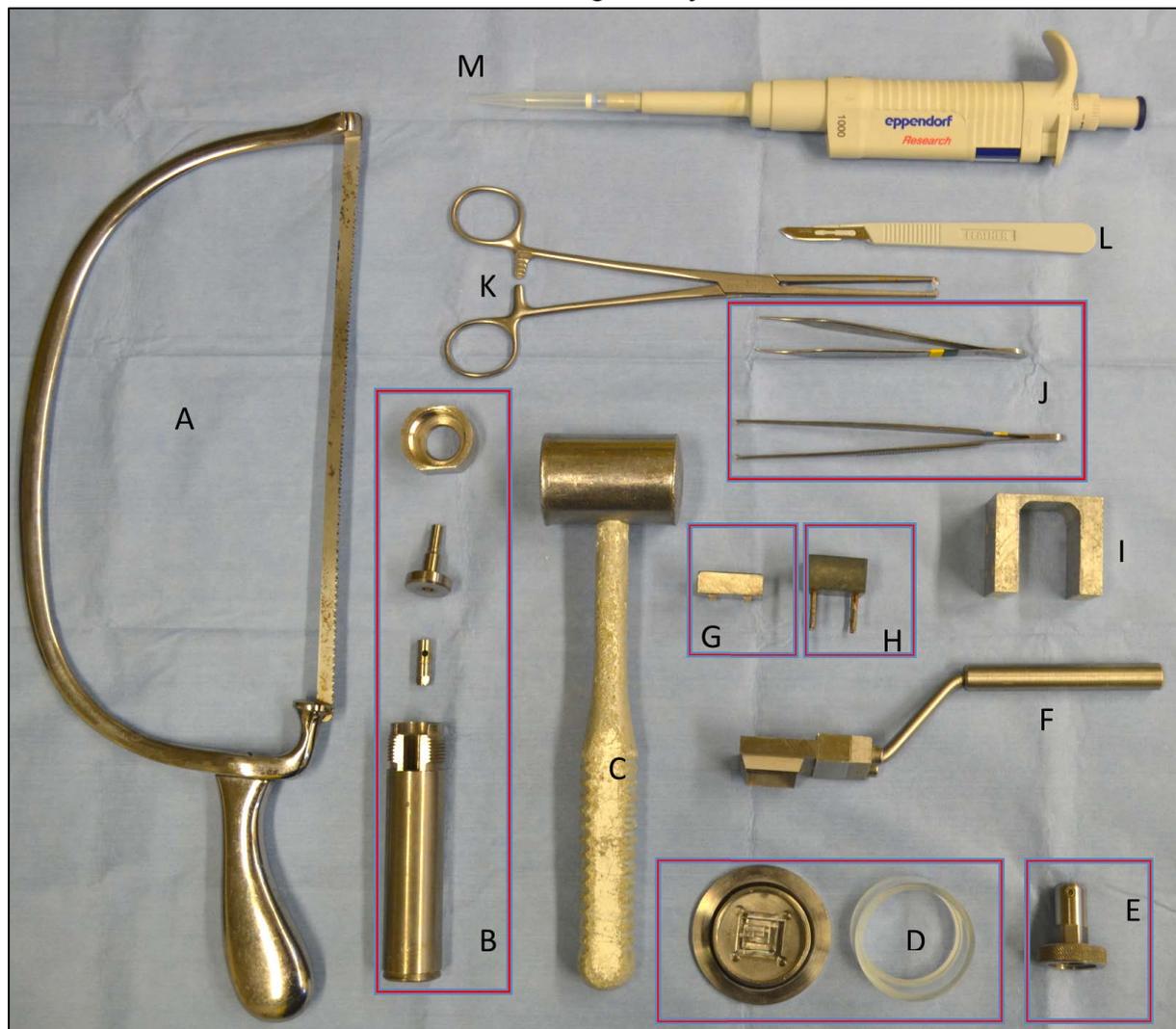


Abbildung 9: Amputationssäge (A) zum Kürzen der Unterschenkel, Pin-Entnahmewerkzeug (B) in Einzelteile zerlegt, Hammer (C), Probenhalter unten (D) für die Plate mit Kunststoffhohlzylinder, Probenhalter oben (E) für den Pin, Lochisenstanze mit Griff (F) zum Ausschlagen der Plate, Schlagaufsatz für Lochisenstanze (G), Austreibwerkzeug (H) zum Ausschlagen der Plate aus der Lochisenstanze, U-förmige Edelstahlauflage (I) auf die die Lochisenstanze zum Ausschlagen der Plate aufgelegt wird, chirurgische Pinzetten (J), Mikuliczklemme (K), Skalpell (L), Pipette (M) zum Spülen der Knorpeloberflächen

2.5.1 Der osteochondrale Pin als Probe

Der Pin wurde mit einem Entnahmewerkzeug, ähnlich dem eines Stanzmeißels, aus dem im Drehblock-Schraubstock fixiertem Femur mit einem Hammer (Model Ombredanne FL 66, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) ausgeschlagen. Die Schneidhülse (Abb. 10) des Entnahmewerkzeugs stanzte einen osteochondralen, zylinderförmigen Pin mit einem Durchmesser von $\varnothing = 5$ mm aus. Hierbei wurde auf ein möglichst orthogonales Aufsetzen der Schneidhülse auf die Knorpeloberfläche geachtet. Das Entnahmehandteil mit der sich darin befindenden Probenhülse konnte anschließend mittels feinen Drehbewegungen aus dem Femurkondylus herausgezogen werden. Nach Entfernung der Überwurfmutter war eine Kontrolle - ob der osteochondrale Pin ausreichend tief in die Probenhülse hineingetrieben worden war - möglich. Ein Sichtloch seitlich in der Probenhülse stellte dies sicher. War dies nicht der Fall, konnte unter Zuhilfenahme einer Austreibstange, die ebenfalls einen Durchmesser von 5 mm hatte, die Probe von ihrer Unterseite aus durch die Schneidhülse hindurch weiter in die Probenhülse hineingetrieben werden. Es war darauf zu achten, dass die knöchernen Probenunterseite flach abschließt.

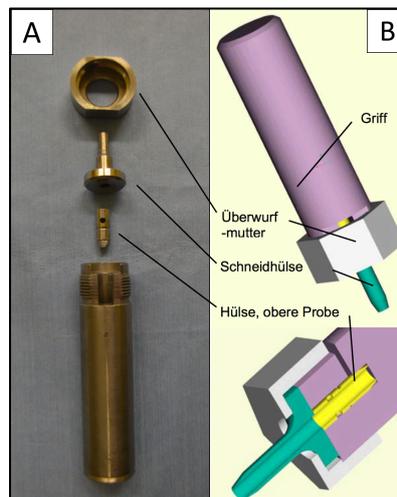


Abbildung 10: Das Entnahmewerkzeug für den Pin in seine Einzelteile zerlegt (A) und als Zusammenbau und im Schnitt in der CAD-Zeichnung; Abb. B aus [244]

Die Probenhülse konnte anschließend in den Probenhalter oben mit einer orthogonal positionierten Feststellschraube fixiert werden. Um Veränderungen des Knorpelbelags der Pins, welche durch den anschließenden tribologischen Versuch bedingt waren, feststellen zu können, wurde eine Fotodokumentation vor und nach jedem Versuch durchgeführt. Hierfür wurde eine Repräsentativ-Einheit der Firma Kaiser verwendet (Kameraständer RSX, Kameraarm RTX, Grundbrett ca. 600 mm x 500 mm, Beleuchtungseinrichtung RB5000, Kaiser Fototechnik GmbH & Co.KG, Buchen, Deutschland)

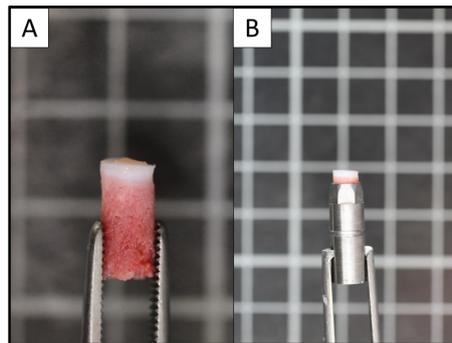


Abbildung 11: Osteochondraler Pin mit einem Durchmesser von 5 mm und einer Länge von ca. 13 mm (A), osteochondraler Pin in Probenhülse (B)

Aus jedem Kniekompartiment wurden zwei Pins gewonnen. Einer für die tribologische Messung und einer für die histologische Kontrolle. Dies diente dem späteren Zweck, einen makro- sowie mikroskopischen Vergleich der beiden Proben anfertigen zu können. Da ein Kniegelenk aus zwei Kompartimenten besteht, ergeben sich somit vier Pins aus jedem Kniegelenk. Die Pins wurden aus Stellen entnommen, welche makroskopisch sichtbare Alterationen aufwiesen. Falls keine sichtbar waren, wurden die Pins aus den Hauptbelastungszonen entnommen.



Abbildung 12: Je zwei Entnahmestellen der Pins pro Kondylenseite. Eine für die histologische Kontrolle, sowie eine für die tribologische Messung.

2.5.2 Die osteochondrale Plate als Probe

Die quadratische Plate wurde als osteochondraler Block aus dem Tibiaplateau gewonnen und hatte eine Kantenlänge von 20 mm. Die Höhe betrug ca. 5-7 mm. Um den Block aus dem Tibiaplateau zu gewinnen, musste die im Drehblock-Schraubstock fixierte Tibia zuerst mit Hilfe der Amputationssäge ca. 5-7 mm unterhalb des Knorpelbelages parallel zur Gelenkfläche durchtrennt werden. Die Unterseite des Stückes oberhalb des Sägeschnitts bildete somit den planen, knöchernen Boden der zukünftigen Plate. Die Inzision reichte nicht durch die ganze Tibia, sondern bis auf die Höhe der inneren Begrenzung des Knorpelbelages. An dieser Stelle geht die Knorpeloberfläche des jeweiligen Plateaus in die Eminentia intercondylaris über. Somit konnte sichergestellt werden, dass das Tibiaplateau (aus der die Plate ausgestanzt wurde) noch einseitig, knöchern stabil mit der Tibia verbunden war. Damit das Tibiaplateau nicht während den nun folgenden Arbeitsschritten unkontrolliert abfällt, oder gar auf die Knorpeloberfläche stürzt, wurde es mit der Mikuliczklemme am Rand der inzidierten Seite fixiert. Mit Hilfe der Amputationssäge wurde, diesmal von der Eminentia intercondylaris ausgehend, eine weitere Inzision vorgenommen. Dieser Schnitt führte von kranial nach kaudal in Richtung des Endes der ersten Inzision, sodass sich beide

Schnitte letztendlich trafen. Das somit frei mobilisierte Tibiaplateau konnte mit der daran befestigten Mikuliczklammer auf eine Schutzunterlage aus Kunststoff verbracht werden.

Im nächsten Schritt wurde die speziell hierfür angefertigte Locheisenstanze (Abb. 13) waagrecht auf das Tibiaplateau aufgelegt. Mit Hammerschlägen auf den Schlagaufsatz (Abb. 13), der auf der Locheisenstanze auflag, wurde die Stanze bis zum Anschlag auf der Schutzunterlage aus Kunststoff hineingetrieben. Der Schlagaufsatz diente dem Zweck, das Material der Plate Stanze zu schützen, ebenso wie die Knorpeloberfläche vor Metallsplintern, welche beim Schlagen abspringen hätten können, zu bewahren. Die Plate war somit in der Plate Stanze festgeklemmt. Um diese aus der Stanze zu lösen, ohne jedoch den zu untersuchenden Knorpelbelag zu berühren, wurde in einem nächsten Schritt ein Austreibwerkzeug verwendet (Abb. 13). Dieses wurde ebenfalls speziell für diesen Zweck konstruiert. Mit diesem war es dank der vier an den Ecken angebrachten dünnen Pins (nur diese berührten die äußeren Ecken des Knorpels auf der Plate) möglich, die Plate aus der Plate Stanze zu lösen. Dafür wurde die Stanze auf eine U-förmige Edelstahlaufgabe für das Austreiben gelegt und mit leichten Hammerschlägen auf das Austreibwerkzeug, die Plate aus der Stanze befreit.

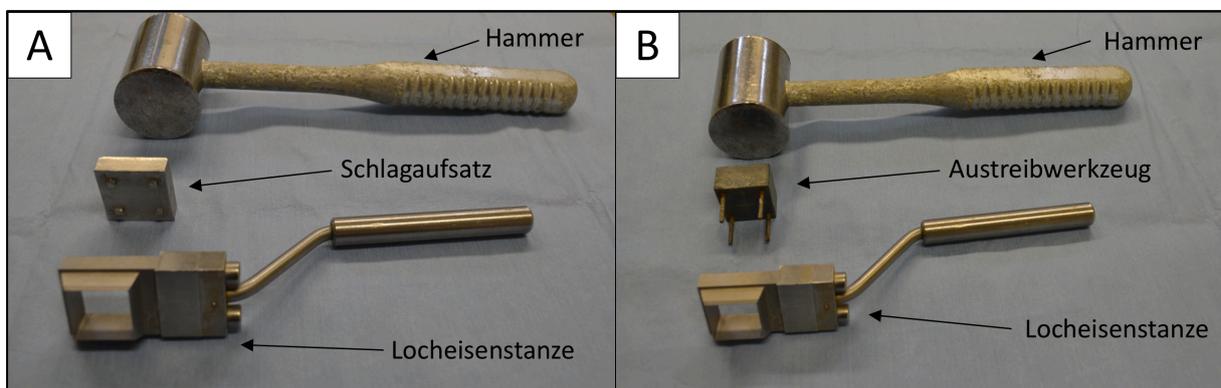


Abbildung 13: Werkzeug zum Entnehmen der Plate aus dem Tibiaplateau. Der Schlagaufsatz in A wurde auf die Locheisenstanze gelegt. Mit Hammerschlägen konnte nun eine Plate aus dem Tibiaplateau gewonnen werden. Mittels des Austreibwerkzeugs in B konnte die festgeklemmte Plate aus der Locheisenstanze gelöst werden.

Die Plate konnte schließlich manuell mit leichtem Druck in den Probenhalter gedrückt und somit fixiert werden. Hierbei wurde wieder darauf geachtet, dass die Plate nur jeweils am äußersten Rand berührt wurde, und somit der Knorpelbelag in keiner Weise Alterationen unterlag. Durch eine Markierung auf dem Probenhalter unten war es möglich, der Plate ihre ursprünglich anatomisch sagittale Richtung (ventral/dorsal) zuzuweisen. Verunreinigungen wurden analog zum Vorgehen bei den makroskopischen Untersuchungen mittels PBS-Flüssigkeit weggespült.

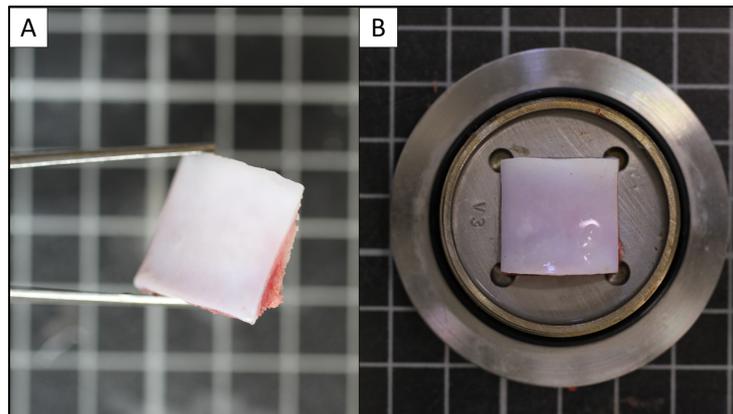


Abbildung 14: Die isolierte osteochondrale Plate (A), fixiert in dem „Probenhalter unten“ (B)

2.5.3 Bezeichnung der Proben

Um eine einheitliche Bezeichnung der Proben zu ermöglichen wurde ein eigenes Schema entworfen (Abb. 15). Somit konnte sichergestellt werden, dass die osteochondralen Proben immer nach dem gleichen Prinzip entnommen und benannt wurden. Eine Rückverfolgung des Probenentnahmestortes zu einem späteren Zeitpunkt wurde überdies ebenfalls problemlos möglich.

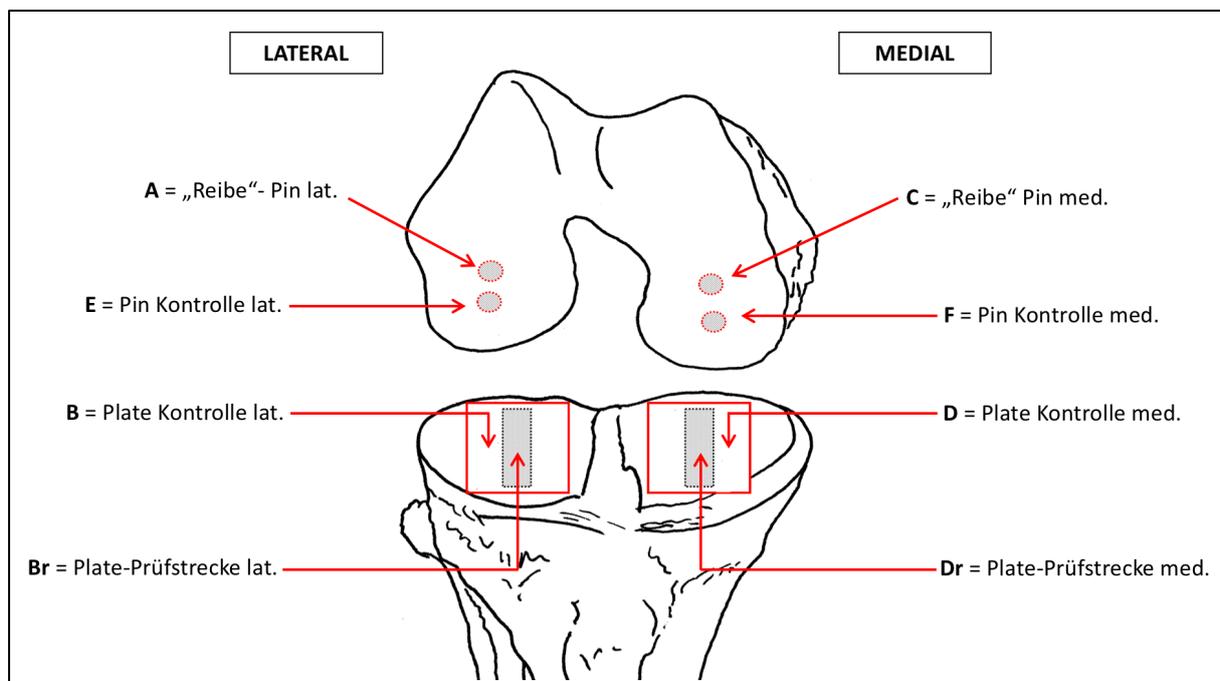


Abbildung 15: Probenbezeichnung mit ihren jeweiligen Entnahmelokalisationen; A = „Reibe“- Pin an der lateralen Femurkondyle; Br = Prüfstrecke der Plate des lateralen Tibiaplateaus; B = Kontrollbereich der Plate des lateralen Tibiaplateaus; C = „Reibe“- Pin an der medialen Femurkondyle; Dr = Prüfstrecke der Plate des medialen Tibiaplateaus; D = Kontrollbereich der Plate des medialen Tibiaplateaus, E = Pin Kontrolle der lateralen Femurkondyle, F = Pin Kontrolle der medialen Femurkondyle

In dieser Dissertation werden im Folgenden die Begriffe prä- und posttribologisch verwendet. Als prätribologisch ist der Zustand vor der tribologischen Testung definiert. Die osteochondralen Proben welche diesen Zustand repräsentierten waren die Kontrollen, repräsentiert durch die Kontroll-Pins (E oder F) beziehungsweise die Kontrollbereiche auf den Plates (B oder D). Als posttribologisch wurde der Zustand nach der tribologischen Testung definiert. Dieser Zustand wurde repräsentiert durch die „Reibe“- Pins (A oder C) beziehungsweise der Prüfstrecke auf den Plates (Br oder Dr) (Abb. 15).

Die Ergebnisse der verschiedenen Scores, mit welchen die Proben evaluiert wurden, errechnete sich aus den arithmetischen Mittelwerten ihrer jeweiligen Gruppenzugehörigkeit (bspw. ALT/JUNG, medial/lateral etc.).

Die Mittelwerte der Scores einer „Kniegelenks-Gruppe“ (bspw. gesamt ALT) errechnete sich aus der Summe der vier Score - Werte von lateraler Femurkondyle (Probe A), dem korrespondierendem lateralen Tibiaplateau (Probe B), der medialen Femurkondyle (Probe C) und dem korrespondierendem medialen Tibiaplateau (Probe D) (Abb. 15).

$$\text{Mittelwert (M) Kniegelenk} = \frac{\sum A+Br+C+Dr}{N=\text{Anzahl untersuchter Oberflächen}}$$

Die Mittelwerte bezogen auf das alleinige laterale oder mediale Kompartiment errechneten sich aus dem arithmetischen Mittel der lateralen oder medialen Femurkondylen (Proben A oder Proben C) und den lateralen oder medialen Tibiaplateaus (Proben B oder Proben D) (Abb. 15).

$$\text{Mittelwert (M) laterale Kompartimente} = \frac{\sum A+Br}{N=\text{Anzahl untersuchter Oberflächen}}$$

$$\text{Mittelwert (M) mediale Kompartimente} = \frac{\sum C+Dr}{N=\text{Anzahl untersuchter Oberflächen}}$$

Auch wurden die beiden femoralen Proben (Probe A und Probe C) den beiden tibialen Proben gegenübergestellt (Probe B und Probe D) (Abb. 15).

$$\text{Mittelwert (M) femoral} = \frac{\sum A+C}{N=\text{Anzahl untersuchter Oberflächen}}$$

$$\text{Mittelwert (M) tibial} = \frac{\sum Br+Dr}{N=\text{Anzahl untersuchter Oberflächen}}$$

Für die Kontroll-Proben (posttribologisch) wurden entsprechend der Abbildung 15 die jeweiligen Kontrollproben (E/F/B/D) verwendet.

2.5.4 Schutz vor Austrocknung der Proben durch phosphatgepufferte Salzlösung (PBS)

Um die Knorpeloberflächen vor dem Austrocknen zu bewahren, wurde die Plate sofort nach Verbringen in den Probenhalter unten in circa 30 ml PBS (phosphate buffered saline = phosphatgepufferte Salzlösung) eingelegt. Da PBS-Lösungen isotonisch sind,

können sie zur Verlängerung der Lebensdauer und zum Schutz vor Austrocknung der Proben herangezogen werden. Um ein vollständiges Überdecken der Oberflächen mit PBS zu gewährleisten, wurde ein Hohlzylinder, ähnlich einem Becherglas, aus transparentem Kunststoff auf den Probenhalter unten geschraubt. Die Pins konnten ebenfalls neben der Plate in PBS eingelegt werden.

2.5.5 Herstellung einer PBS-Lösung

Um einen Liter PBS-Lösung herstellen zu können, wurde folgende Reagenzien (alleamt J. T. Baker / Avantor Performance Materials, Center Valley, U.S.A.) benötigt:

- 0,55g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ (Natriumdihydrogenphosphat)
- 2,85g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (Dinatriumhydrogenphosphat)
- 8,70g NaCl (Natriumchlorid)

Diese Reagenzien wurden in einem Liter destilliertem Wasser gelöst und mit Hilfe der Zugabe von NaOH (Natriumhydroxit) auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt.

2.6 Der tribologische Prüfstand

2.6.1 Vorarbeiten

Als tribologischer Prüfstand wurde ein System gewählt, das auf dem Pin-on-Plate-Prinzip beruht.

Der Prüfstand wurde im Labor für Biomechanik unter der Leitung von Herrn Prof. Schwarz im Rahmen des Projektes TRIBKNOR konstruiert [244]. Der Aufbau sowie die Inbetriebsetzung erfolgte seitens einer Diplomarbeit [244] und Masterarbeit [245]. Anhand von Voruntersuchungen an nativem Knorpel konnte die Funktion des Prüfstandes validiert werden. Somit war es möglich, auf ein funktionstüchtiges Gerät zurückzugreifen [246].

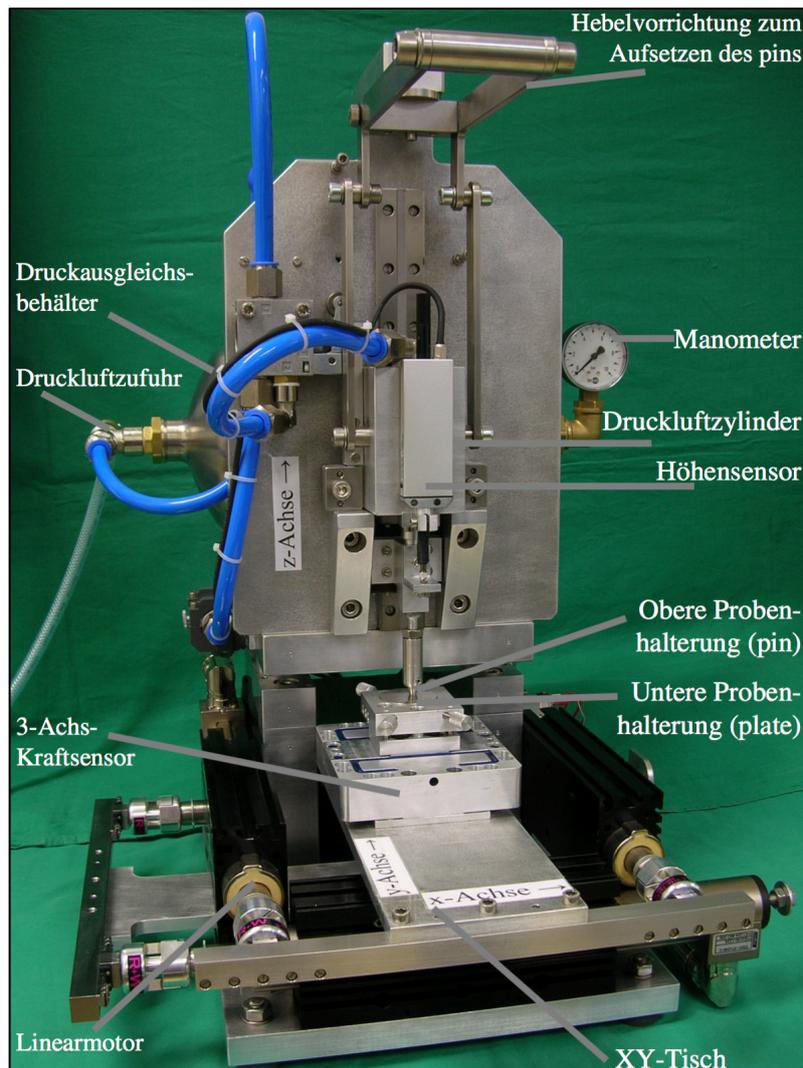


Abbildung 16: Gesamtansicht des tribologischen Prüfstandes mit oberer Probenhalterung für den Pin und sich relativ dazu bewegendem unteren Probenhalterung für die Plate. Der Höhensensor zeichnete die Auslenkung in z-Achsen-Richtung auf, was der Höhenminderung des Knorpels im Verlauf der tribologischen Testung entspricht; Bild aus [246]

2.6.2 Systemaufbau und Funktionsweise

Zur Inbetriebnahme des tribologischen Prüfstandes war ein Stromanschluss von 230V/50Hz sowie eine Druckluftquelle (Super - Kompressor 340-60, Schneider Druckluft GmbH, Deutschland) erforderlich.

Grundlegend funktioniert der Pin-on-Plate Prüfstand nach dem Prinzip einer beweglichen Probe unten, welche sich relativ zu einer oberen, stationären Probe bewegt. Die Kinematik entspricht dabei einer Trajektorie.

Die Plate als untere Probe wurde in der horizontalen x-y-Ebene mit vier Linearmotoren (LinMot, NTI AG, Spreitenbach, Schweiz) vertikal zur oberen Probe bewegt. Durch die pro Bewegungsachse zwei parallel angeordneten Linearmotoren zeichnet sich die untere Probe in ihren horizontalen Bewegungen durch eine hohe Kinetik und Stabilität

aus. Eine Wiederholgenauigkeit der Positionierung der Motoren von $100\ \mu\text{m}$ garantierte eine hohe Präzision beim oszillierenden Abfahren der gleichen Strecke auf der Plate. Das System ermöglicht grundsätzlich eine Beschleunigung von bis zu $56,7\ \text{m/s}^2$ (x-Ebene) beziehungsweise $79,1\ \text{m/s}^2$ (y-Ebene) und eine theoretische Geschwindigkeit von $0,81 \times 10^{-6}$ bis $2,6\ \text{m/s}$ [13]. Je Achse ist es durch die Motoren möglich, eine Kraft von bis zu $340\ \text{N}$ zu erzeugen.

Der Pin als obere Probe hingegen war in der vertikalen z-Ebene durch eine Lagerung des Probenhalters in einer Linearführung und mittels einer Pneumatikvorrichtung höhenbeweglich. Dies sicherte das orthogonale Abfahren des Pins zur Fläche der unteren Probe, da der Knorpelbelag der Plate natürliche Unebenheiten aufweist. Über die Pneumatikvorrichtung konnte der gegenseitige Anpressdruck der Proben konstant gehalten werden. Möglich machte dies ein an den Pneumatikzylinder angeschlossener Druckluftbehälter (Volumen $5\ \text{l}$), welcher als Ausgleichsgefäß diente (Abb. 17). Dieser verkleinerte die relative Druckluftvolumenänderung im Pneumatikzylinder im Vergleich zum Druckluftbehälter so stark, dass der Anpressdruck der beiden Proben nahezu konstant blieb und Änderungen vernachlässigbar klein waren [244, 245]. Durch einen Hebelmechanismus (Abb. 16) war es erstens möglich, genügend Platz zum Montieren der oberen Probe zu haben und zweitens konnte somit erst kurz vor dem eigentlichen tribologischen Test die obere auf die untere Probe herabgelassen werden.

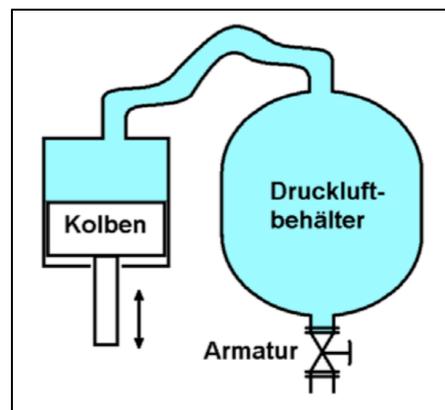


Abbildung 17: Schematische Darstellung der pneumatischen Anordnung; aus [244]

2.6.3 Mess-Sensoren, Motorensteuerung und Datenaufarbeitung

Die untere Probe wurde auf einem kalibrierten und validierten Dreiachskraftsensor (K3D60 von ME-Messsysteme, Hennigsdorf, Deutschland) montiert. Dieser hatte einen Messbereich von $\pm 50\ \text{N}$ in der vertikalen z-Richtung und $\pm 10\ \text{N}$ in der horizontalen x- und y-Richtung.

Die Auslenkungen der oberen Probe wurden von einem Hözensensor (DT32P, Sony Precision Technology Inc., Tokio, Japan) quantifiziert, der eine Genauigkeit von $10\ \mu\text{m}$ bei einer Auflösung von $5\ \mu\text{m}$ aufwies.

Die Motorensteuerung sowie das Auswerten der Positionssignale der Linearmotoren und des Hözensensors erfolgte mit einer Ansteuerungskarte PCI-7340 (National Instruments, Austin, USA). Für die Datenaufnahme wurde eine Messkarte „Multifunktions- Datenerfassungsmodul“ (DAQ) PCIe-6230 (National Instruments) verwendet. Die Messfrequenz betrug $1\ \text{kHz}$. Die zu jedem Messzeitpunkt synchron erfassten Kräfte und Positionen während eines tribologischen Versuches wurden als Messdaten

mittels einer Software (LabView 11.0, National Instruments, Austin, U.S.A.) skaliert und anschließend auf eine Festplatte geschrieben.

2.6.4 Montage der Proben

Der Probenhalter unten mit der sich darin befindlichen Plate wurde auf die Plattform des tribologischen Prüfstandes mit Hilfe zweier Spannbratzen, die durch Rändelschrauben befestigt wurden, fixiert. Die korrekte Positionierung und damit die Richtung des Abfahrens der oszillierenden Prüfstrecke, nämlich in der anatomisch korrekten sagittalen Richtung von ventral nach dorsal, war dank der Markierung auf dem Probenhalter unten möglich.

Die Probenhülse mit dem sich darin befindlichen osteochondralen Pin als obere Probe wurde in den oberen Probenhalter eingesetzt und mit einer orthogonal positionierten Schraube arretiert. Der Probenhalter wurde anschließend auf die Kolbenstange des Pneumatikzylinders aufgeschraubt. Somit konnte der osteochondrale Pin mit der Kolbenstange, welche sich nach unten hin verjüngt und zentral durch den Probenhalter verlief, während des Einschraubens noch weiter nach außen gedrückt werden. Damit wurde sichergestellt, dass die Knorpeloberfläche ausreichend weit über den Rand der metallenen Probenhülse schaute und auch nur dieser seinen Konterpart (die unebene Plate) während des tribologischen Tests berührte. Der obere Probenhalter wurde anschließend mit einer Mutter gekontert und war infolgedessen fest arretiert. Nach dem Schließen des Hebelmechanismus lagen die beiden Proben durch ihr Eigengewicht aufeinander (Abb. 18). Der Anpressdruck konnte nun über Druckluft der Pneumatikvorrichtung konstant gehalten werden.

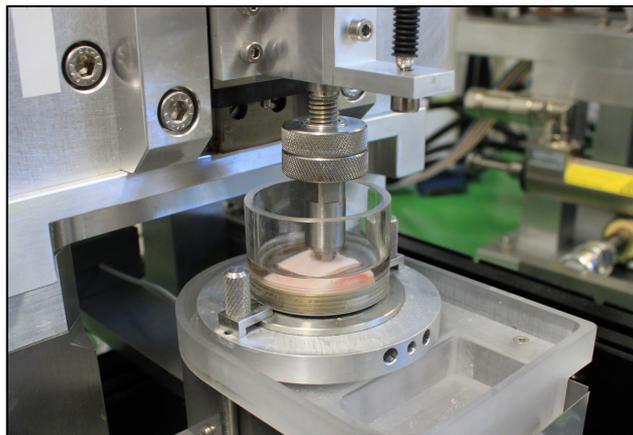


Abbildung 18: Pin und Plate in ihren jeweiligen Halterungen während eines Versuches

2.6.5 Messparameter und Testparameter

Die verwendeten Messparameter wurden aus der bekannten Literatur herangezogen [13, 187, 192]. Als Lubrikationsflüssigkeit dienten ca. 30 ml PBS, welche sich in dem hohlzylinderförmigen Becherglas befand. Die Wegstrecke, welche als oszillierende Bahn auf der Plate abgefahren wurde, hatte eine Länge von insgesamt 13 mm (Abb. 19). Die Strecke, auf welcher die Höhenabnahme und Kraft bestimmt wurde, betrug 3 mm. Dies rührt daher, dass an beiden Enden der Prüfstrecke der Pin-Durchmesser

von 5 mm subtrahiert werden muss. Bereiche, welche durch Haftreibungseffekte an den beiden Umkehrpunkten die Messungen beeinflussen würden, sind dementsprechend nicht erfasst worden. Diese 3 mm lange Strecke wurde mit einer konstanten Geschwindigkeit von 4 mm/sek durchfahren. Die Beschleunigung der Plate durch die vier Linearmotoren betrug 50 m/s^2 . Der durch Druckluft bereitgestellte Anpressdruck der beiden Reibpartner wurde auf 1 MPa eingestellt. Die Anzahl der Zyklen betrug 1108, wobei ein Zyklus als das Abfahren der Prüfstrecke beginnend von ventral nach dorsal und wieder zurück definiert wurde. Die Zeit, welche für das Abfahren der 1108 Zyklen benötigt wurde, betrug 2,05 Stunden (2 Stunden und 3 Minuten).

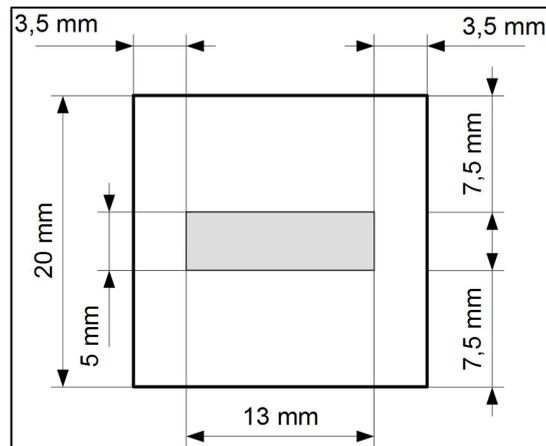


Abbildung 19: Bemaßte Zeichnung der Plate mit Blick von kranial. Grau hinterlegt ist die Wegstrecke des Pins, welche sich mittig auf der Oberfläche befindet.

Der Anpressdruck, welcher auf die beiden Proben wirkte wurde über den Kompressor auf 1 MPa eingestellt und über den gesamten Verlauf der Versuche durch den Kraftsensor aufgezeichnet. Der Anpressdruck von 1 MPa wurde über den Druckluftbehälter auf den Pneumatikzylinder aufgebaut, welcher in Abschnitt 2.6.2 beschrieben wurde.

2.6.6 Tribologische Messungen und Ermittlung der tribologischen Endergebnisse Höhe in mm und Kraft in N

Das Höhenprofil der Plate wurde über den Zeitraum der 1108 Zyklen kontinuierlich an jedem Punkt der Wegstrecke des Pins auf der Plate aufgezeichnet. Wie beschrieben, waren nur die zentral auf der Plate liegenden 3 mm von Relevanz (Prüfstrecke). Die Ergebnisse wurden daher dahingehend gefiltert, dass ausschließlich die Höhenabnahme und die Kraft dieser 3 mm langen Prüfstrecke in die Endergebnisse einfließen. Das Berechnen der Ergebnisse bezüglich der Kraft in N ist in der nachfolgenden Abbildung 20 verdeutlicht.

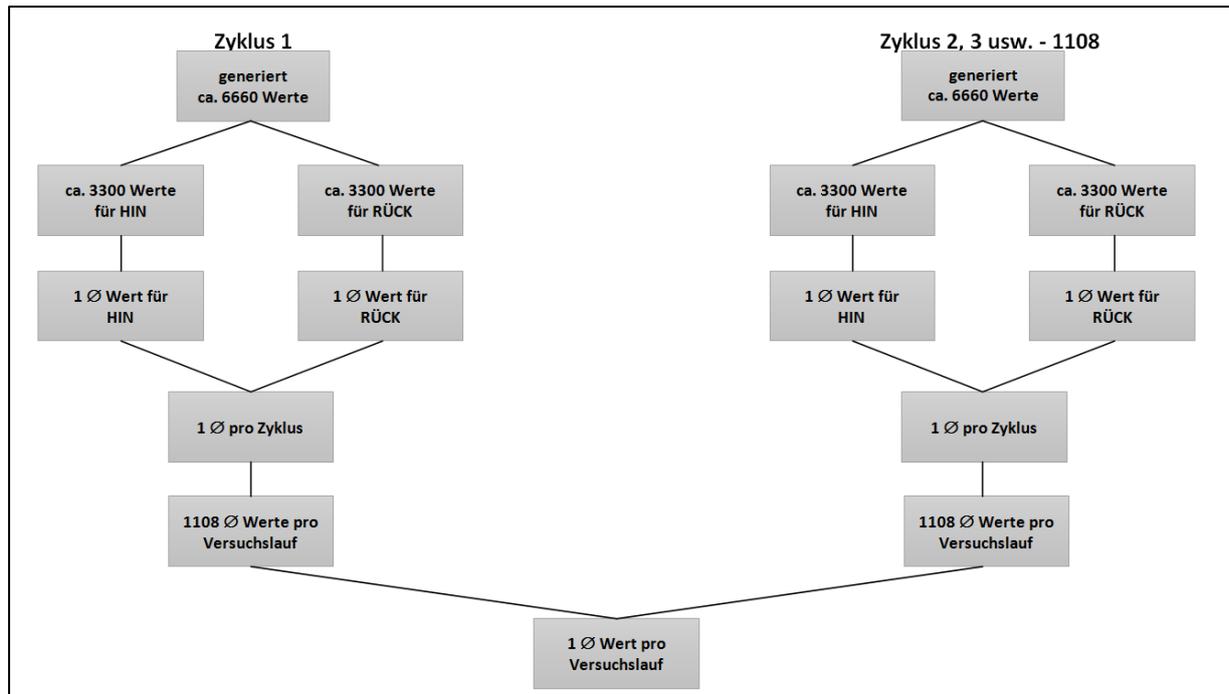


Abbildung 20: Exemplarische Darstellung mittels Ebenen der Berechnung eines Kraftwertes für einen Versuchsdurchlauf – bestehend aus insgesamt 1108 Zyklen, hier Zyklus 1 links und die Folgenden 1107 eines Versuchsdurchlaufes rechts; die je Zyklus generierten ca. 6660 Werte kommen folgendermaßen zustande: $123 \text{ min} = 1108 \text{ Zyklen} / 6,6606 \text{ sek.} = 1 \text{ Zyklus} / 1 \text{ sek.} = 1000 \text{ Messungen} = 1 \text{ kHz (Messfrequenz)} / 6,66 \text{ sec} = \text{ca. } 6660 \text{ Werte}$

Für das Verständnis der während des Abfahrens der Prüfstrecke HIN bzw. RÜCK an dem Sensor gemessenen Kräfte und deren weiterer Berechnungen ist das Herunterbrechen des Untersuchungsvorganges auf Ebenen hilfreich.

1. Ebene:

Darstellung der Kraftverhältnisse beim Abfahren des Pins einer Prüfstrecke. Mit einer Frequenz von 1 kHz wurden Messkräfte während des je Zyklus 6,6 Sekunden andauernden Abfahrens registriert. Dabei fielen ca. 3300 Daten pro HINweg oder RÜCKweg an, zusammen also ca. 6600 Werte. Berechnet wurde aus dieser Datenmenge ein Durchschnittswert, der sich auf diesen Teil des Zyklus bezog. Insgesamt sind für den HINweg 1108-mal und für den Rückweg ebenfalls 1108 Durchschnittswerte aus dem vorgenannten Datenkonvolut erfasst worden.

2. Ebene:

Vergleich der einzelnen Durchschnittswerte von 1108 Zyklen für HIN und 1108 Zyklen für RÜCK hinsichtlich eines statistisch signifikanten Unterschiedes. Wie im Ergebnissteil (Abschnitt 3.6.1) nachfolgend ersichtlich, war zu keinem Zeitpunkt ein Unterschied in der Kraft zwischen Hin und Rück zu detektieren. Somit konnte ein Durchschnittswert pro Zyklus zwischen den Werten HIN und RÜCK gebildet werden.

3. Ebene:

Aus den 1108 Durchschnittswerten des Versuchsdurchlaufes wurde ein einzelner Durchschnittswert gebildet, welcher die Durchschnittliche Kraft in N je Versuchsdurchlauf repräsentiert.

Die Höhenabnahme in mm des Knorpelbelages wurde ebenfalls kontinuierlich über den gesamten Versuchszeitraum aufgezeichnet. Dabei wurde der Wert der Höhenabnahme beim initialen Aufsetzen des Pins auf der Plate („Zyklus 0“) mit dem Wert von 0 mm festgelegt. Erst mit dem ersten Zyklus wurde die Höhenabnahme schließlich bestimmt. Hier errechnete sich das Endergebnis aus dem Durchschnittswert von HIN und RÜCK des letzten Zyklus (Zyklusnummer 1108).

2.7 Posttribologische Evaluation der Proben

Um makroskopische Alterationen am Pin und an der Plate, welche durch den tribologischen Versuch bedingt waren, zu dokumentieren, wurden direkt nach jedem Versuch die Proben mit der Canon-Digitalkamera fotografiert (Abb. 21). Dies geschah wiederum auf der Repröstativ-Einheit. Die Fotos wurden ebenfalls zur Dokumentation auf einem Computer gespeichert.

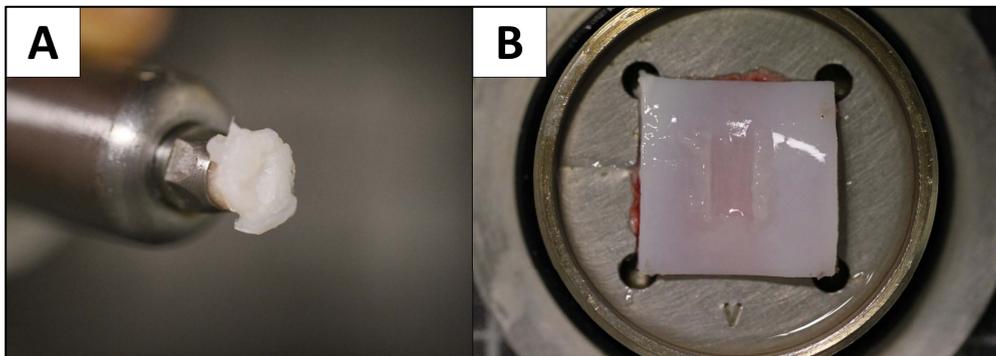


Abbildung 21: Pin A und Plate B mit makroskopisch sichtbaren Alterationen nach einer tribologischen Messung mit 1108 Zyklen

Im Anschluss an die Fotodokumentation, wurden die Proben in 4%iger Formaldehydlösung (J. T. Baker / Avantor Performance Materials, Center Valley, U.S.A.) eingelegt, der Pin in einem 1,5 ml großem Mikroreaktionsgefäß (Firma Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) und die Plate in einem konischen 50 ml Zentrifugenröhrchen (Falcon).

2.8 Herstellung von histologischen Präparaten

2.8.1 Präparation der Proben zur Herstellung von histologischen Schnitten

Mit zunehmendem Volumen der osteochondralen Blöcke steigt die Zeitdauer des Entkalkungsprozesses, welcher für die Herstellung von histologischen Schnitten notwendig ist. Hinzukommend ist es diffizil, eine Plate mit einer Kantenlänge von 20 mm und einer Höhe von ca. 5 mm mit dem Mikrotom zu schneiden. Ferner haben die Biopsie- Einbettkassetten (Fa. R. Langenbrinck Labortechnik, Emmendingen, Deutschland), welche für die Paraffineinbettung zur Histologie benötigt wurden, keine dementsprechende Größe. Aufgrund dieser Tatsache wurde die jeweilige Plate in ihrem Volumen so verkleinert, dass die Zeitdauer des Entkalkens in einem akzeptablen Bereich

lag, eine schnellere Fixierung in Formalin möglich war und problemlos histologische Schnitte angefertigt werden konnten.

Eine Ausrichtung der Schnittebene parallel zur Querachse (bezogen auf den Probenkörper), d.h. in der anatomischen Koronalebene, schien deshalb attraktiv, weil somit auf einem histologischen Schnittbild die Prüfstrecke und die jeweils rechts und links angrenzenden Bereiche für die histologische Kontrolle simultan betrachtet werden konnten. Abbildungen 22 und 23 verdeutlichen dies.

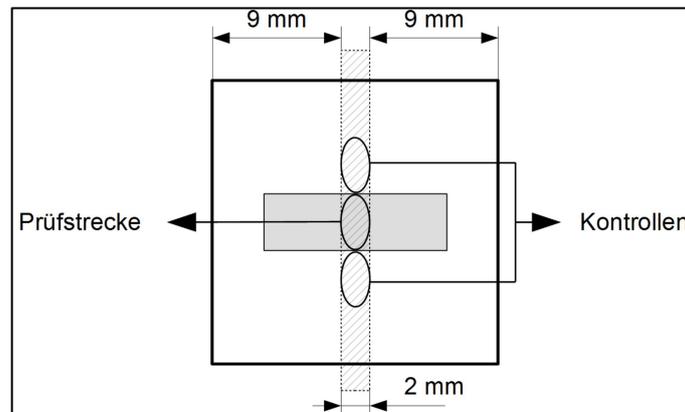


Abbildung 22: Schematische Darstellung der Plate mit Blick von kranial. Die schraffierte Fläche stellt die 2 mm dünne Scheibe dar, welche in einem Abstand von 9 mm von den ventral und dorsal liegenden Kanten abgetrennt wurde. Auf der 5 mm breiten Prüfstrecke befindet sich das Areal zur histologischen Analyse sowie direkt angrenzend lateral und medial daneben das Areal für die histologischen Kontrollen.

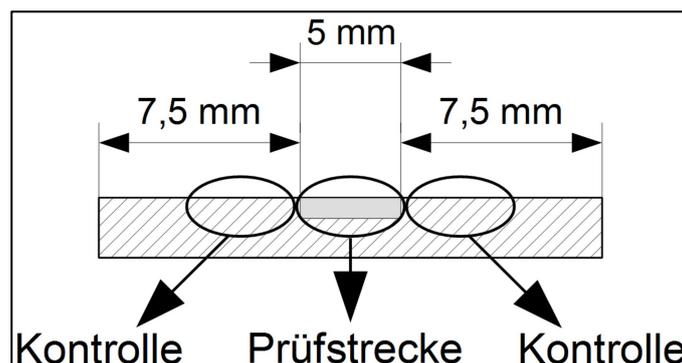


Abbildung 23: Schematische Darstellung des Schnittbildes der Plate mit Blick von frontal auf die koronal verlaufende Schnittebene

Zu diesem Zweck wurden mittig aus der Plate circa 2 mm dünne und über die gesamte Breite der Plate (20 mm) Scheiben mit einem Meißel (FL656, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) und Hammer ausgeschlagen. Hierfür wurde die Plate auf eine Kunststoff-Unterlage gelegt, welche wiederum in einem Schraubstock fixiert war (Abb. 24).

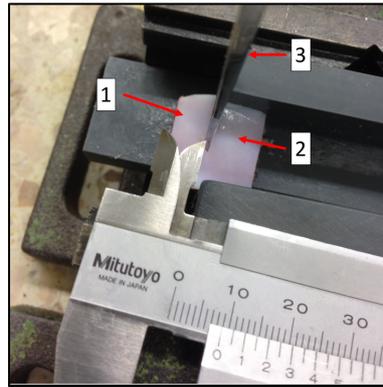


Abbildung 24: Auf dem Mess-Schieber sind die 9 mm Abstand zur ventralen Kante zu erkennen (Nummer 1 auf der Abbildung), an der mit dem Meißel der vordere Part entnommen wurde. Analog wurde 2 mm weiter in Richtung dorsal verfahren (Nummer 2 stellt den dorsalen Anteil der Plate dar). Letztendlich war es so möglich 2 mm dünne Scheiben zu erstellen. Nummer 3 der Abbildung stellt den Meißel dar.

Im Anschluss wurden an der medialen und lateralen Seite Kunststoffstücke angebracht, welche die Plate im Schraubstock während des Abtrennens der Scheiben fixierten. Hierbei war darauf zu achten, dass die beiden Kunststoffstücke nicht in der ganzen Länge der Plate auflagen, sondern nur circa 2 mm über dem Teil der Plate, welcher nicht abgemeißelt werden sollte. Der Grund hierfür war, dass das Abmeißeln und die Mobilisierung des durch die Kunststoffstücke fixierten Teils, welcher nicht für die spätere histomorphometrische Auswertung relevant war, bei fixiertem Schraubstock nicht möglich gewesen wäre.

Mithilfe eines Mess-Schiebers (Serie 530, Mitutoyo Inc., Sakado, Japan) wurden 9 mm Abstand zur ventralen Begrenzung der Plate gemessen (Abb. 24) und dort der Meißel parallel zur Kante angesetzt. Nach Abtrennen des Teils, welcher histologisch nicht relevant war, wurden mit dem Mess-Schieber wiederum 2 mm Abstand zur neuen, ventral liegenden Kante gemessen und dort ebenfalls mittels des Meißels die 2 mm dünne Scheibe abgetrennt. Das somit mobilisierte 2 mm dünne Scheibchen konnte nun für den Zweck der Entkalkung in ein 2 ml großes, mit 4%iger Formaldehydlösung gefülltes Mikroreaktionsgefäß zwecks Fixierung verbracht werden.

Die Pins waren mit einem Durchmesser von 5 mm genügend klein, um ein Entkalken für die histologische Evaluation in angemessenem Zeitrahmen zu ermöglichen und bedurften somit keiner weiteren Behandlung. Analog zu den Plate-Scheiben wurden die Pins bis zur Entkalkung in ein 2 ml großes, mit 4%iger Formaldehydlösung gefülltes Mikroreaktionsgefäß untergebracht.

2.8.2 Entkalken der Proben

Um Schnitte von knochenhaltigen Gewebeproben mit einem Mikrotom anfertigen zu können, müssen diese vor der Paraffineinbettung und vor dem anschließenden Schneiden entkalkt werden. Hierfür wurde die Formaldehydlösung in den Probenbehältern mit destilliertem Wasser ausgetauscht. Dies geschah jeden dritten Tag über einen Zeitraum von insgesamt neun Tage, damit sichergestellt war, dass so wenig Formaldehydlösung wie möglich in dem biologischen Gerüst der Proben verblieb.

Für die Herstellung von zwei Litern Entkalkifizierungslösung wurden an Reagenzien benötigt:

- 200 g Titriplex®³
- 50 ml NaOH 40%
- 2000 ml destilliertes Wasser

In einem 1000 ml Kolbengefäß (DURAN Group GmbH, Mainz, Deutschland) wurden die 200 g Titriplex® (Merck, Darmstadt, Deutschland) gegeben und in 200 ml destilliertem Wasser unter Erwärmung gelöst. Im weiteren Verlauf, unter Rühren, wurden 50 ml NaOH 40% zugesetzt und das destillierte Wasser auf 800 ml aufgefüllt. Abschließend wurde ein pH-Wert von 7,4 unter Zugabe von NaOH 40% eingestellt und die Entkalkifizierungslösung mit Hilfe von destilliertem Wasser in einer Glasflasche auf 2000 ml aufgefüllt.

Die anschließend in die probenenthaltenden Mikroreaktionsgefäße gegebene Entkalkifizierungslösung wurde jeden dritten Tag neu ausgetauscht, damit die Proben fortwährend von unverbrauchter, frischer Lösung umgeben waren. Mit einer Nadelprobe, bei der die Härte und somit die Schneidbarkeit der Proben eruiert wurden, war es möglich den richtigen Zeitpunkt zur weiteren Aufbereitung zu bestimmen. Als Nadel diente eine im Krankenhausgebrauch übliche grüne Kanüle mit einem Durchmesser von 0,8 mm (B. Braun Melsungen AG, Mesungen, Deutschland).

Nach drei Wochen war der Entkalkungsprozess bei allen Proben zufriedenstellend vorangeschritten, so dass die Proben dem weiteren Procedere zugeführt werden konnten. Hierzu wurden die Proben, um die Entkalkungslösung zu entfernen, nochmals mit destilliertem Wasser behandelt und zur Vorbereitung für den Prozess im Autotechnikon in 4%ige Formaldehydlösung verbracht.

2.8.3 Herstellung der histologischen Schnitte

Um wenige µm dünne, gleichmäßige histologische Schnitte herstellen zu können, ist die Einbettung der Proben in Paraffin notwendig (Zellblockpräparate). Hierfür wurde ein Eindeckautomat (Gewebeinfiltrationsautomat TP1020, Leica, Wetzlar, Deutschland) verwendet, welcher die als Fixativ benutzte Formaldehydlösung und Gewebewasser durch Paraffin ersetzte. Der genaue Prozess verlief wie folgt ab: 10% Formaldehydlösung zweimalig jeweils 90 Minuten, Ethanol 70%, 80%, 96% jeweils 90 Minuten, Ethanol 100% zweimalig mit 90 Minuten, Xylol zweimalig 90 Minuten, dreimalig Paraffin 90 Minuten.

Im Anschluss an den Eindeckprozess wurden die paraffindurchtränkten Proben in einen ebenfalls aus Paraffin bestehenden Block eingegossen. Die Proben wurden hierfür aus den Einbettkassetten entnommen, in ein Gießschälchen gelegt und anschließend in einer Paraffineingießstation (EG1140C, Leica, Nußloch, Deutschland) mit 65°C heißem Paraffin übergossen. Die mit der Probennummer beschriftete Einbett-

³ Titriplex ® ist der Handelsname für Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)

kassette bildete den Blockträger, der später am Schnellspannrahmen des Rotationsmikrotoms⁴ (RM2165, Leica) befestigt wurde. Nach Aushärten durch Abkühlen des Paraffins wurden die Blöcke aus den Gießschälchen entfernt.

Auf einer Kühlplatte wurden die Blöcke vor der Anfertigung von Schnitten heruntergekühlt, da damit die Schneideeigenschaften verbessert werden konnten. Nach Einspannen der Blöcke ließen sich 5 µm dünne Schnitte erzeugen, welche auf der Klinge des Mikrotoms zum Liegen kamen. Mit einem angefeuchteten Pinsel wurden diese angehoben und in ein Heißwasserbad (ca. 50 °C) gelegt, damit die Oberfläche gestreckt wurde, um plan auf einem Objektträger (SuperFrost® Plus Objektträger, R. Langenbrinck Labortechnik, Emmendingen, Deutschland) aufgezogen werden zu können. Hierfür wurde der Objektträger schräg in einem Winkel von ca. 45° in das Wasserbad unter den auf der Oberfläche schwimmenden Schnitt getaucht. Durch Herausziehen des Trägers wurde der histologische Schnitt auf den Objektträger aufgezogen. Um eine optimales Trocknen und Anhaften der Schnitte an den Objektträger zu gewährleisten, wurden diese über einen Zeitraum von zwölf Stunden in einem Wärmeschrank (FD 53 WTB, Binder, Tuttlingen, Deutschland) bei 37 °C aufbewahrt.

Während der weiteren Aufbereitung der Schnitte bestand die Gefahr, dass Proben aus verschiedenen Gründen hätten destruiert werden können. Aus diesem Grund wurden von jeder Probe mindestens sechs Schnitte angefertigt. Insgesamt wurde somit eine Gesamtanzahl von über 1100 histologischer Schnitte hergestellt (Tab. 4).

Je einzelner Pin	Je einzelner Pin - Kontrolle	Je einzelner Plate	Gesamtanzahl je einzelner Kompartiment	Gesamtanzahl je Kniegelenk	Gesamtanzahl für 31 Kniegelenke
6	6	6	18	ca. 36	ca. 1152

Tabelle 4: Anzahl der histologischen Schnitte

2.8.4 Herstellung der Färbelösungen

Die getrockneten Schnitte konnten nun dem Prozess der Färbung zugeführt werden. Als geeignete Färbemethode wurde sich für eine Toluidinblau-Färbung in Verknüpfung mit Fast-Green als Gegenfärbung gemäß Protokoll entschieden. Diese Färbemethode entspricht einer Modifikation der Prozedur nach Getzy et al. [247]. Der Vorteil dieser Methode ist im Vergleich zu anderen Färbungen seine bessere Reproduzierbarkeit sowie eine überlegene quantitative Auswertbarkeit der Ergebnisse [248, 249]. Der basische Toluidinblau-Farbstoff interagiert spezifisch an negativ geladenen Teilchen und lässt diese in der Farbe blau/violett zur Geltung kommen. Auf den Knorpelbelag bezogen nutzt man die Basophilie der in der Knorpelsubstanz enthaltenen Chondroitinschwefelsäure mit ihren sauren Glykosamino-Sulfatgruppen, an die sich der Farbstoff gut bindet [250]. Die Nuclei wurden dunkelblau, die Knorpelsubstanz blau bis violett und der Hintergrund durch den Fastgreen-Farbstoff grünlich dargestellt (Abb. 25).

⁴ Bei einem Rotationsmikrotom handelt es sich um ein manuelles, durch ein Schwungrad angetriebenes System, bei dem die Schnittbewegungen durch die Probe (Auf- und Abwärtsbewegungen des Probenhalters) an sich ausgeführt wird. Die horizontal positionierte Klinge drückt sich durch Abwärtsbewegung des Probenhalters auf die Probe und der histologische Schnitt kommt letztendlich auf der Klinge zum Liegen.

Zur Herstellung der Färbungen wurde an Reagenzien benötigt:

für 0,1M Natriumacetat Puffer:

13.6 g Natriumacetat, wasserfrei (CAS#127-09-3)
1 Liter destilliertes Wasser

Mit einem Magnetrührer wurde die vollständige Auflösung des Natriumacetats bewirkt und mit Hilfe von Essigsäure bis zu einem pH von 4 titriert.

Für 0,4% Toluidinblau-Lösung:

0,4 g Toluidinblau 0 (CAS# 92-31-9)
100 ml des 0,1M Natriumacetat Puffers

Ebenfalls wurde mit einem Magnetrührer bis zur vollständigen Auflösung umgerührt.

Für 0,02% Fast-Green

0,4 g Fast-Green (Merck, Darmstadt, Deutschland) FCF (CAS# 2353-45-9)
250 ml destilliertes Wasser

Ebenfalls wurde mit einem Magnetrührer bis zu vollständigen Auflösung umgerührt.

2.8.5 Entparaffinierung

Für das Entparaffinieren sowie Färben der Schnitte wurden die Deckgläser (mit den sich darauf befindlichen Schnitten) in speziell dafür vorgesehene Färbekästen sortiert. Um die Schnitte von ihrem Paraffinmantel zu befreien, wurden sie hintereinander in zwei Xylolbäder (J. T. Baker / Avantor Performance Materials, Center Valley, U.S.A) gebadet. Das im Anschluss stattfindende Waschen in einer prozentual absteigenden Ethanolreihe diente dem Zweck, das Xylol durch Ethanol zu ersetzen. Xylolreste an den Schnitten hätten andernfalls mit dem im späteren Verlauf benötigtem destilliertem Wasser reagiert und zu einem fehlerhaften Färbeergebnis geführt. In einem Aquadest-Bad am Schluss wurde das Ethanol von den Schnitten entfernt. Die nachfolgende Tabelle 5 spiegelt die Zusammenfassung dieses Prozesses wieder.

Xylol 1	Xylol 2	Ethanol 100%	Ethanol 90%	Ethanol 80%	Ethanol 70%	H ₂ O
10 Minuten	10 Minuten	5 Minuten	5 Minuten	5 Minuten	5 Minuten	5 Sekunden

Tabelle 5: Schritte der Entparaffinierung und des Auswaschens von Xylol

2.8.6 Färben der Schnitte

Im Verlauf der nächsten Arbeitsschritte wurden die Färbekästen in die Toluidinblau- und Fast-Green Lösungen getaucht. Überschüssige Färbelösung wurde in drei Aquadest-Bäder zwischen diesen beiden Arbeitsschritten entfernt. Zur Verhinderung von

Auswaschprozessen wurden die Schnitte zur Dehydrierung in je zwei prozentual aufsteigenden Ethanolbäder gegeben. Zwei Xylolbäder zum Schluss entfernten überschüssige Lösungen. Die nachfolgende Tabelle 6 spiegelt die Zusammenfassung dieses Prozesses wieder.

Toluidinblau	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O	Fast-Green	H ₂ O	H ₂ O
10 Minuten	30 Sekunden	30 Sekunden	30 Sekunden	3 Minuten	30 Sekunden	30 Sekunden
95% Ethanol	95% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	Xylol	Xylol	
30 Sekunden	30 Sekunden	30 Sekunden	30 Sekunden	10 Minuten	10 Minuten	

Tabelle 6: Schritte des Färbungsprozesses

Die Konservierung der Schnitte wurde durch das luftblasenfreie Auflegen eines Deckglases (R. Langenbrinck) und mit dem Eindeckmedium EUKITT® (O. Kindler GmbH, Freiburg, Deutschland) erreicht. Die histologischen Schnitte konnten nach einer zwölfstündigen Trocknungsphase unter dem Mikroskop betrachtet und gemäß dem Scoring bewertet werden.

2.9 Histologische Evaluation der Präparate

2.9.1 Die verwendete Durchlichttechnik

Unter Verwendung eines Lichtmikroskopes (DMRE, Leica, Wetzlar, Deutschland) wurden die histologischen Schnitte ausgewertet. Eine auf dem Mikroskop montierte Farbkamera (DFC 300 FX, Leica, Wetzlar, Deutschland) war durch eine FireWire-Schnittstelle mit einem Analyse-Computer (DELL, Frankfurt, Deutschland) mit Bildschirm (DELL) verbunden, auf dem die histologischen Schnitte vergrößert betrachtet werden konnten. Auf diesem war das Analyseprogramm (QWin Standard, Leica) installiert, so dass repräsentative Bilder in digitaler Form für die Auswertung erstellt werden konnten. Die Speicherung dieser Bilder, beziehungsweise deren Mosaikaufnahmen, erfolgte durch das Programm QGo (Leica).

2.9.2 Graduierung anhand des C. B. Little et al. – Scores

Gleichartig wie für die radiologische sowie makroskopische Evaluation von Arthrose, existieren für deren mikroskopische Klassifikation ebenfalls verschiedene Graduierungssysteme. Der histomorphometrische, quantitative Score, welcher in dieser Dissertation für die Graduierung von osteoarthrotischen Veränderungen herangezogen wurde, bezieht sich auf den 2010 veröffentlichten Score wie ihn C.B. Little et al. vorgeschlagen haben [251]. Dieser ist mit einfach zu berechnenden, arithmetischen Werten auswertbar.

Das Graduierungssystem unterscheidet Veränderungen ausgehend von einem Punktwert der zwischen 0 (Normalbefund ohne Pathologie) und maximal 25 (Endstadium der Arthrose) liegt. Der Punktwert setzt sich aus fünf verschiedenen zu beurteilenden Parametern zusammen. Konkret sind das folgende:

- Oberflächenstruktur
Hier wird das am stärksten affektierte Areal im Sichtfeld beurteilt; der zu vergebende Punktwert liegt zwischen 0 und 10.
- Dichte der Chondrozyten
Hier wird ein Näherungswert im gesamten Sichtfeld beurteilt; der zu vergebende Punktwert liegt zwischen 0 und 4.
- Zellklonierung
Hier wird das ganze gesamte Sichtfeld beurteilt; der zu vergebende Punktwert liegt zwischen 0 und 4
- Farbintensität des Toluidinblaus
Hier wird das am stärksten affektierte Areal im Sichtfeld beurteilt; der zu vergebende Punktwert liegt zwischen 0 und 4.
- Grenzlinie/kalzifizierter Knorpel/subchondraler Knochen
Hier wird das am stärksten affektierte Areal im Sichtfeld beurteilt; zu vergebender Punktwert liegt zwischen 0 und 3.

Zur Graduierung wurden diejenigen Schnitte ausgewählt, welche keine oder möglichst wenig Artefakte (bspw. eingeschlossene Luftblasen, Aufwellen des Schnittes etc.) aufwiesen. Die Bilder wurden auf einem Computer (MacBook Pro, Apple) gespeichert und die Ergebnisse der Auswertung in eine Excel-Tabelle (Microsoft, Redmond, U.S.A) übernommen.

Das sukzessive Vorgehen ist anhand eines repräsentativen Beispiels (Probe 1983 D) auf der nachfolgenden Abbildung 25 dargestellt: Primär wird der Übergang Reibfläche/Kontrollbereich aufgesucht. Anschaulich auf der Abbildung 25 A ist dies durch die roten Pfeile 1 (Prüfstrecke) und 2 (Kontrollbereich) bezeichnet. Abbildung 25 B ist eine Detailansicht aus A. Der Pfeil 3 auf der Abbildung C (wiederum Detailansicht aus B, welcher ausschließlich die Reibbahn zeigt) kennzeichnet tiefe Erosionen, die bis zum kalzifizierten Knochen reichen. Hier wurde ein Parameter-Punktwert, die Oberflächenstruktur der Reibbahn beschreibend, von neun Punkten vergeben. Die Tidemark (Pfeil 4) sowie die Existenz von Blutgefäßen (Pfeil 5) wurden ebenfalls mitbewertet. In diesem Fall ohne Pathologie (0 Punkte). Auf der Abbildung D, welche ausschließlich den Kontrollbereich seitlich der Reibbahn zeigt, sind leichte Oberflächenanrauhungen (Pfeil 7, Punktwert von eins) sowie eine leichte Abnahme der Farbintensität des Toluidinblaus erkennbar (Klammer 6, Punktwert von eins). Ein leichter Anstieg der Chondrozytendichte (Pfeil 8) ist auf der Abbildung E zu erkennen und wurde daher mit einem Punktwert von eins versehen. Zusammenfassend resultiert daraus für die Probe 1983 D eine Summe von insgesamt 9 Punkten für die Prüfstrecke sowie 3 Punkte für den Kontrollbereich.

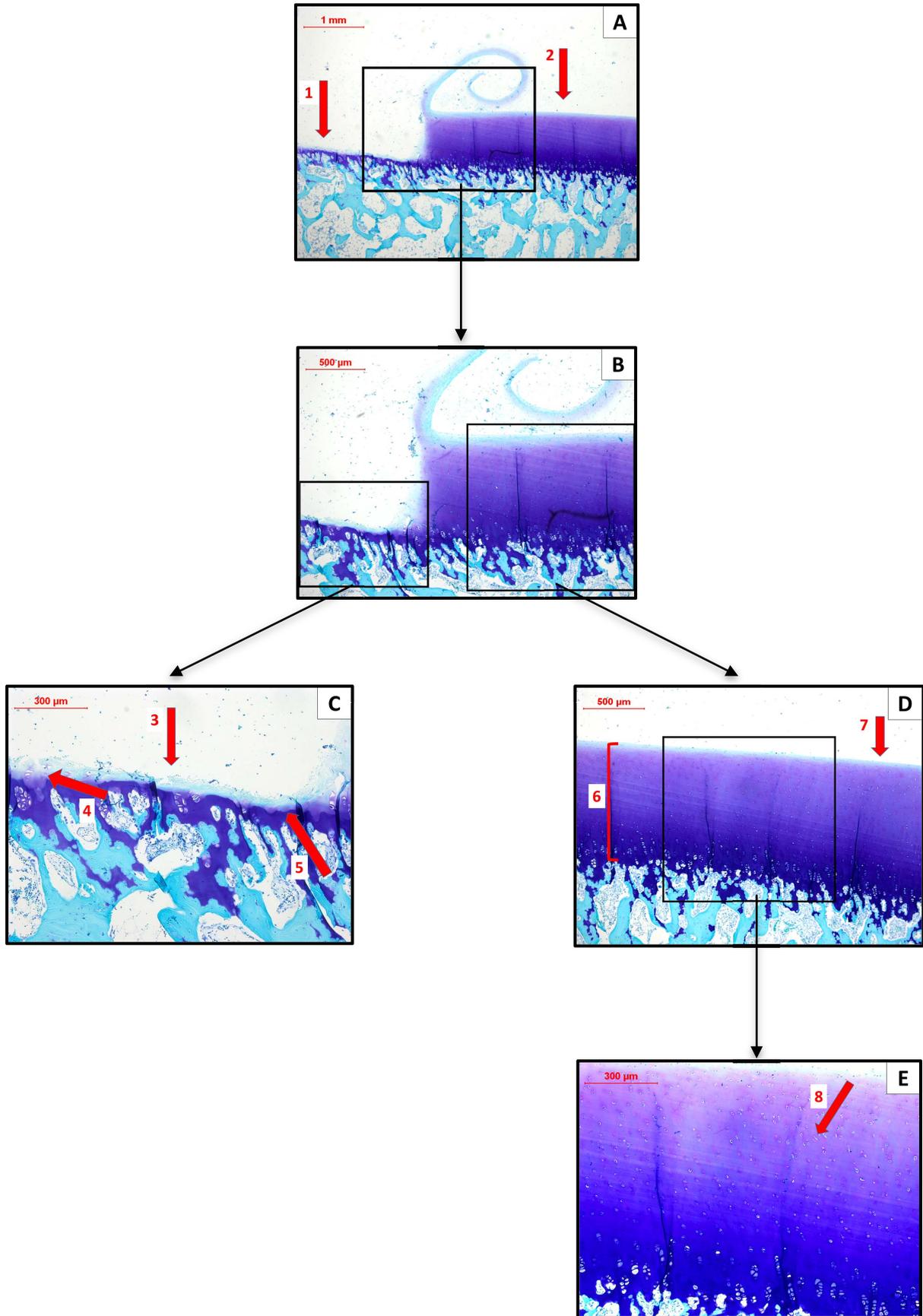


Abbildung 25: Sukzessives Vorgehen bei der histologischen Graduierung anhand der Probe 1983 D. Toluidinblau-Färbung. Mit Pfeilen gekennzeichnet sind Graduierungsparameter für den Kontrollbereich (Detailansicht D) sowie die Prüfstrecke (Detailansicht C). Detaillierte Beschreibung siehe Text.

2.9.3 Graduierung anhand des eigenen, adaptierten Little et al. Scores

Zur Evaluation des Effekts, welcher monokausal der tribologischen Belastung zuzuschreiben war und nicht den degenerativen Prozessen einer Osteoarthrose, wurde der Little et al. Score adaptiert. Bezüglich der Gründe wird an dieser Stelle auf den Abschnitt 4.1.6 in der Diskussion verwiesen. Dieser adaptierte Score bewertet exklusiv die Oberflächenstruktur des Knorpelbelages und bezieht andere Parameter wie beispielsweise Zellzahl oder die Färbungsintensität nicht mit ein. Somit besteht er ausschließlich aus der Subkategorie „Structure“ des Little et al.-Scores [251] (Abschnitt 2.9.2) und vergibt einen Punktwert zwischen 0 und maximal 10.

2.10 Statistische Auswertung

Die Darstellung der deskriptiven statistischen Ergebnisse der röntgenologischen Begutachtung sowie der makro- und mikroskopischen Evaluation erfolgte mit Excel 2003 (Microsoft), anschließend in Origin 8.1G (OriginLab Corporation, Northhampton, USA) und letztendlich deren Berechnung und statistische Analyse anhand des Programms SAS, Version 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, USA)

Zur Detektion eines signifikanten Unterschiedes zwischen den Ergebnissen (bspw. ALT – JUNG; medial – lateral) wurde sich eines U-Tests (Wilcoxon-Mann-Whitney-Test) für unverbundene Stichproben bedient. Zur Untersuchung eines statistisch signifikanten Unterschiedes zwischen den Höhenabnahmen in mm sowie Unterschiede in den Kräften in N diente ein T-Test für unverbundene Stichproben. Die Angaben der Scores wurden als Mittelwert (M) \pm Standardabweichung (SD) angegeben.

Da die verschiedenen Scores ordinal-skalierten Daten entsprechen, wurde für die Korrelationsanalyse die Methode nach Spearman angewendet. Es konnte hiermit ein Zusammenhang zwischen der Variable der Höhenabnahme und den Variablen Röntgen-Score, ICRS-Score prä- sowie posttribologisch, Little-Score prä- sowie posttribologisch und dem adaptierten Little-Score prä- sowie posttribologisch untersucht werden. Für die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Variable der Höhenabnahme und der Variable der Kraft wurde sich einer Korrelationsanalyse nach Pearson bedient, da es sich hierbei um intervallskalierte Daten handelte.

Mit Hilfe einer Varianzanalyse (ANOVA) wurde ein Einfluss der verschiedenen Scores auf die Höhenabnahme untersucht. Die abhängige Variablen stellte hierbei die Höhenabnahme dar, die unabhängigen Variablen waren die Kraft in N, Little-Scores der Pins (Kontrolle = prätribologisch), Little-Scores der Plates (Kontrolle), adaptierte Little-Scores der Pins (Kontrolle), adaptierte Little-Scores der Plates (Kontrolle), Kraft in Verbindung mit Little-Scores Pins sowie Kraft in Verbindung mit Little-Scores Plates.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ (signifikant) festgelegt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Röntgenologische Evaluation der Kniegelenke

Die Auswertung der Röntgenbilder erfolgte im anterior-posterior sowie im seitlichen Strahlengang. In der Gruppe ALT (Abb. 26) zeigten die Aufnahmen zum Teil Entrundungen, Osteophyten, Zysten und Sklerosierungen. In der Gruppe JUNG (Abb. 27) konnten keine bis kaum osteoarthrotisch-typische Röntgenmerkmale erhoben werden.



Abbildung 26: Altes Kniegelenk in a.p.-Projektion in Bild A sowie seitlich in Bild B. Auf Bild A in der lateralen Kondyle große subchondrale Zyste (Pfeile 1). Osteophytäre Anbauten am medialen Femurkondylus (Pfeil 2) bzw. an lateraler Tibia (Pfeil 3). Diese sind ebenfalls in Bild B am kaudalen Patellapol sowie proximaler Trochlea erkennbar. Mit Sternen gekennzeichnet ist eine Verschattung des subchondralen Knochens im Sinne einer Sklerosierung.



Abbildung 27: Junges Kniegelenk. A.p.-Projektion in Bild A beziehungsweise seitlicher Strahlengang in Bild B. Mit Pfeilen markiert sind die noch nicht verschlossenen Epiphysenfugen - ein Merkmal der Kniegelenke Gruppe JUNG. Osteoarthrose-typische Pathologien sind nicht zu erkennen.

3.1.1 Röntgenologische Evaluation der Gruppe Kniegelenke ALT

Es wurden Röntgenbilder von 31 Kniegelenken angefertigt. 15 dieser Kniegelenke entstammten von alten Schweinen und 16 von jungen. Die nachfolgende Tabelle 7 zeigt die Ergebnisse der röntgenologischen Evaluation der alten Kniegelenke:

Schweine-Nummer	Alter: jung/alt	Seite: links / rechts	Seite: medial / lateral	Score des Kompartiments	Score des gesamten Kniegelenks
1904	alt	links	lateral	0	0
			medial	0	
1907	alt	rechts	lateral	1	1
			medial	1	
1908	alt	rechts	lateral	3	3
			medial	2	
1909	alt	links	lateral	1	1
			medial	0	
1926	alt	rechts	lateral	0	1
			medial	1	
1927	alt	links	lateral	2	3
			medial	3	
1985	alt	rechts	lateral	2	3
			medial	3	
1986	alt	links	lateral	0	1
			medial	1	
2005	alt	links	lateral	1	1
			medial	1	
2007	alt	rechts	lateral	1	2
			medial	2	
2011	alt	rechts	lateral	1	2
			medial	2	
2012	alt	rechts	lateral	2	3
			medial	3	
2020	alt	rechts	lateral	2	3
			medial	3	
2063	alt	rechts	lateral	2	2
			medial	1	
2064	alt	links	lateral	2	2
			medial	1	

Tabelle 7: Röntgenscores nach Kellgren&Lawrence [180] Gruppe ALT

In der Gruppe der alten Kniegelenke konnte ein Röntgen-Score nach Kellgren und Lawrence [180] von durchschnittlich $M = 1.87$ ($SD = 0,99$) ermittelt werden. Der Median betrug 2,00.

Die nachfolgende Tabelle 8 gibt einen Überblick über die deskriptive Statistik der Kniegelenke Alt -Gruppe.

Röntgen-Score ALT nach K&L					
N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
15	0.00	2.00	1.87	3.00	0.99

Tabelle 8: deskriptive Statistik des Röntgen-Scores Gruppe ALT

Anhand der Häufigkeitsverteilung (Abb. 28) ist ersichtlich, dass mit Ausnahme eines einzelnen radiologisch arthrosefreien Kniegelenkes allen anderen mindestens ein Score-Punkt zugeordnet wurde.

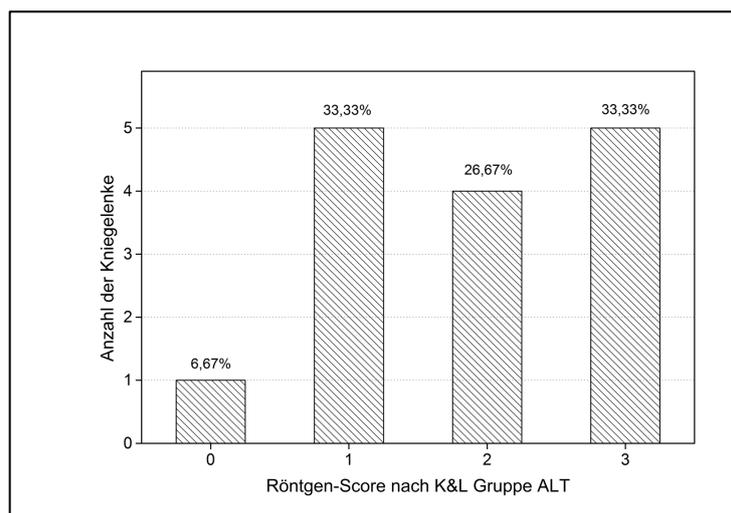


Abbildung 28: Häufigkeitsverteilung der Score-Vergabe Gruppe ALT

Dies wird ebenfalls bei der Betrachtung der prozentualen Verteilung ersichtlich, denn fast jedem (93%) der Kniegelenke wurde ein pathologischer Wert zugewiesen und lediglich in einem (6%) konnte keine Pathologie radiologisch nachgewiesen werden.

Unter radiologischen Gesichtspunkten kann davon ausgegangen werden, dass die vom örtlichen Schlachthof bezogenen alten Kniegelenke arthrotische Alterationen zeigten.

3.1.2 Röntgenologische Evaluation der Gruppe Kniegelenke JUNG

Die Ergebnisse der Gruppe Kniegelenke JUNG (Tab. 9).

Schweine- Nummer	Alter: jung / alt	Seite: links / rechts	Seite: me- dial / lateral	Score des Komparti- ments	Score des ge- samten Kniege- lenks
1902	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
1906	jung	links	lateral	0	0
			medial	0	
1967	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
1982	jung	links	lateral	0	0
			medial	0	
1983	jung	links	lateral	0	0
			medial	0	
1984	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
1987	jung	links	lateral	0	0
			medial	0	
1988	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
1996	jung	links	lateral	0	0
			medial	0	
1997	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
2006	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
2065	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
2066	jung	rechts	lateral	0	1
			medial	1	
2067	jung	links	lateral	0	2
			medial	2	
2068	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	
2069	jung	rechts	lateral	0	0
			medial	0	

Tabelle 9: Röntgenscores nach K&L [180] Gruppe JUNG

Die Gruppe der jungen Kniegelenke zeichnete sich durch das Fehlen fast jeglicher röntgenologischer Merkmale für Osteoarthritis aus ($M = 0,19$, $SD = 0,54$). Auch hier ähneln sich Median und Mittelwert, unter anderem ersichtlich in der deskriptiven Statistik-Tabelle 10 der Kniegelenke der JUNG – Gruppe.

Röntgen-Score JUNG nach K&L					
N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Std.abweichung
16	0.00	0.00	0.19	2.00	0.54

Tabelle 10: Deskriptive Statistik der Gruppe JUNG

Anhand der graphischen Darstellung des Histogramms (Abb. 29) ist zu erkennen, dass der überwiegende Teil (ca. 88%) der jungen Kniegelenke ein Scorewert von 0 zugeteilt wurde und lediglich jeweils ein Kniegelenk (jeweils 6%) mit einem Wert von 1 beziehungsweise 2 bemessen wurde.

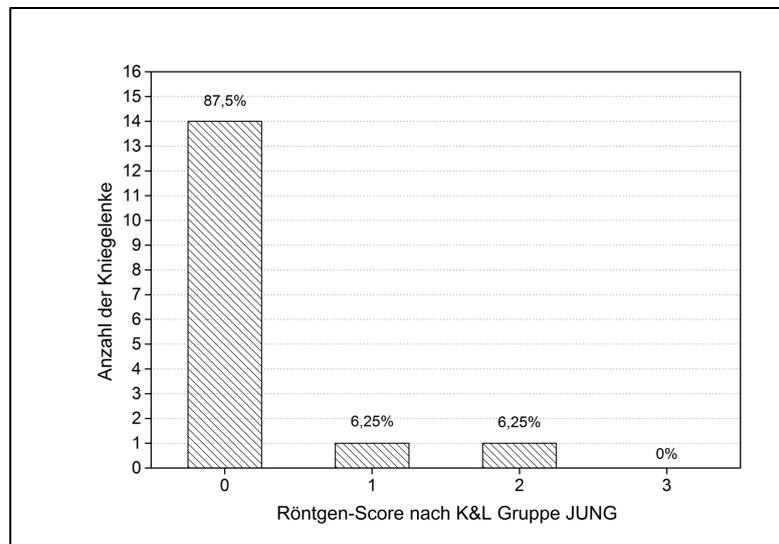


Abbildung 29: Häufigkeitsverteilung der Scorevergabe Gruppe JUNG

Analog zu den alten Kniegelenken kann unter radiologischen Gesichtspunkten daher davon ausgegangen werden, dass die vom örtlichen Schlachthof bezogenen jungen Kniegelenke kaum beziehungsweise keine Osteoarthritis zeigten.

3.1.3 Vergleich der beiden Gruppen Kniegelenke JUNG und ALT

Die Überprüfung der Signifikanz ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen Kniegelenke ALT gegen Kniegelenke JUNG ($z = 4,28$, $p = 0,0002$). Somit gibt es einen eindeutigen röntgenologischen Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Tab. 26). Dieser beträgt auf die Mittelwerte bezogen 1,68 Score-Punkte nach Kellgren und Lawrence.

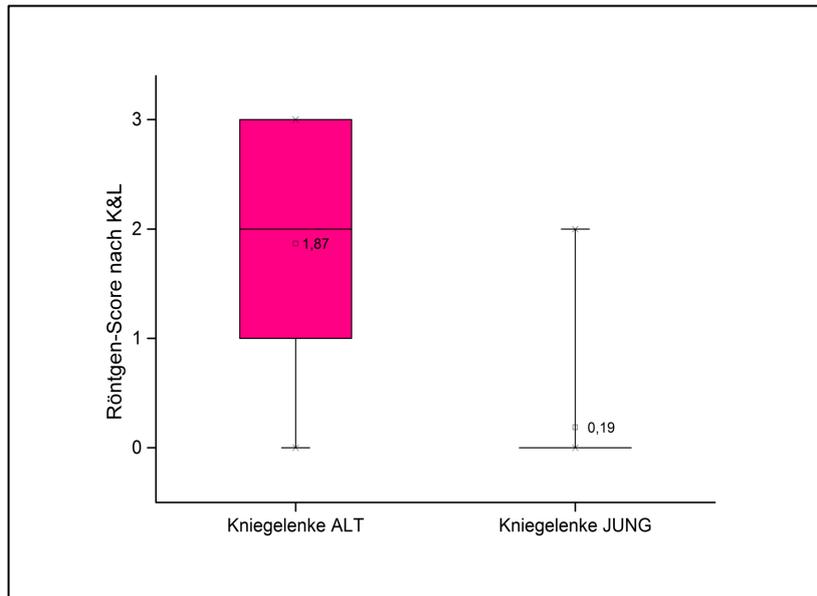


Abbildung 30: Vergleich der Röntgenscores der alten und jungen Kniegelenke. Die horizontal verlaufende Linie der Boxplots kennzeichnet den Median, ein kleines Quadrat stellt den Durchschnittswert dar. Das Minimum bzw. Maximum wurden durch die unterste bzw. oberste Linie gekennzeichnet. Das 25% bzw. 75% Quartil in der Gruppe ALT wurde durch das untere bzw. obere Ende der Box gekennzeichnet. Aufgrund der geringen Streuung in der Gruppe JUNG ist die Box in dieser Gruppe auf den Röntgen-Scorewert von 0 beschränkt.

3.2 Makroskopische Evaluation der Knorpeloberflächen anhand des numerisch adaptierten ICRS-Scores

Die Knorpeloberflächen wurden makroskopisch, wie im Material- und Methodenteil beschrieben, anhand des numerisch adaptierten ICRS-Scores untersucht. Hieraus ergaben sich die in den folgenden Abschnitten ersichtlichen statistischen Maßzahlen, welche für die verschiedenen Gruppen erhoben wurden: beispielsweise Gruppe „Knorpeloberflächen gesamt Knie ALT / JUNG“ oder „Knorpeloberfläche tibial ALT / JUNG“ etc. Zum besseren Verständnis der Probenbezeichnungen (A, B, C, D) wird auf die Abbildung 15 verwiesen.

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse der makroskopischen Evaluation, aufgeteilt in ihre jeweiligen Gruppen, tabellarisch aufgeführt.

<u>numerisch adaptierter ICRS-Score</u>		<u>PRÄ-tribologisch</u> (M ± SD; Min - Max)	<u>POST-tribologisch</u> (M ± SD; Min - Max)
gesamt JUNG	(n = 64)	0,23 ± 0,44 ; 0 - 1,5	1,99 ± 1,4 ; 0 - 4,5
gesamt ALT	(n = 60)	1,69 ± 0,77 ; 0 - 4	2,41 ± 0,9 ; 1 - 4
medial JUNG	(n = 32)	0,3 ± 0,49 ; 0 - 1,5	1,78 ± 1,35 ; 0 - 4
medial ALT	(n = 30)	1,97 ± 0,91 ; 0 - 4	2,73 ± 0,91 ; 1,5 - 4
lateral JUNG	(n = 32)	0,16 ± 0,37 ; 0 - 1	2,2 ± 1,44 ; 0 - 4,5
lateral ALT	(n = 30)	1,42 ± 0,47 ; 0 - 2	2,08 ± 0,78 ; 1 - 3,25
femoral JUNG	(n = 32)	0 ± 0, 0 - 0	0,84 ± 0,87 ; 0 - 3
femoral ALT	(n = 30)	1,8 ± 1,01 ; 0 - 4	2,37 ± 0,91 ; 1,25 - 4
tibial JUNG	(n = 32)	0,45 ± 0,53 ; 0 - 1,5	3,14 ± 0,72 ; 1,5 - 4,5
tibial ALT	(n = 30)	1,58 ± 0,41 ; 1 - 2	2,45 ± 0,9 ; 1 - 4
gesamt links JUNG	(n = 24)	0,21 ± 0,41; 0 - 1	1,79 ± 1,42 ; 0 - 4
gesamt rechts JUNG	(n = 40)	0,24 ± 0,45 ; 0 - 1,5	2,11 ± 1,36 ; 0 - 4,5
gesamt links ALT	(n = 28)	1,53 ± 0,84 ; 0 - 4	2,27 ± 0,86 ; 1 - 4
gesamt rechts ALT	(n = 32)	1,84 ± 0,67 ; 1 - 3,5	2,53 ± 0,91 ; 1 - 4

Tabelle 11: Ergebnisse der makroskopischen Evaluation anhand des numerisch adaptierten ICRS-Scores. PRÄ-tribologisch (vor der tribologischen Testung) beziehungsweise POST-tribologisch (nach der tribologischen Testung). M = arithmetisches Mittel, SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum.

3.2.1 PRÄ- tribologische Evaluation aller Kniegelenke der Gruppen ALT und JUNG

Der Knorpelbelag der alten Kniegelenke vor der tribologischen Testung zeichnete sich durch eine makroskopisch gering bis mittelstark ausgeprägte Osteoarthrose aus ($M = 1,69$, $SD = 0,77$). Auffallend war in dieser Gruppe, dass nahezu alle Abstufungen innerhalb des Scores vorhanden waren, nämlich von 0,0 – 4,0.

Prä-tribologisch konnten den jungen Kniegelenken kaum makroskopische Alterationen hinsichtlich Osteoarthritis zugeordnet werden ($M = 0,23$, $SD = 0,44$).

In dieser Gruppe fiel im Vergleich zu den alten Kniegelenken die geringere Streuung (Min. 0,00 - Max. 1,50) bei einem Median von 0 auf. Die Knorpeloberflächen wiesen in dieser Gruppe keine oder nur geringfügige Alterationen auf.

Im Ergebnis wird deutlich, dass die vom örtlichen Schlachthof bezogenen jungen Kniegelenke keine bzw. kaum und die alten Kniegelenke geringe bis mittelstarke makroskopische Zeichen einer Osteoarthritis aufwiesen.

3.2.2 POST-tribologische Evaluation aller Kniegelenke in den Gruppen ALT und JUNG

Die Knorpeloberflächen der alten Kniegelenke nach der tribologischen Belastung zeichneten sich durch einen erhöhten ICRS-Wert aus ($M = 2,41$, $SD = 0,9$) als vor der Belastung (Abb. 32). Auch hier ist nahezu die gesamte Bandbreite des adaptierten ICRS-Scores abgebildet (1 - 4,0). Das prä-tribologische Minimum von 0 ist in dieser Gruppe post-tribologisch hingegen nicht mehr vorhanden (nur ein Minimum-Wert von 1), so dass davon ausgegangen werden kann, dass die tribologische Testung bei makroskopisch ursprünglich unauffälligen alten Knorpeloberflächen in jedem Fall Alterationen hinterlässt.

Bei der Analyse des Knorpelbelags der jungen Kniegelenke konnte post-tribologisch ebenfalls ein erhöhter Score nachgewiesen werden ($M = 1,99$, $SD = 1,4$) (Abb. 31). In dieser Gruppe tritt das gesamte Spektrum der Werte auf (0 - 4,5).

3.2.3 Vergleich aller Knorpeloberflächen der Gruppe JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

PRÄ-tribologisch unterscheidet sich die Makroskopie der Knorpelbeläge von jungen gegenüber alten Kniegelenken erheblich ($z = 3,21$, $p < 0,0001$). Auf die nach dem adaptierten ICRS-Score bezogenen Mittelwerte bedeutet dies einen deutlichen Unterschied zwischen alten ($M = 1,69$) und jungen ($M = 0,23$) Knorpeloberflächen vor der tribologischen Testung von absolut 1,46 Punkten. Demnach sind die alten Kniegelenke makroskopisch um durchschnittlich 1,46 Punkte intensiver verschlissen als die Oberflächen von jungen Kniegelenken (Abb. 31, Tab. 26).

POST-tribologisch konnte ebenfalls ein Unterschied zwischen ALT und JUNG festgestellt werden. Dieser ist jedoch als statistisch nicht signifikant zu bewerten ($z = 1,66$, $p = 0,0992$). Auf der adaptierten ICRS-Skala beträgt der Unterschied nach den tribologischen Versuchen zwischen JUNG ($M = 1,99$) und ALT ($M = 2,41$) 0,42 Punkte (Abb. 31, Tab. 26).

Der Vergleich der unterschiedlichen Ausprägungen des kartilaginären Oberflächenschadens zeigte, dass die ICRS-Scores prä- und posttribologisch einen unterschiedlichen Verlauf aufwiesen. Der Vergleich der beiden Differenzen zeigte, dass die prätribologischen Unterschiede zwischen jungen und alten Knorpeloberfläche durch den Reibungsversuch posttribologisch geringer geworden sind, nämlich von $M = 1,46$ auf $M = 0,42$ abgenommen haben.

Innerhalb der jeweiligen Altersgruppen besteht zwischen prä- und post-tribologisch durch den Reibungsvorgang ein deutlicher Unterschied (jung: $z = 7,36$, $p < 0,0001$ und alt: $z = 4,14$, $p < 0,0001$, Tab. 26). Auf die Gruppe Kniegelenke JUNG bezogen bedeutet dies eine Differenz von 1,72 Punkten (von $M = 0,23$ prätrib. auf $M = 1,99$ posttrib.), sowie für die Gruppe der Kniegelenke ALT von 0,72 Punkten (von $M = 1,69$ prätrib. auf $M = 2,41$ posttrib., Abb. 31).

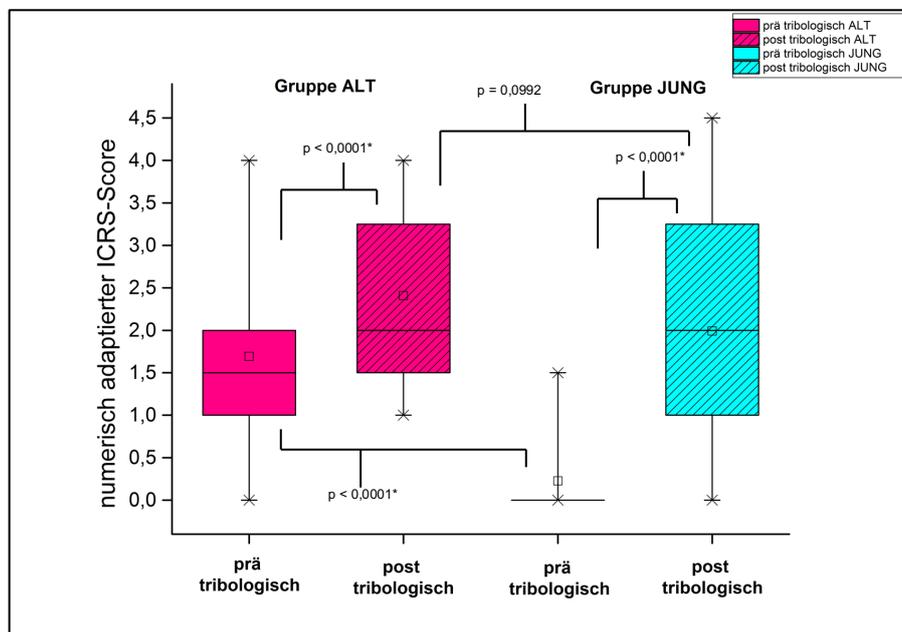


Abbildung 31: Vergleich der Streuungsmaße des numerisch adaptierten ICRS-Scores (Kniegelenke alle Kompartimente) Gruppe ALT (pink) und Gruppe JUNG (cyan). Die posttribologischen Werte werden anhand der schraffierten Flächen dargestellt. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Im Ergebnis der makroskopischen Evaluation lässt sich festhalten, dass der Knorpelbelag von jungen Kniegelenken durch die tribologische Testung proportional stärkere Veränderungen aufweist, als der Knorpel von alten Kniegelenken (Abb. 31).

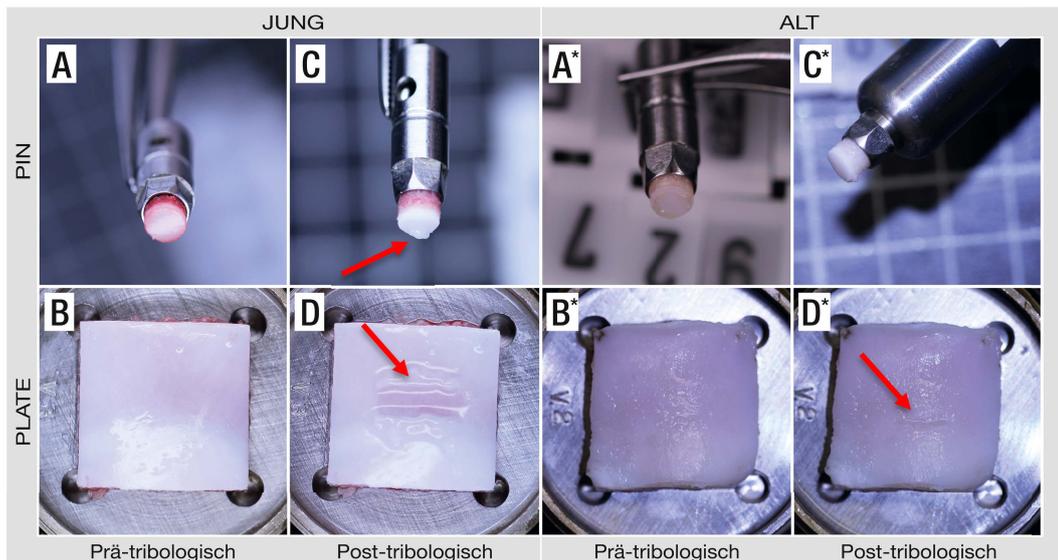


Abbildung 32: Makroskopischer Vergleich von jungem (A,B,C und D) mit altem (A*,B*,C* und D*) porkinen Knorpel aus Kniegelenken, jeweils prä- und posttribologisch. Durch die roten Pfeile gekennzeichnet sind die durch tribologische Testung kausal verursachten Veränderungen. Auffallend sind die wesentlich stärker ausgeprägten Läsionen an der Plate eines jungen Tibiaplateaus (D) im Vergleich zum alten Plateau (D*).

3.2.4 PRÄ-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe ALT

Der Knorpelbelag des medialen Kompartiments von alten Kniegelenken vor der tribologischen Testung zeichnete sich nach dem adaptierten ICRS-Score durch eine „mittlere“ Osteoarthritis aus ($M = 1,97$, $SD = 0,91$). Von allen prä-tribologisch evaluierten Knorpeloberflächen entsprach dies dem höchsten Wert einer Vorschädigung. Auch hier erstreckten sich die Merkmalsausprägungen nahezu über die gesamte Scorebreite (0 – 4, Abb. 33).

Bei den lateralen Kompartimenten charakterisierten sich die Knorpeloberflächen der Gruppe ALT prä-tribologisch durch eine nur moderat ausgeprägte OA ($M = 1,42$, $SD = 0,47$) mit einer im Vergleich zu medial wesentlich geringeren Spannweite von 2 (0-2, Abb. 33).

Die Score-Differenz zwischen medialem und lateralem Kompartiment vor der tribologischen Testung betrug auf die Mittelwerte bezogen 0,55 Punkte. Diese war statistisch signifikant ($z = 2,54$, $p = 0,0139$, Abb. 33, Tab. 26).

Im Ergebnis lässt sich festhalten, dass die Arthroseausprägung bei alten Kniegelenken medial signifikant stärker ist als lateral.

3.2.5 PRÄ-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe JUNG

In der Gruppe der jungen Kniegelenke ließ sich vor dem tribologischen Versuch kein signifikanter Unterschied zwischen medialem ($M = 0,3$, $SD = 0,49$) und lateralem ($M = 0,16$, $SD = 0,37$) Kompartiment bezüglich osteoarthrotischen Veränderungen

feststellen ($z = 1,24$, $p = 0,2214$, Tab. 26). Dies spiegelte die Ergebnisse den Zustand der gesamten Knorpeloberflächen der jungen Kniegelenke wider, bei denen keine oder nur einmal arthrotische Veränderungen festgestellt werden konnten (Abb. 33).

3.2.6 POST-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe ALT

Post-tribologisch wiesen die medialen Kompartimente in der Gruppe ALT einen höheren Score-Wert ($M = 2,73$, $SD = 0,91$) als die lateralen Kompartimente ($M = 2,08$, $SD = 0,78$) auf. Die Differenz dieser beiden Kompartimente post-tribologisch beträgt 0,65 Score-Punkte und war als signifikant zu interpretieren ($z = 2,94$, $p = 0,0047$, Abb. 33, Tab. 26).

3.2.7 POST-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe JUNG

Post-tribologisch konnte in der Gruppe JUNG kein Unterschied zwischen medialem ($M = 1,78$, $SD = 1,35$) und lateralem ($M = 2,20$, $SD = 1,44$) Kompartiment festgestellt werden ($z = 1,19$, $p = 0,2393$), bei einem Unterschied von 0,42 Punkten (Abb. 33).

3.2.8 Vergleich der Kompartimente (med./lat.) in den jeweiligen Altersgruppen JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Innerhalb der jeweiligen Altersgruppe bestand zwischen medialem und lateralem Kompartiment ein Unterschied. Junge Kniegelenke waren durch die tribologische Testung wesentlich stärker verändert worden als alte Kniegelenke, unabhängig ob medial oder lateral.

In der Gruppe ALT stellte sich ebenfalls bei den lateralen Kompartimenten ein signifikanter Unterschied ($z = 2,94$; $p = 0,0045$) von prä- auf posttribologisch mit einer Differenz von 0,66 Punkten (von $M = 1,42$ prätrib. auf $M = 2,08$ posttrib.) ein. Bei den medialen Kompartimenten betrug die Diskrepanz absolut 0,75 Punkte (von $M = 1,97$ prätrib. auf $M = 2,72$ posttrib.) und war ebenfalls signifikant ($z = 3,21$; $p = 0,0021$, Abb. 33, Tab. 26).

In der Gruppe JUNG fand sich bei den lateralen Kompartimenten ein signifikanter Unterschied ($z = 5,66$, $p = 0,0001$) zwischen prä- und posttribologischem Score mit einer Differenz von 2,04 Punkten (von $M = 0,16$ prätrib. auf $M = 2,2$ posttrib.). Bei den medialen Kompartimenten belief sich der hoch signifikante Unterschied ($z = 4,68$, $p = 0,0001$) von 1,48 Punkte (von $M = 0,3$ prätrib. auf $M = 1,78$ posttrib., Abb. 33, Tab. 26).

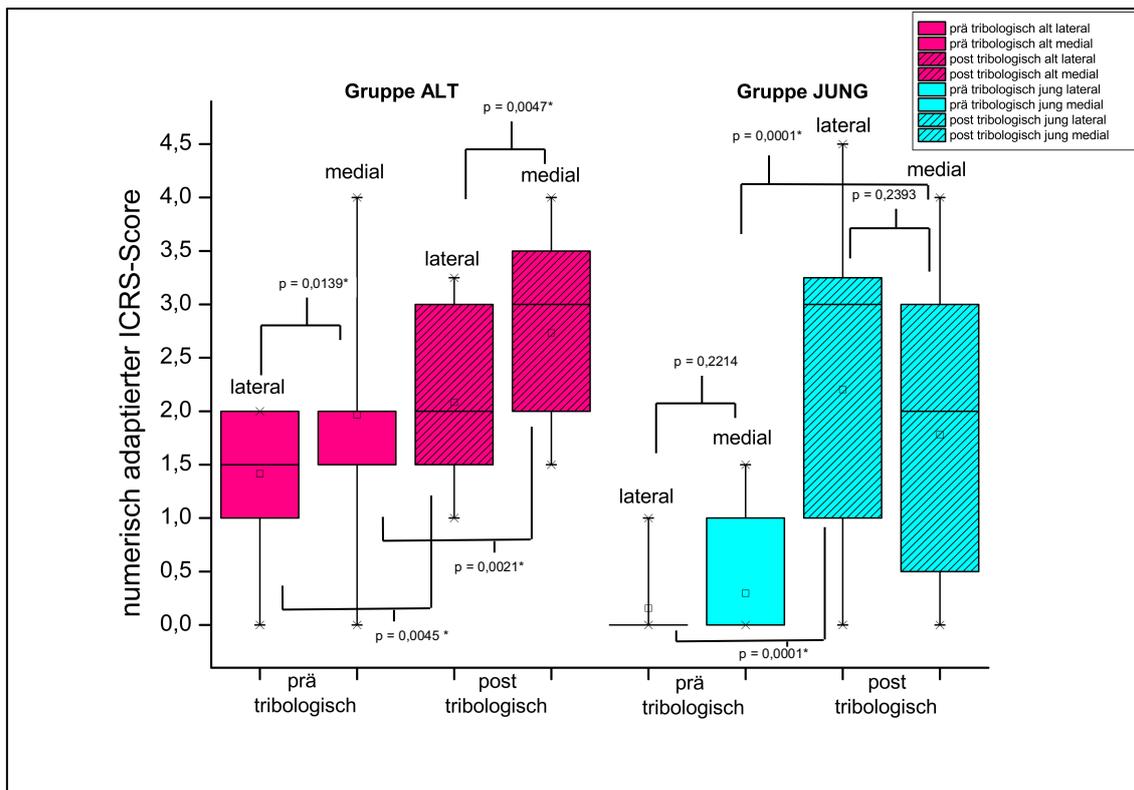


Abbildung 33: Streuungsmaße der lateralen und medialen Kompartimente der jeweiligen Gruppe ALT/JUNG. Die schraffierten Flächen stellen posttribologische Werte dar. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen Folgendes entnehmen:

1. Nativ wiesen alte Kniegelenke medial eine stärker ausgeprägte Arthrose auf als lateral.
2. Bei den jungen Kniegelenken ließ sich weder vor noch nach der tribologischen Testung ein Unterschied betreffend der Kompartimente feststellen.

3.2.9 PRÄ-tribologische Evaluation der femurseitigen sowie tibiaseitigen Knorpeloberflächen ALT

Der mittlere adaptierte ICRS-Score der alten Femurkondylen vor der tribologischen Testung ($M = 1,8$, $SD = 1,01$) war um 0,22 Punkte höher als die Oberflächen der tibialen Gelenkflächen ($M = 1,58$, $SD = 0,42$) (Abb. 34).

3.2.10 PRÄ-tribologische Evaluation der femurseitigen sowie tibiaseitigen Knorpeloberflächen JUNG

In der Gruppe der jungen Kniegelenke war ersichtlich, dass die femorale Seite makroskopisch in keinem Präparat Hinweise auf Osteoarthrose zeigte ($M = 0$, $SD = 0$). Sie unterschied sich somit signifikant ($z = 4,18$, $p < 0,0001$) mit einer Differenz von 0,45 von der tibialen Seite ($M = 0,45$, $SD = 0,53$). Diskrete osteoarthrotische Veränderungen in der jungen Kniegelenksgruppe waren somit ausschließlich tibial vorhanden (Abb. 34) (Tab. 26).

3.2.11 POST-tribologische Evaluation der femurseitigen sowie tibiaseitigen Knorpeloberflächen ALT

Bei der posttribologischen Evaluation der Gruppe ALT ließ sich ermitteln, dass sich die femoralen ($M = 2,37$, $SD = 0,91$) und tibialen ($M = 2,45$, $SD = 0,90$) Gelenkseiten ähneln und die Differenz von 0,08 Punkten keinen signifikant feststellbaren Unterschied darstellt ($z = 0,5$, $p = 0,6207$) (Abb. 34, Tab. 26).

3.2.12 POST-tribologische Evaluation der femurseitigen sowie tibiaseitigen Knorpeloberflächen JUNG

Das Ergebnis des Vergleiches in dieser Gruppe war die Zunahme der Diskrepanz im Score zwischen femoralen und tibialen Knorpelproben ($z = 6,54$, $p < 0,0001$) mit einer Differenz zwischen femoral ($M = 0,84$, $SD = 0,87$) und tibial ($M = 3,14$, $SD = 0,72$) von 2,3 adaptierten ICRS-Punkten. Im Vergleich zu allen anderen Gruppen waren hier die tibialen makroskopischen Defekte hier am deutlichsten ausgeprägt sowie die Differenz der Score-Punktzahl am höchsten. Von allen Gruppen zeigte somit die tibiale Seite von jungen Kniegelenken post-tribologisch die größten makroskopischen Defektbildungen (Abb. 34).

3.2.13 Vergleich der femurseitigen sowie tibiaseitigen Knorpeloberflächen JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Sowohl in der Gruppe ALT als auch JUNG ergaben sich durch die tribologische Testung verursachte Effekte. Dies betraf sowohl die tibialen als auch die femoralen Gelenkabschnitte. In der Untersuchungsgruppe der alten Kniegelenke waren die Score-differenzen zwischen prä- und posttribologisch geringer ausgeprägt, unabhängig ob femoral oder tibial untersucht wurde. So betrug femoral der Unterschied lediglich 0,57 Punkte (von $M = 1,58$ prätrib. auf $M = 2,45$ posttrib.) und ist damit nicht als statistisch signifikant anzusehen ($z = 2,34$, $p = 0,0229$). Auf der tibialen Seite hingegen betrug der Unterschied 0,87 Punkte (von $M = 1,58$ prätrib. auf $M = 2,45$ posttrib.) was einen signifikanten Unterschied darstellt ($z = 6,75$, $p < 0,0001$) (Abb. 34) (Tab. 26).

In der Gruppe JUNG bedeutete dies einen Sprung femoral von 0,84 Punkten (von $M = 0$ prätrib. auf $M = 0,84$ posttrib.) und einen wesentlich stärker ausgeprägten Sprung tibialseits von 2,69 (von $M = 0,45$ prätrib. auf $M = 3,14$ posttrib.). Die Unterschiede zwischen prä- zu posttribologisch waren somit auf beiden Gelenkseiten signifikant (tibial: $z = 6,7$, $p < 0,0001$ sowie femoral: $z = 4,88$, $p < 0,0001$) (Abb. 34).

Es zeigte sich also, dass die tribologische Belastung als Ursache an den Knorpelproben der Gruppe JUNG, gleichgültig ob femoral oder tibial, stärkere Alterationen hinterließ als in der Gruppe ALT. In der Gruppe ALT ließ sich ein signifikanter Unterschied tibial darstellen.

Anhand des Vergleichs JUNG gegen ALT fiel überdies auf, dass sich tibiale Proben in beiden Gruppen relativ stärker makroskopisch „verschlechtern“ als die der femoralen (Pins) Proben.

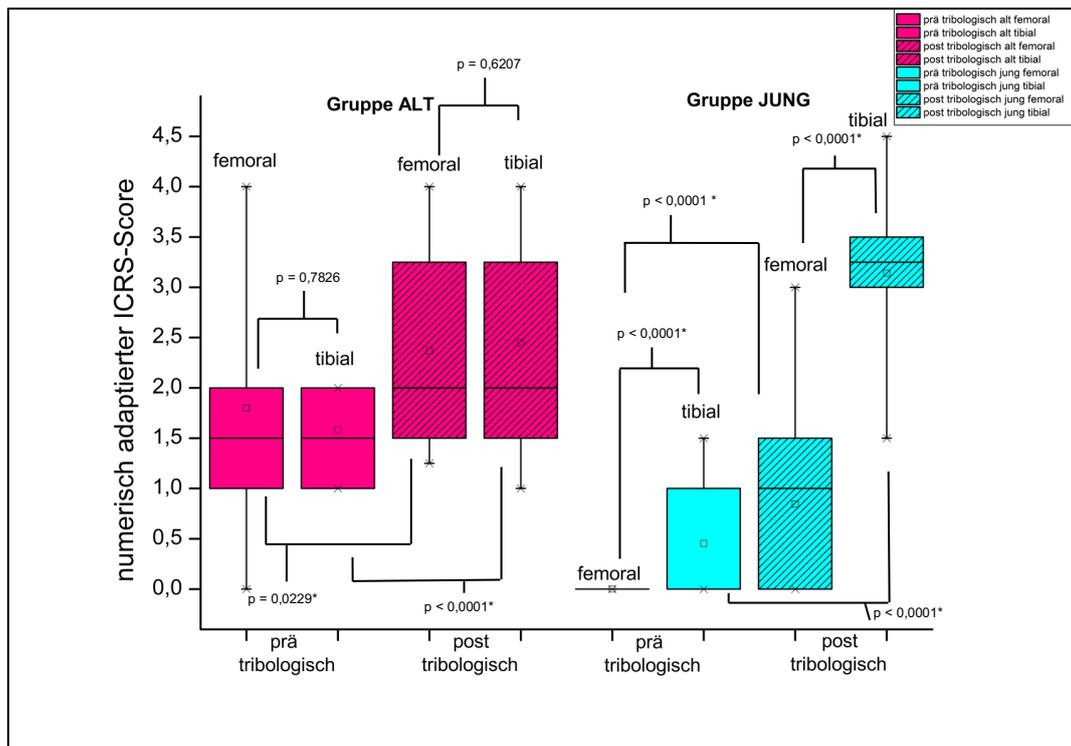


Abbildung 34: Streuungsmaße der femoralen (Farbinkrement von unten nach oben) und tibialen (Farbinkrement von oben nach unten) Kompartimente der jeweiligen Gruppe ALT/JUNG. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Mit dem Fokus auf die durch die tribologische Testung verursachten makroskopischen Knorpelschäden, fallen diese bei den jungen Kniegelenken wesentlich stärker aus als bei den alten.

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen entnehmen, dass gleichermaßen die tibialen und femoralen Proben der Knorpeloberflächen ALT durch den tribologischen Versuch weniger stark alteriert werden als Knorpel JUNG.

3.2.14 Unterschied zwischen linkem und rechtem Knie

Weder die Knorpeloberflächen der jungen ($M = 0,21$ links und $M = 0,24$ rechts) noch der alten Kniegelenke ($M = 1,53$ links und $M = 1,84$ rechts) unterschieden sich signifikant (alt: $z = 1,98$, $p = 0,0522$ und jung: $z = 0,19$, $p = 0,8474$) im Seitenvergleich rechts versus links (Tab. 26).

3.3 Histologische Evaluation anhand des Little et al. Scores

Die osteochondralen Proben wurden, wie im Abschnitt Material und Methoden beschrieben, histologisch auf Merkmale der Osteoarthritis hin untersucht. Der Score von Little et al. [251] sieht eine Spannweite von 0 bis 25 vor, wobei 0 für das vollständige Fehlen von Alterationen steht und 25 für das Vollbild struktureller Knorpelveränderungen. Der Kontrollbereich entsprach bei der Bewertung dem prätribologischen Zustand (Abb. 23).

Die Auswertung der statistischen Maßzahlen für ihre jeweiligen Kompartimente, Gelenkseiten etc. erfolgte analog dem Vorgehen für die makroskopische Evaluation (siehe Abschnitt 3.2).

Die Ergebnisse der histologischen Analyse sind nachfolgend tabellarisch aufgeführt.

<u>Histo-Score nach Little et al.</u>	<u>PRÄ-tribologisch</u> (M ± SD; Min – Max)	<u>POST-tribologisch</u> (M ± SD; Min – Max)
gesamt JUNG	5,05 ± 2,13; 2 - 11	9,03 ± 5,68; 2 - 21
gesamt ALT	10,28 ± 3,38; 5 - 19	12,35 ± 5,06 ; 3 - 24
medial JUNG	4,72 ± 1,85 ; 2 - 10	8,56 ± 5,78; 2 - 21
medial ALT	11,07 ± 3,52 ; 6 - 19	13,57 ± 5,33; 3 - 24
lateral JUNG	5,38 ± 2,37; 2 - 11	9,5 ± 5,65; 2 - 21
lateral ALT	9,5 ± 3,09 ; 5 - 17	11,13 ± 4,52; 6 - 22
femoral JUNG	3,84 ± 1,27 ; 2 - 6	4,66 ± 2,28; 2 - 13
femoral ALT	10,07 ± 3,4 ; 5 - 19	12,63 ± 5,72 ; 3 - 24
tibial JUNG	6,25 ± 2,16 ; 3 - 11	13,41 ± 4,58; 4 - 21
tibial ALT	10,5 ± 3,4 ; 6 - 17	12,07 ± 4,37; 6 - 22
gesamt links JUNG	4,92 ± 1,78 ; 2 - 8	9,21 ± 5,86 ; 2 - 21
gesamt rechts JUNG	5,13 ± 2,29 ; 2 - 11	8,93 ± 5,5 ; 2 - 21
gesamt links ALT	9,25 ± 3,15; 5 - 19	12,61 ± 5,48 ; 3 - 24
gesamt rechts ALT	11,19 ± 3,36 ; 6 - 17	12,13 ± 4,55 ; 7 - 24

Tabelle 12: Ergebnisse der histologischen Evaluation nach Little et al. [251] -Scoring

3.3.1 PRÄ-tribologische Evaluation aller Kniegelenke

Die histologische Evaluation der gesamten Knorpelproben ALT vor den tribologischen Versuchen ergab eine Veränderung im Sinne einer Osteoarthritis ($M = 10,28$, $SD = 3,38$). Der tiefste bzw. höchste Wert von 5 und 19 zeigt, dass in dieser Gruppe weder eine sehr hohe (> 20 Punkte), noch eine sehr geringe Osteoarthritis-Ausprägung (< 5 Punkte) histologisch gefunden werden konnte (Abb. 35).

Bei den Knorpelproben JUNG fanden sich durchwegs wenig histologisch nachweisbare Alterationen im Knorpel ($M = 5,05$, $SD = 2,13$) (Abb. 35).

3.3.2 POST-tribologische Evaluation aller Kniegelenke

Posttribologisch zeichnen sich die Knorpelproben der Gruppe ALT durch einen leicht gestiegene Scorewerte aus ($M = 12,32$, $SD = 5,06$). In dieser Gruppe auffallend ist, dass nahezu die gesamte Bandbreite des Scorings genutzt wurde (3 – 24; Scorebandbreite 0 – 25) (Abb. 35).

Mit 3,32 Punkte weniger als in der Gruppe der Knorpelproben ALT, zeichnete sich die Gruppe JUNG aus ($M = 9,03$, $SD = 5,68$) (Abb. 35).

3.3.3 Vergleich der gesamten Knorpeloberflächen der Gruppe JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Vor den tribologischen Versuchen unterschieden sich histologisch die Knorpelproben der Gruppe ALT ($M = 10,28$) und JUNG ($M = 5,05$) signifikant ($z = 8,13$, $p < 0,0001$) (Tab. 26). Die Differenz der Scorewertvergabe nach Little et al. [251] zwischen diesen beiden Gruppen belief sich im Mittel auf 5,23 Punkte (Abb. 35).

Posttribologisch hingegen wird diese Differenz geringer und reduzierte sich im Mittel auf 3,32 Punkte. Diese Differenz von 3,32 Punkten stellte ebenfalls einen signifikanten Unterschied ($z = 3,53$, $p < 0,0006$) zwischen den Proben der Gruppe ALT ($M = 12,35$) und JUNG ($M = 9,03$) dar (Abb. 35, Tab. 26).

Innerhalb der jeweiligen Gruppen bestanden zwischen prä- und posttribologisch durch die tribologische Testung verursacht, ebenfalls Unterschiede. Diese beliefen sich bezogen auf die Mittelwerte in der Gruppe der alten Proben auf 2,07 Punkte (von prätrib. $M = 10,28$ auf posttrib. $M = 12,35$). Dieser durch die Reibung verursachte Unterschied war signifikant ($z = 2,28$; $p = 0,0242$) (Abb. 35, Tab. 26).

Innerhalb der jungen Proben betrug der Unterschied zwischen prä- und posttribologischer Testung im Mittel 3,98 Punkte (von prätrib. $M = 5,05$ auf posttrib. $M = 9,03$) mit statistischer Signifikanz ($z = 3,69$, $p < 0,0003$) (Abb. 35, Tab. 26).

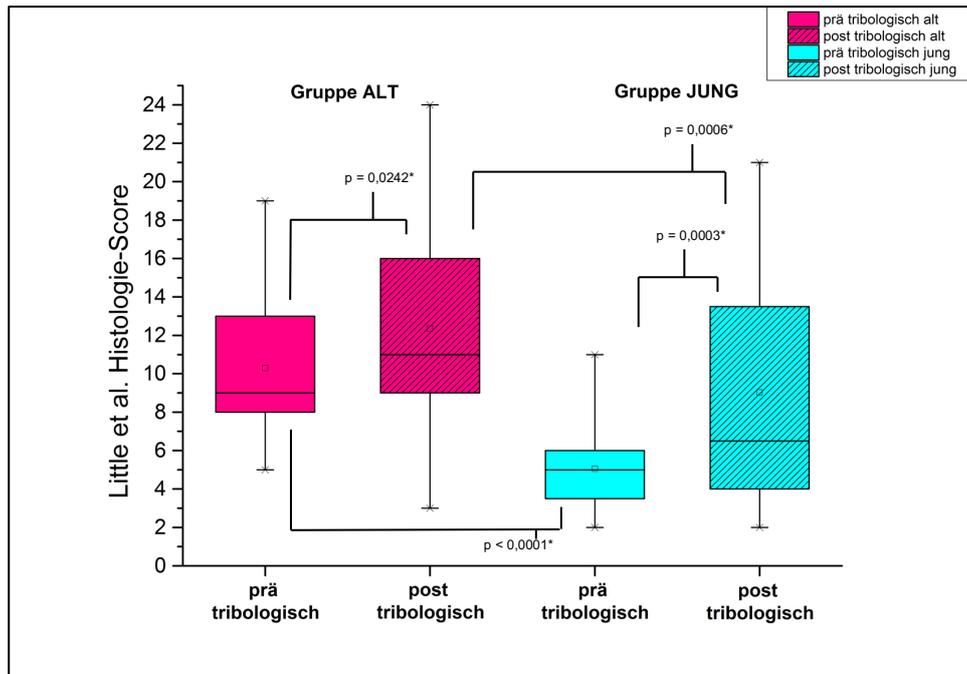


Abbildung 35: Prä- und posttribologische Streuungsmaße im histologischen Scoring nach Little et al. bezogen auf die jeweiligen Kniegelenke in ihrer Gesamtheit. Die schraffierten Boxen stellen die Werte nach der tribologischen Testung dar. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

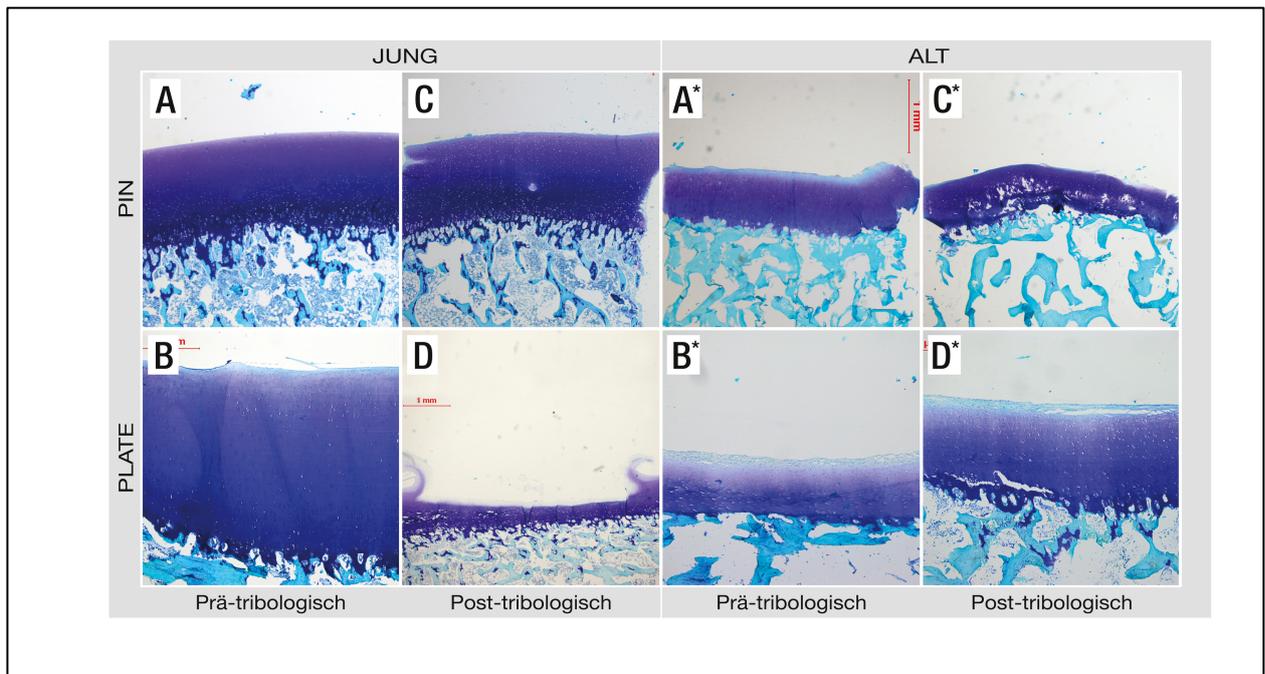


Abbildung 36: Mikroskopischer Vergleich von jungem (A,B,C und D) mit altem (A*,B*,C* und D*) porkinen Knorpel aus Kniegelenken, jeweils prä- und posttribologisch. Auffallend sind die wesentlich stärker ausgeprägten Läsionen an der Plate eines jungen Tibiaplateaus (D) in Form einer sichtbaren Riefe im Vergleich zum Plateau des alten Knorpelbelages (D*).

3.3.4 PRÄ-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe ALT

Die histologische Begutachtung der medialen sowie lateralen Kompartimente von alten Kniegelenken vor der tribologischen Testung zeigte medial stärkere Alterationen (lateral $M = 9,5$, $SD = 3,09$ und medial $M = 11,07$, $SD = 3,52$). Dieser Unterschied von 1,57 Punkten war statistisch nicht signifikant ($z = 1,89$, $p = 0,0642$) (Abb. 37) (Tab. 26).

3.3.5 PRÄ-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe JUNG

Ein signifikanter Unterschied war zwischen lateralem und medialem Kompartiment der jungen Kniegelenke nicht zu erkennen ($z = 1,01$, $p = 0,3149$), denn histologisch wies der Knorpelbelag, gleichgültig ob lateral ($M = 5,38$, $SD = 2,37$) oder medial ($M = 4,72$, $SD = 1,85$), bei jungen Kniegelenken kaum Pathologien auf. Die Diskrepanz von 0,66 Punkten wurde als zu gering für einen signifikanten Unterschied erachtet. Es konnte somit von einer nahezu homogenen Situation medial versus lateral ausgegangen werden (Abb. 37).

3.3.6 POST-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe ALT

Mediale Kompartimente der alten Kniegelenke hatten im Mittel nach einer tribologischen Testung einen leicht höheren Scorewert ($M = 13,57$, $SD = 5,33$) als die lateralen Kompartimente ($M = 11,13$, $SD = 4,52$). Die Diskrepanz von 2,44 Punkten war statistisch nicht signifikant ($z = 1,89$, $p = 0,0635$) (Abb. 37, Tab. 25).

3.3.7 POST-tribologische Evaluation der medialen und lateralen Kompartimente Gruppe JUNG

In diesem Vergleich hatten auf den Mittelwert bezogen laterale Kompartimente ($M = 9,5$, $SD = 5,65$) 0,94 Punkte mehr als mediale Kompartimente ($M = 8,56$, $SD = 5,78$). Somit war kein statistisch relevanter Unterschied feststellbar ($z = 0,5594$, $p = 0,5779$) (Abb. 37, Tab. 26).

3.3.8 Vergleich der Kompartimente Gruppe JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Prätribologisch konnte weder innerhalb der Gruppe ALT noch JUNG ein signifikanter Unterschied zwischen medialem und lateralem Kompartiment ausgemacht werden. Dies setzt sich posttribologisch fort, denn auch hier konnten in keiner Gruppe Unterschiede von statistischer Relevanz zwischen medial und lateral detektiert werden.

Der durch den tribologischen Versuch verursachten Schaden war in der Gruppe der alten Kniegelenke zu gering für den Nachweis eines statistisch signifikanten Unterschiedes. Weder der Anstieg lateralseits von prä- auf posttribologisch mit einer Differenz von 1,63 (von prätrib. $M = 9,5$ versus posttrib. auf $M = 11,13$) noch medial mit einer Differenz von 2,5 (von prätrib. $M = 11,07$ versus posttrib. auf $M = 13,57$) reichten

aus, um einen Unterschied von statistischer Signifikanz auszumachen (lateral: $z = 1,32$, $p = 0,1905$ und medial: $z = 1,92$, $p = 0,0597$) (Abb. 37) (Tab. 25).

Ein wesentlich anderes Bild boten die Knorpelproben der Gruppe JUNG. Die Sprünge von prä- auf posttribologische Werte konnten sowohl lateral ($z = 2,67$, $p = 0,0098$) als auch medial ($z = 2,65$, $p = 0,0101$) als statistisch signifikant erkannt werden. Hier betrug der Unterschied im Mittel medialseits 3,84 (von prätrib. $M = 4,72$ auf posttrib. $M = 8,56$) und lateral 4,12 Punkte (von prätrib. $M = 5,38$ auf posttrib. $M = 9,5$) (Abb. 37, Tab. 26).

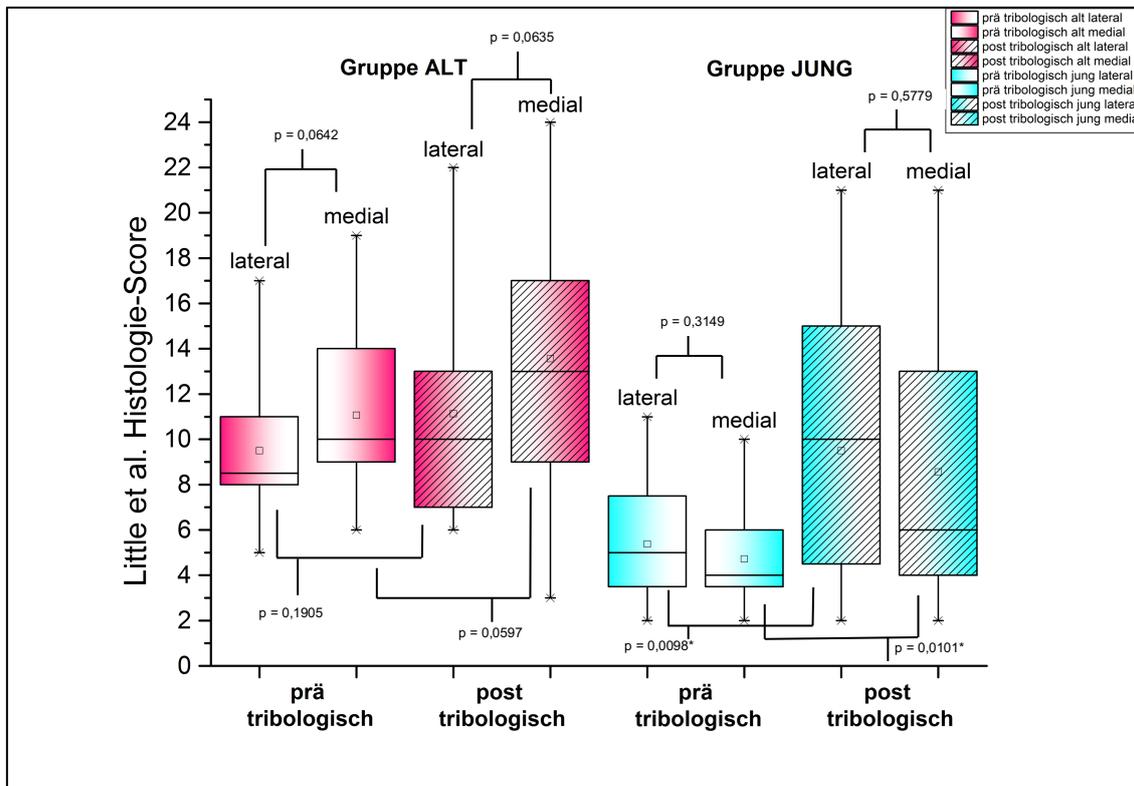


Abbildung 37: Scorewertvergabe der lateralen sowie medialen Kompartimente in ihren jeweiligen Gruppenzugehörigkeiten. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Wenn der Fokus einzig auf das mediale oder laterale Kompartiment zum Zeitpunkt vor bzw. nach der tribologischen Untersuchung gerichtet wird, ergeben sich bei diesem isolierten Vergleich keine Unterschiede in der histologischen Scorevergabe. Nicht nur bei der Betrachtung der jeweiligen Seite (medial oder lateral) ergaben sich keine Unterschiede, sondern auch wenn der Faktor ALT und JUNG mit einbezogen wird.

Der Unterschied bezüglich der Auswirkungen durch die tribologische Testung ergab sich dann, wenn die prätribologische mit der posttribologischen Histologie innerhalb der Gruppe Knorpel JUNG verglichen wird. Einzig in dieser Gruppe der jungen Kniegelenke konnte ein signifikanter Unterschied durch den Reibeversuch aufgedeckt werden unabhängig ob es sich um Knorpel aus dem medialen oder lateralen Kompartiment handelte.

3.3.9 PRÄ-tribologische Evaluation der femoralen sowie tibialen Knorpeloberflächen ALT

Mit einer Differenz von 0,43 Punkten zwischen femoralen ($M = 10,07$, $SD = 3,4$) und tibialen ($M = 10,5$, $SD = 3,4$) histologischen Knorpelproben konnte vor einem tribologischen Versuch kein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen festgestellt werden ($z = 0,61$, $p = 0,5433$) (Tab. 26).

3.3.10 PRÄ-tribologische Evaluation der femoralen sowie tibialen Knorpeloberflächen JUNG

Mit einer Differenz des Mittelwertes von 2,41 Punkten stellten sich die tibialen ($M = 6,25$, $SD = 2,16$) Gelenksflächen gegenüber den femoralen ($M = 3,84$, $SD = 1,27$) ($z = 4,45$, $p < 0,0001$) in ihrer Knorpelstruktur differenzieren (Tab. 26).

3.3.11 POST-tribologische Evaluation der femoralen sowie tibialen Knorpeloberflächen ALT

Der posttribologische Unterschied zwischen femoraler ($M = 12,63$, $SD = 5,72$) und tibialer ($M = 12,07$, $SD = 4,37$) Seite belief sich auf 0,56 Punkte zuungunsten der femoralen Gelenkseite. Wie auch prätribologisch war der Unterschied als nicht signifikant zu erachten ($z = 0,1929$, $p = 0,8477$) (Tab. 26).

3.3.12 POST-tribologische Evaluation der femoralen sowie tibialen Knorpeloberflächen JUNG

An der tibialen Knorpeloberfläche JUNG waren posttribologisch Schäden zu erkennen ($M = 13,41$, $SD = 4,58$). An der femoralen Seite hingegen wurde histologisch ein wesentlich geringerer Scorewert vergeben ($M = 4,66$, $SD = 2,28$). Auf die Mittelwerte bezogen betrug die Diskrepanz zwischen femoral und tibial 8,75 Punkte sodass ein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte ($z = 6,1$, $p < 0,0001$) (Tab. 26).

3.3.13 Vergleich der femoralen sowie tibialen Knorpeloberflächen JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Vor der tribologischen Belastung konnte ein signifikanter Unterschied zwischen femoraler und tibialer Gelenkseite in der Gruppe JUNG, nicht aber in der Gruppe ALT festgestellt werden. Diese Beobachtung setzte sich posttribologisch fort, denn auch hier konnte ausschließlich in der Gruppe JUNG ein Unterschied femoral gegen tibial ausgemacht werden.

In der Gruppe ALT war der mittlere Unterschied tibial von 1,57 (von prätrib. $M = 10,5$ versus posttrib. $M = 12,07$) und femoral von 2,56 (prätrib. $M = 10,07$ versus $M = 12,63$) nicht statistisch signifikant ($z = 1,34$, $p = 0,1861$) (Tab. 26).

Auf der femoralen Seite der jungen Kniegelenke war dem Reibeversuch mit 2,41 Punkten Differenz ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied (prätrib. $M = 3,84$ versus posttrib. $M = 6,25$) zuzusprechen. Kontrastiert wurde dies jedoch mit dem Ergebnis auf der tibialen Seite mit einer Differenz von 7,16 Punkten (Zunahme um $\approx 115\%$). Der Sprung von prätribologisch $M = 6,25$ auf posttribologisch $M = 13,41$ stellte das einzig signifikante Ergebnis in diesem Gruppenvergleich dar ($z = 5,53$, $p < 0,0001$) (Abb. 38, Tab. 26).

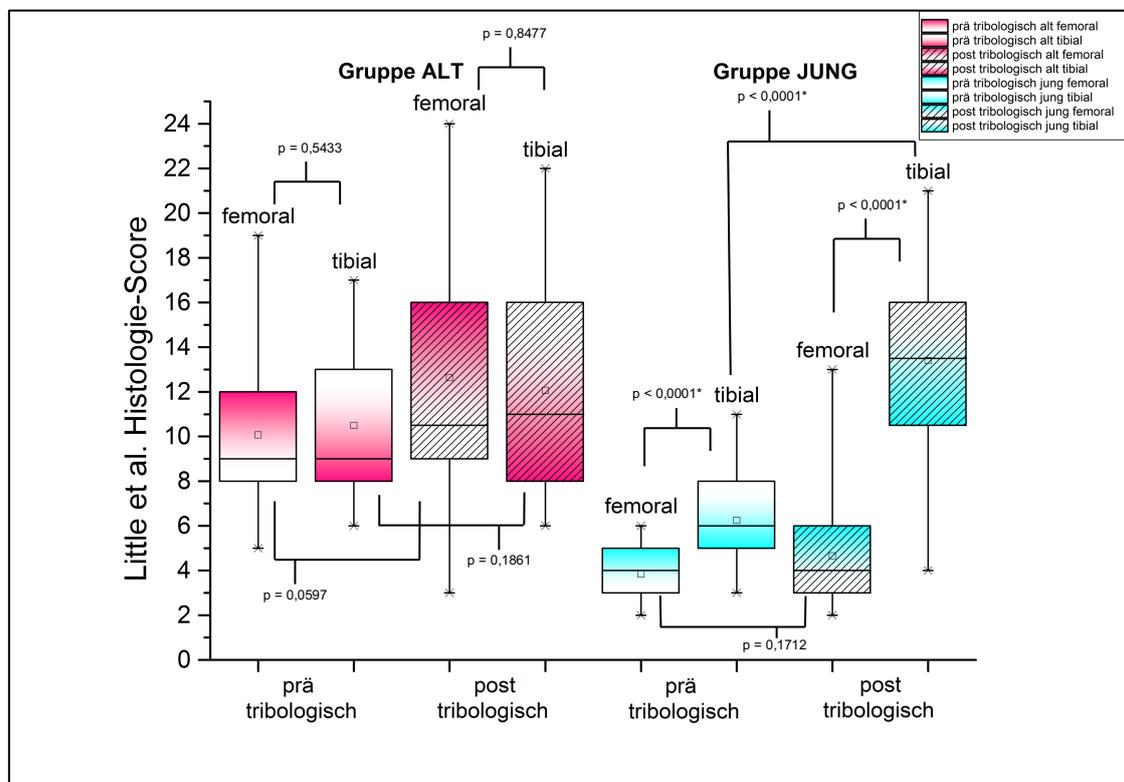


Abbildung 38: Streuungsmaße der femoralen bzw. tibialen Kompartimente vor und nach tribologischer Testung aufgeteilt nach ihrer jeweiligen Gruppenzugehörigkeit. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Ergebnis: Die statistische Auswertung der Histologien aller Reibeversuche macht deutlich, dass nur in einer Konstellation ein statistischer signifikanter Unterschied nachgewiesen werden kann. Es handelt sich dabei um die Scorewerte der tibialen Platte des jungen Knorpels. Im Vergleich prä- mit posttribologischem Wert fiel eine sprunghafte Zunahme score-relevanter Merkmale bei der histologischen Analyse auf.

3.3.14 Unterschiede zwischen linkem und rechtem Kniegelenksknorpel

Es konnte ein signifikanter Unterschied in der Gruppe ALT im Seitenvergleich rechts/links ausgemacht werden ($z = 2,31$, $p = 0,0245$). Rechts betrug der Mittelwert 11,19 und links 9,25. Bei den jungen Kniegelenken war kein signifikanter Unterschied vorhanden ($p = 0,7803$).

3.4 Histologische Evaluation anhand des adaptierten Little et al. - Scores

In der nachfolgenden Tabelle 13 sind die Ergebnisse des Scorings zusammengefasst.

<u>Histo-Score adaptiert</u> (M ± SD; Min - Max)	<u>PRÄ-tribologisch</u> (M ± SD; Min - Max)	<u>POST-tribologisch</u> (M ± SD; Min - Max)
gesamt JUNG	1,36 ± 1,03 ; 0 - 4	4,42 ± 3,34 ; 0 - 9
gesamt ALT	3,28 ± 2,29 ; 0 - 8	4,53 ± 2,97 ; 0 - 9
medial JUNG	1,25 ± 1,11 ; 0 - 4	4 ± 3,38 ; 0 - 9
medial ALT	3,87 ± 2,39 ; 0 - 8	5,17 ± 2,9 ; 0 - 9
lateral JUNG	1,47 ± 0,95 ; 0 - 3	4,84 ± 3,29 ; 0 - 9
lateral ALT	2,7 ± 2,05 ; 0 - 8	3,9 ± 2,94 ; 0 - 9
femoral JUNG	1,44 ± 1,05 ; 0 - 4	1,75 ± 1,5 ; 0 - 7
femoral ALT	3,13 ± 2,19 ; 0 - 8	4,33 ± 2,94 ; 0 - 9
tibial JUNG	1,28 ± 1,02 ; 0 - 4	7,09 ± 2,37 ; 0 - 9
tibial ALT	3,43 ± 2,4 ; 1 - 8	4,73 ± 3,03 ; 1 - 9
gesamt links JUNG	1,33 ± 0,87 ; 0 - 3	4,29 ± 3,4 ; 0 - 9
gesamt rechts JUNG	1,38 ± 1,13 ; 0 - 4	4,5 ± 3,25 ; 0 - 9
gesamt links ALT	2,5 ± 1,91 ; 0 - 8	4,79 ± 2,93 ; 0 - 9
gesamt rechts ALT	3,97 ± 2,39 ; 1 - 8	4,31 ± 2,93 ; 0 - 9

Tabelle 13: Tabellarische Zusammenfassung der statistischen Kennzahlen des adaptierten Scoringsystems nach Little et al. [251]

3.4.1 Vergleich des Gesamt der Knorpeloberflächen der Gruppe JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Bei der Evaluation der Knorpeloberflächenbeschaffenheit imponierte zwischen der Gruppe der alten ($M = 3,28$, $SD = 2,29$) und der jungen ($M = 1,36$, $SD = 1,03$) Kniegelenke ein signifikanter Unterschied ($z = 5,34$, $p < 0,0001$), noch bevor die tribologische Testung stattfand (Tab. 26). Die Oberflächenstruktur der alten Kniegelenke wies daher mit einem um 1,92 Punkte höheren Score einen entsprechend höheren Schweregrad des Knorpelschadens auf (Abb. 39).

Dieser prätribologische Unterschied nahm post-tribologisch auf eine geringe Differenz von 0,11 Punkte ab, sodass kein signifikanter Unterschied ($z = 0,58$, $p = 0,5621$) im Endzustand zwischen der jungen ($M = 4,42$, $SD = 3,34$) und alten Gruppe ($M = 4,53$, $SD = 2,97$) mehr festzustellen war. Mit anderen Worten, es ist mit dem modifizierten Score nach Testung kein Unterschied zwischen jungem und altem Knorpel zu erkennen (Abb. 39) (Tab. 26).

Analog zu den Ergebnissen des Little et al. – Scorings [251] (Abschnitt 3.3.3) nahm die Scoreprogredienz der jungen Knorpeloberflächenstruktur mit durchschnittlich 3,06 Punkten von prä- auf posttribologisch wesentlich stärker zu ($z = 4,9$; $p < 0,0001$) als die der Gruppe Alt (Abb. 39) (Tab. 26).

Beim Knorpel ALT war eine Zunahme des Scorewerts um 1,25 Punkte zu beobachten und ebenfalls signifikant ($z = 2,42$, $p = 0,0169$). Die Zunahme war vergleichsweise deutlich geringer ausgeprägt.

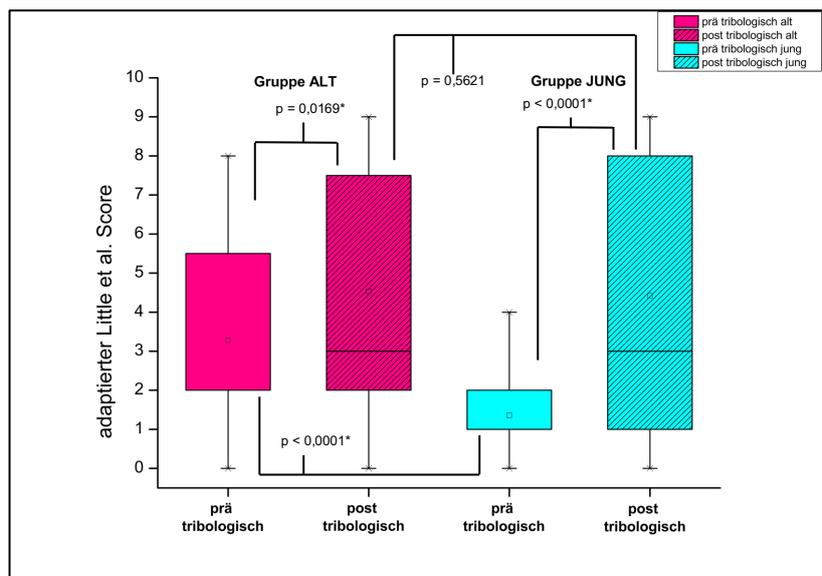


Abbildung 39: Streuungsmaße des eigenen Scores, adaptiert nach Little et al. [251] aufgeteilt in Gruppe ALT/JUNG beziehungsweise prä- posttribologisch. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Zusammenfassend war deutlich, dass die Beschaffenheit junger Knorpeloberflächen durch den tribologischen Versuch relativ stärkeren Alterationen unterliegt als alter. Abweichend vom Ergebnis des originären Little et al. Scorings ist ein Effekt der tribologischen Testungen nicht nur bei den jungen, sondern auch bei den alten Gelenken, mithin in beiden Gruppen, nachweisbar.

3.4.2 Vergleich der Knorpeloberfläche von medialen und lateralen Kompartimenten Gruppe ALT und JUNG vor und nach tribologischer Testung

Die Strukturen der Knorpeloberflächen unterschieden sich bei jungen Kniegelenken nicht signifikant medial versus lateral und weiterhin weder vor (prätrib.: $M = 1,25$, $SD = 1,11$; posttrib.: $M = 4$, $SD = 3,38$) (prätrib.: $M = 1,47$, $SD = 0,95$; posttrib.: $M = 4,84$, $SD = 3,39$) ($z = 1,16$, $p = 0,2494$) noch nach der tribologischen Belastung ($z = 0,82$, $p = 0,4160$) (Abb. 40, Tab. 26).

Demgegenüber waren die Unterschiede sowohl lateral ($z = 3,8$, $p = 0,0003$) als auch medial ($z = 3,29$, $p = 0,0016$) signifikant zwischen prä- und post-tribologisch zu bewerten. Mit einem durch den Reibeversuch um durchschnittlich von 3,37 auf 4,84 Punkte gestiegenem Score-Wert verlief der Einfluss lateral stärker als medial. Hier konnte eine mittlere Zunahme um 2,75 auf 4 Punkte beobachtet werden (Abb. 40).

Die Knorpeloberflächen der Gruppe Kniegelenke ALT wiesen ebenfalls weder prä- ($z = 1,97$, $p = 0,0538$) noch posttribologisch ($z = 1,66$, $p = 0,1013$) einen Unterschied zwischen medialem (prätrib. 3,87, $SD = 2,39$; posttrib.: 5,17, $SD = 2,9$) und lateralem ($M = 3,9$, $SD = 2,94$) Kompartiment auf (Abb. 40, Tab. 26).

Auch stellte sich heraus, dass die Knorpeloberflächenstruktur der alten Gelenke durch die tribologischen Versuche keine signifikante Verschlechterung erfuhren gleich ob medial mit einer Differenz von 1,3 von prä- auf posttribologisch ($z = 1,93$, $p = 0,0581$) oder lateral ($z = 1,52$, $p = 0,1329$) mit einem Wert von 1,2 (Abb. 40, Tab. 26).

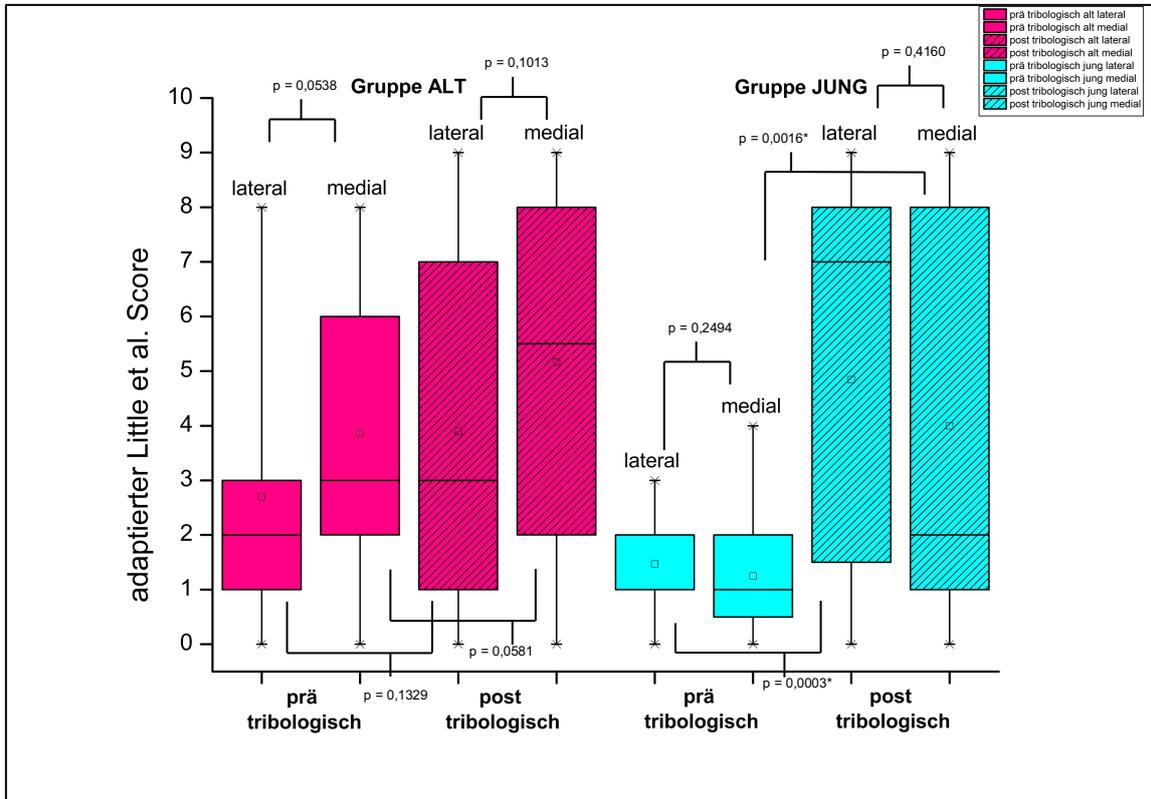


Abbildung 40: Streuungsmaße der lateralen beziehungsweise medialen Kompartimente vor und nach tribologischer Belastung. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

3.4.3 Vergleich der femoralen sowie tibialen Knorpeloberflächenstruktur JUNG und ALT vor und nach tribologischer Testung

Sowohl bei der Gruppe der jungen als auch der alten Knorpeloberflächen war vor den Reibversuchen kein statistisch signifikanter Unterschied (ALT: $z = 0,33$, $p = 0,7403$ sowie JUNG: $z = 0,66$, $p = 0,5147$) zwischen den femoralen (ALT: $M = 3,13$, $SD = 2,19$ sowie JUNG: $M = 1,44$, $SD = 1,05$) und tibialen (ALT: $M = 3,43$, $SD = 2,4$ sowie JUNG: $1,28$, $SD = 1,02$) Gelenksanteilen auszumachen (Tab. 26).

Posttribologisch indessen war ausschließlich in der Gruppe der jungen Knorpeloberflächen ein deutlicher Unterschied ($z = 5,87$, $p < 0,0001$) zwischen femoral und tibial entstanden. Die ursprünglich prätribologisch (mit $p = 0,5147$) nicht signifikante Differenz femoral-tibial von 0,16 Punkten vergrößerte sich um mehr als das 30-fache auf im Mittel 5,34 Scoringpunkte und war somit als signifikant zu werten, denn tibial stand der post-tribologische Scorewert mit $M = 7,09$ ($SD = 2,37$) einem femoralen Wert von $M = 1,75$ ($SD = 1,5$) gegenüber.

In der Gruppe ALT hingegen konnte auch posttribologisch kein signifikanter Unterschied zwischen femoral ($M = 4,33$, $SD = 2,94$) und tibial ($M = 4,73$, $SD = 3,03$) festgestellt werden ($z = 0,41$, $p = 0,6829$) (Tab. 26).

Den Effekt der tribologischen Versuche isoliert betrachtend (Vergleich prä-/posttrib.) konnte ausschließlich an der jungen, tibialen Seite ein statistisch signifikantes Ergebnis abgelesen werden ($z = 6,07$, $p < 0,0001$). Hier veränderte sich der Knorpelbelag im Mittel stark von prätrib. $M = 1,28$ ($SD = 1,02$) auf $M = 7,09$ ($SD = 2,37$). Bei allen anderen prä- zu posttribologischen Vergleichen konnten keine statistischen Signifikanzen nachgewiesen werden. Die Oberflächen der alten medialen und lateralen Knorpelproben sowie nur die femorale Seite der jungen Proben veränderte sich durch den tribologischen Versuch nicht in erkennbarer Weise.

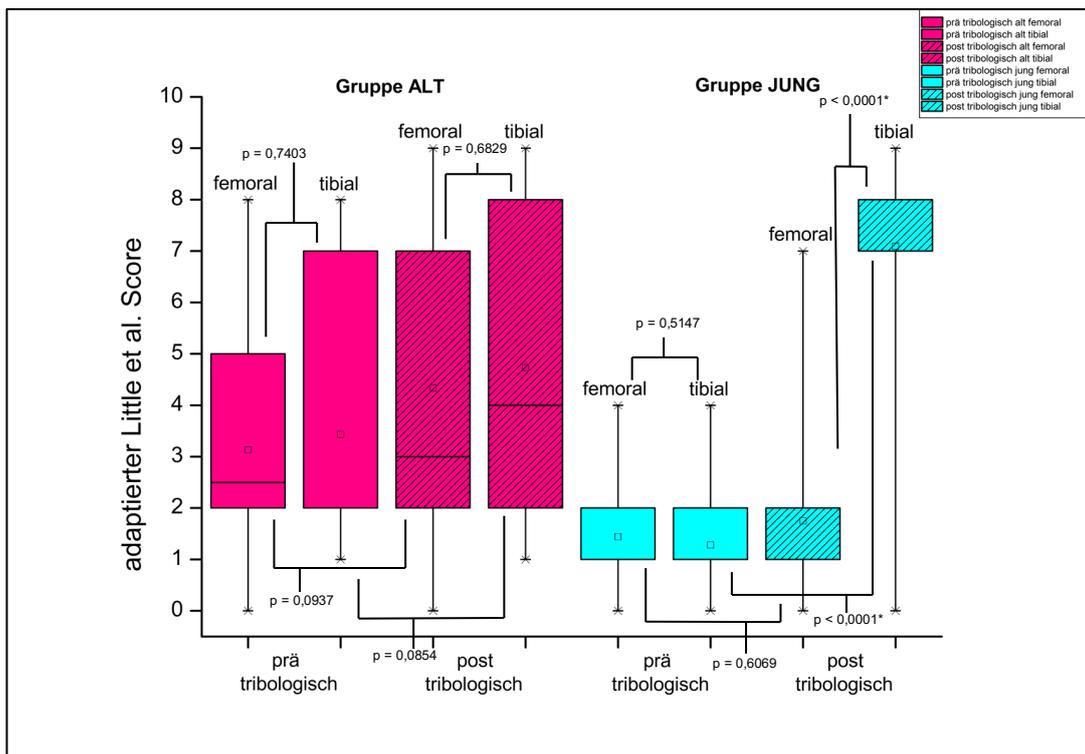


Abbildung 41: Scorevergabe des femoralen- bzw. tibialen Kompartiments vor und nach tribologischer Testung

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnisse schließen, dass der tribologische Versuch an der oberflächlichen Knorpeltextur Alterationen ausschließlich an der Plate (tibial) verursacht.

3.5 Ergebnisse der tribologischen Messungen

Insgesamt konnten bei 54 tribologischen Versuchsläufen die Höhenabnahmen des Knorpels in mm bestimmt werden. Diese 54 Datensätze bestehen aus 24 Versuchen an Knorpelproben von jungen - sowie 30 Versuchen an alten Kniegelenken. Die makro- sowie histologische Evaluation beinhaltete die Auswertung zu 62 Versuchsdurchläufen. Die Diskrepanz zu den 54 aufgezeichneten Versuchsdurchläufen erklärt

sich daher, dass bei 8 Versuchen die Daten aufgrund von technischen Problemen nicht vollständig aufgezeichnet wurden und somit nicht für die Auswertung zur Verfügung standen.

3.5.1 Unterschiede in der Höhenabnahme zwischen HIN und RÜCK

Die grafische Darstellung der Höhenabnahmen des HIN- (Abfahren der Pins von ventral nach dorsal) bzw. RÜCK-Zyklus führte zur Abbildung 42.

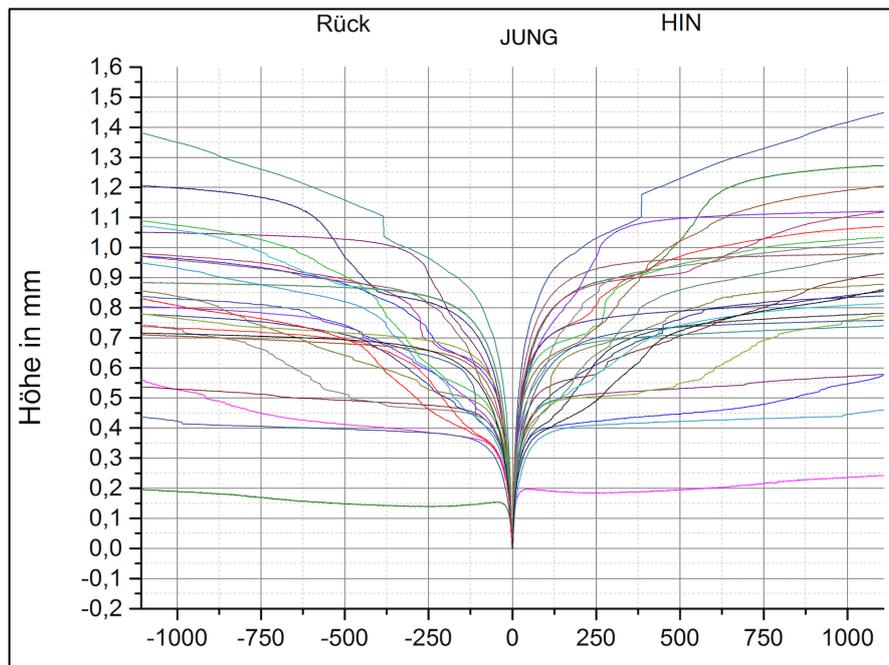


Abbildung 42: Volcano-Plot zur grafischen Gegenüberstellung der Höhenabnahme in mm zwischen HIN (Abfahren des Pins von ventral nach dorsal) auf der rechten Seite und RÜCK (dorsal – ventrales Abfahren) auf der linken Seite. Auf der Abszisse sind die Zyklenzahlen aufgetragen, bei denen die jeweilige Höhenabnahme in mm auf der Ordinate abgelesen werden kann. Jede Farbe entspricht einem HIN- oder RÜCK-Vorgang eines einzelnen tribologischen Tests. Das nahezu spiegelbildliche Muster zeigt eine weitgehende Übereinstimmung in der Höhenabnahme zwischen HIN und RÜCK.

Es konnte gezeigt werden, dass während der 1108 Zyklen kein signifikanter Unterschied in der Höhenabnahme in mm zwischen HIN und RÜCK bei Knorpelproben von jungen Kniegelenken nachgewiesen werden konnte, $t(46) = 0,69$, $p = 0,4960$ (Abb. 42, Tab. 26).

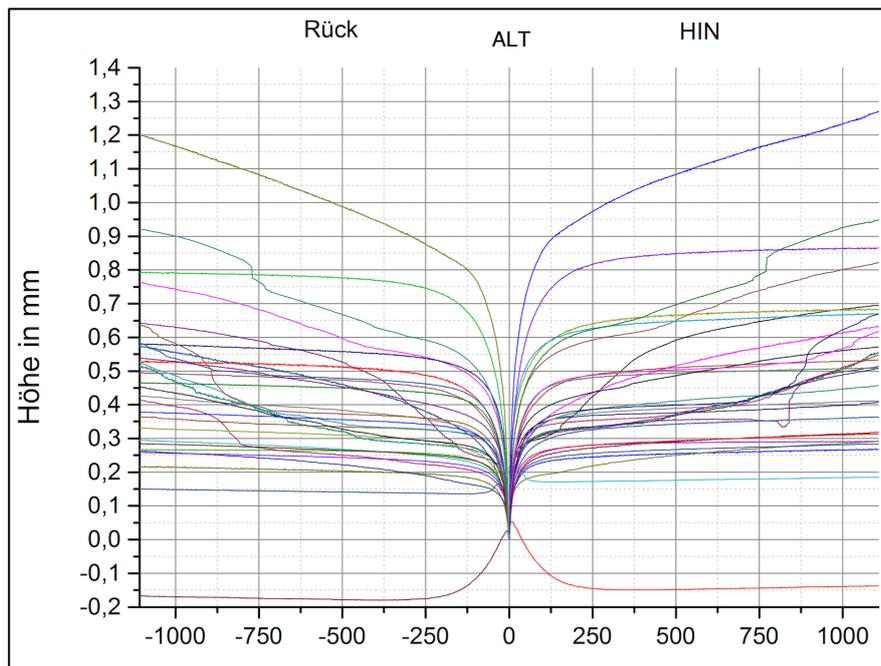


Abbildung 43: Volcano-Plot analog zur Abbildung 42. Hier ist – wie in der Gruppe jung - ein spiegelbildliches Muster zu erkennen, was für eine weitgehende Übereinstimmung in der Höhenabnahme zwischen HIN und RÜCK steht.

In der Gruppe Kniegelenke ALT konnte nachgewiesen werden, dass es nach 1108 Zyklen keinen signifikanten Unterschied zwischen HIN und RÜCK in dieser Gruppe gab, $t(58) = 0,69$, $p = 0,4988$ (Abb. 42, Tab. 26).

3.5.2 Messung der Höhenabnahme in Millimetern - Knorpelproben Gruppe JUNG

Bei 14 jungen Kniegelenken konnten Daten für insgesamt 24 tribologische Versuche ausgewertet werden. Diese unterteilten sich in 11 mediale und 13 laterale Versuchsläufe. Das Fehlen einer ausbalancierten, homogenen Gruppe, bei der die Anzahl medialer und lateraler Versuche übereinstimmte, rührte daher, dass nicht bei allen Vollständigkeit und somit Genauigkeit der Datensätze über die Dauer der kompletten 1108 Zyklen garantiert werden konnte. Teils war lediglich ein Teil der 1108 Zyklen aufgezeichnet worden, teils fand über den kompletten Versuchslauf keine Aufzeichnung statt.

Die Werte der jeweiligen absoluten Höhenabnahme in mm sind für die Gruppe der jungen Kniegelenke in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

<u>Schweinenummer</u>	<u>Alter: jung/alt</u>	<u>Kompartimentsseite medial/lateral</u>	<u>Höhenabnahme in mm nach 1108 Zyklen</u>
1902	jung	lateral	0,75972
1902	jung	medial	1,02096
1906	jung	lateral	0,56928
1906	jung	medial	0,219375
1967	jung	medial	1,23835
1982	jung	lateral	0,82202
1982	jung	medial	1,086045
1983	jung	lateral	0,557885
1983	jung	medial	0,884415
1984	jung	lateral	0,8576
1984	jung	medial	1,41524
1987	jung	medial	0,72508
1987	jung	lateral	1,146635
1988	jung	lateral	1,006875
1988	jung	medial	1,09515
1996	jung	lateral	0,79666
1996	jung	medial	0,817685
1997	jung	lateral	0,75844
2006	jung	lateral	0,995465
2006	jung	medial	0,932545
2065	jung	lateral	0,96604
2066	jung	lateral	0,448725
2066	jung	medial	0,73689
2067	jung	lateral	0,846175

Tabelle 14: Höhenabnahme von 24 Knorpelbelägen junger Kniegelenke

In der Tabelle 15 einsehbar, ist der Mittelwert der Höhenabnahmen aller junger Knorpelproben 0,86 mm ($SD = 0,26$).

Höhenabnahme in mm Gruppe JUNG					
N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
24	0.22	0.85	0.8626	1.42	0.26

Tabelle 15: Deskriptive Statistik der Höhenabnahme Gruppe JUNG

3.5.3 Vergleich der Höhenabnahme zwischen lateral und medial - JUNG

Innerhalb der Gruppe der jungen Knorpelproben fanden 13 tribologische Tests lateral statt, das heißt, die Reibpartner bestanden aus einem lateralen Pin und seiner korrespondierenden lateralen Plate. Auf der medialen Seite konnten 11 tribologische Tests ausgewertet werden. Die Ergebnisse dieser nach Kompartiment orientierten Versuchsreihe ist aus der nachfolgenden Tabelle 16 ersichtlich.

Höhenabnahme in mm, laterales und mediales Kompartiment JUNG						
Kompartiment medial/lateral	N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
lateral	13	0.45	0.82	0.81	1.15	0.20
medial	11	0.22	0.93	0.92	1.42	0.31

Tabelle 16: Statistik der lateralen und medialen Knorpelhöhenabnahmen an jungen Kniegelenken

Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Höhenabnahme des jungen Knorpels im Kompartimentsvergleich nachweisen, $t(22) = 1,09$, $p = 0,2895$ (Tab. 25).

3.5.4 Messung der Höhenabnahme in Millimetern - Knorpelproben Gruppe ALT

Innerhalb der Gruppe der Knorpelproben ALT wurden 30 tribologische Versuche unternommen, welche 15 Kniegelenken entstammten. Von jedem dieser Kniegelenke konnte der laterale sowie der mediale Versuchslauf aufgezeichnet werden, sodass eine balancierte Gruppensituation hergestellt werden konnte. Die Millimeterangaben des Höhenverlustes dieser Versuche sind, nach Kompartiment getrennt, in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Schweinenummer	Alter: jung/alt	Kompartiment medial/lateral	Höhenabnahme in mm nach 1108 Zyklen
1904	alt	lateral	0,66852
1904	alt	medial	-0,151725
1907	alt	lateral	0,241215
1907	alt	medial	0,616765
1908	alt	lateral	0,53326
1908	alt	medial	0,385765
1909	alt	lateral	0,27927
1909	alt	medial	0,463735
1927	alt	lateral	0,30662
1927	alt	medial	0,27801
1926	alt	lateral	0,34729
1926	alt	medial	0,44214
1985	alt	medial	0,5141
1985	alt	lateral	0,53733
1986	alt	medial	0,53733
1986	alt	lateral	0,16738
2005	alt	lateral	0,47987
2005	alt	medial	0,60521
2007	alt	lateral	0,394715
2007	alt	medial	0,792815
2011	alt	lateral	0,48632
2011	alt	medial	0,624425
2012	alt	lateral	0,27078
2012	alt	medial	0,555315
2020	alt	lateral	0,29907
2020	alt	medial	1,235445
2063	alt	lateral	0,6009
2063	alt	medial	0,93516
2064	alt	lateral	0,65375
2064	alt	medial	0,828895

Tabelle 17: Tabellarische Auflistung der Ergebnisse der Höhenabnahme in der Gruppe der alten Kniegelenke

Die deskriptive Statistik ist in der Tabelle 18 ersichtlich.

Höhenabnahme in mm Gruppe ALT					
N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
30	-0.15	0.50	0.4977	1.24	0.26

Tabelle 18: Statistik der Höhenabnahme Gruppe ALT

Der Knorpelbelag der Plate und des Pins von alten Kniegelenken nahm zusammen um durchschnittlich 0,5 Millimeter ($SD = 0,26$) während eines tribologischen Versuches (nach 1108 Zyklen) ab. Paradox ist der Wert von - 0,15 mm, was impliziert, dass während dieses Versuches die Dicke des Knorpelbelages nicht ab- sondern zunahm. In

der Auswertung dieses einen Versuchsdurchlaufes konnte kein Fehler detektiert werden, daher wurde er in der statistischen Auswertung mitberücksichtigt. Es wird bezüglich dieses Versuchsdurchlaufes auf den Abschnitt 4.2.4 in der Diskussion verwiesen.

3.5.5 Vergleich der Höhenabnahme lateral versus medial – Gruppe ALT

Von den 30 Versuchen teilten sich 15 in mediale und 15 in laterale Versuchsgruppen auf (Tab. 19).

Höhenabnahme in mm laterales und mediales Kompartiment ALT						
Kompartiment medial/lateral	N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
lateral	15	0.17	0.39	0.42	0.67	0.16
medial	15	-0.15	0.56	0.58	1.24	0.31

Tabelle 19: Statistik der lateralen und medialen Knorpelhöhenabnahme der alten Kniegelenke

Analog zu der Versuchsreihe der jungen Knorpelproben konnte auch hier kein signifikanter Unterschied in der Höhenabnahme lateral versus medial bei Kniegelenken der Gruppe ALT festgestellt werden, $t(21) = 1,76$, $p = 0,0926$ (Tab. 26).

3.5.6 Unterschied in der Höhenabnahme zwischen alten und jungen Knorpelproben

Mit einer Differenz von $M = 0,3649$ mm ($SD = 0,26$) nahm der Knorpelbelag von jungen Kniegelenken gegenüber denen der alten Gruppe wesentlich mehr an Höhe im Laufe der tribologischen Testung ab (JUNG: 0,8626 mm versus ALT: 0,4977 mm). Es konnte bestätigt werden, dass dieser Unterschied statistisch als signifikant anzusehen war $t(52) = 5,17$, $p < 0,0001$. Veranschaulicht wurde dies anhand der nachfolgenden Abbildungen 44 und 45 sowie in Tabelle 26.

Aus den Abbildungen 44 und 45 ist die unterschiedliche Progression, mit welcher die Knorpelbeläge ihre Höhen verloren, ersichtlich. Schon ab dem ersten Zyklus nahm der Knorpelbelag der Gruppe JUNG im Mittel mehr an Höhe ab als der von alten Kniegelenken (ersichtlich aus den aufgezeichneten Datensätzen). Im weiteren Verlauf geschah dies in der Gruppe JUNG mit deutlich schnellerer Progredienz als in der Gruppe der alten Gelenke. Zwischen Zyklus 50 und 150 nahm die Geschwindigkeit und der Betrag, mit denen die Knorpelbeläge ihre Höhen entsprechend der Kurven verloren hatten, in beiden Gruppen ab (Abb. 44, 45). Die Steigung der Kurve der Höhenabnahme JUNG und ALT wird deutlich flacher. Die Steigung erreichte jedoch zu keinem Zeitpunkt den Wert von 0 was verdeutlicht, dass der Höhenverlust kontinuierlich bis zum Zyklus 1108 voranschritt. Zur Verdeutlichung wie schnell und um wieviel die Knorpelhöhen in den Anfangs-Zyklen abnahmen, wurde eine Darstellung mit reziproker Skalierung der Zyklus-Achse vorgenommen (Abb. 45).

Wird hingegen die Dynamik der Abnahme der Knorpelhöhe isoliert für eine Gruppe betrachtet, so schritt diese innerhalb der ersten 300 Zyklen der Gruppe ALT schneller fort als in der jungen (Abb. 47). Ersichtlich wird dies in der Abbildung 47 um Zyklusnummer 100. Im weiteren Verlauf nahm die Dynamik der Höhenabnahme in beiden Gruppen ab, wobei ab Zyklus 300 die Gruppe JUNG - relativ zu ihrer absoluten Höhenabnahme - schneller an Höhe abnahm, als in der Gruppe ALT (Abb. 47).

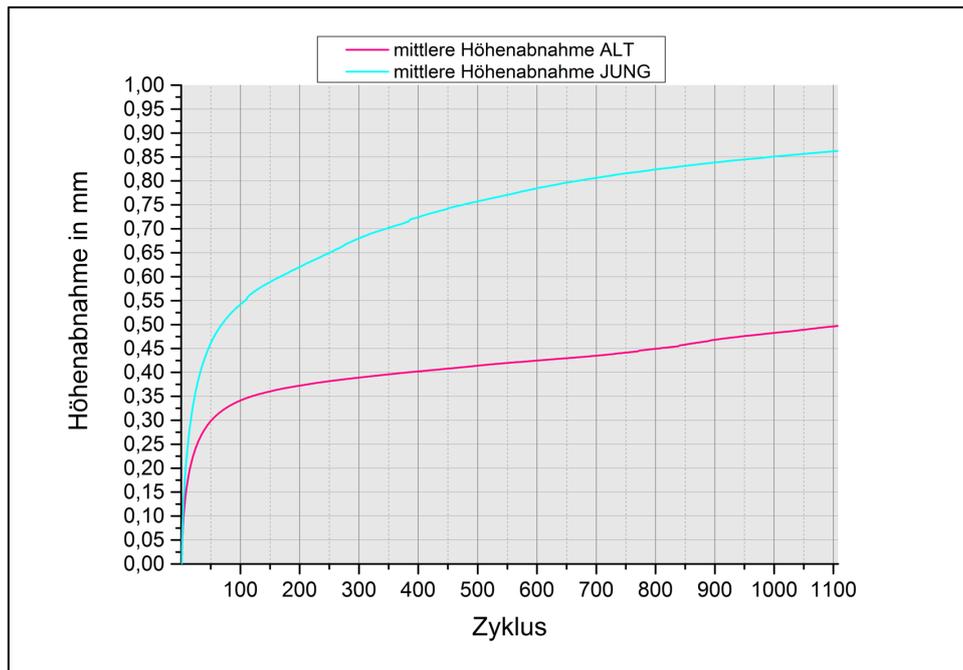


Abbildung 44: Mittlere Höhenabnahme der Gruppe JUNG (cyan) und ALT (pink) über den Verlauf von 1108 Zyklen. Die unterschiedliche absolute Höhenabnahme der jeweiligen Gruppe, auf die sich die Werte der Statistik beziehen, werden ersichtlich bei der Betrachtung des Zyklus 1108 (Ende des Durchlaufs).

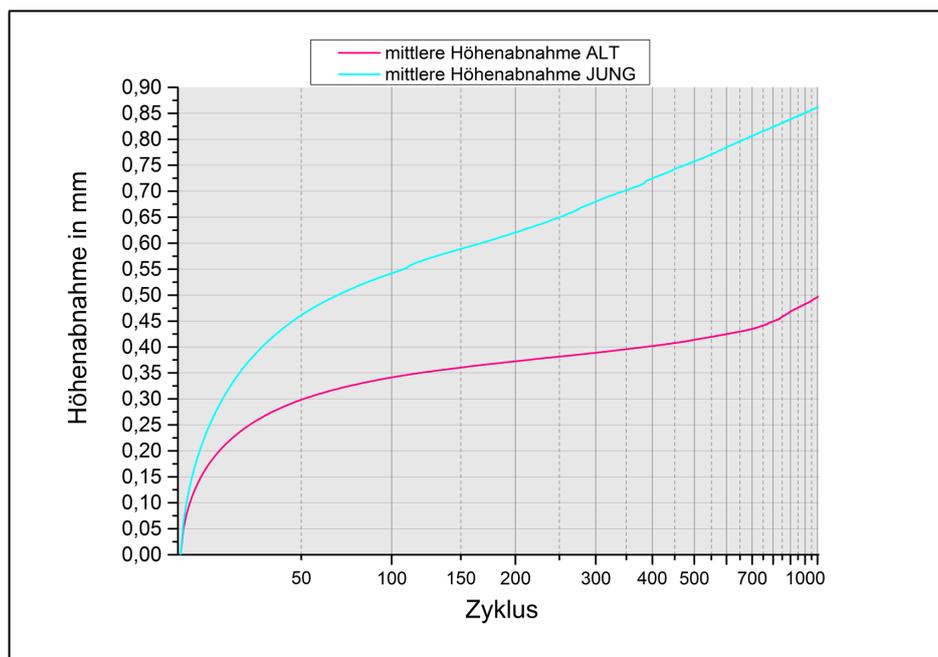


Abbildung 45: Die Skalierung der Anfangszyklen wurde zur besseren Darstellbarkeit der mittleren Höhenabnahme Gruppe ALT (pink) und Gruppe JUNG (cyan) zu Beginn der tribologischen Testung (Zyklen 0 – 200) anders dargestellt. Die Diskrepanz in der Höhenabnahme zwischen beiden Gruppen während der ersten 50 Zyklen wird hier ersichtlich.

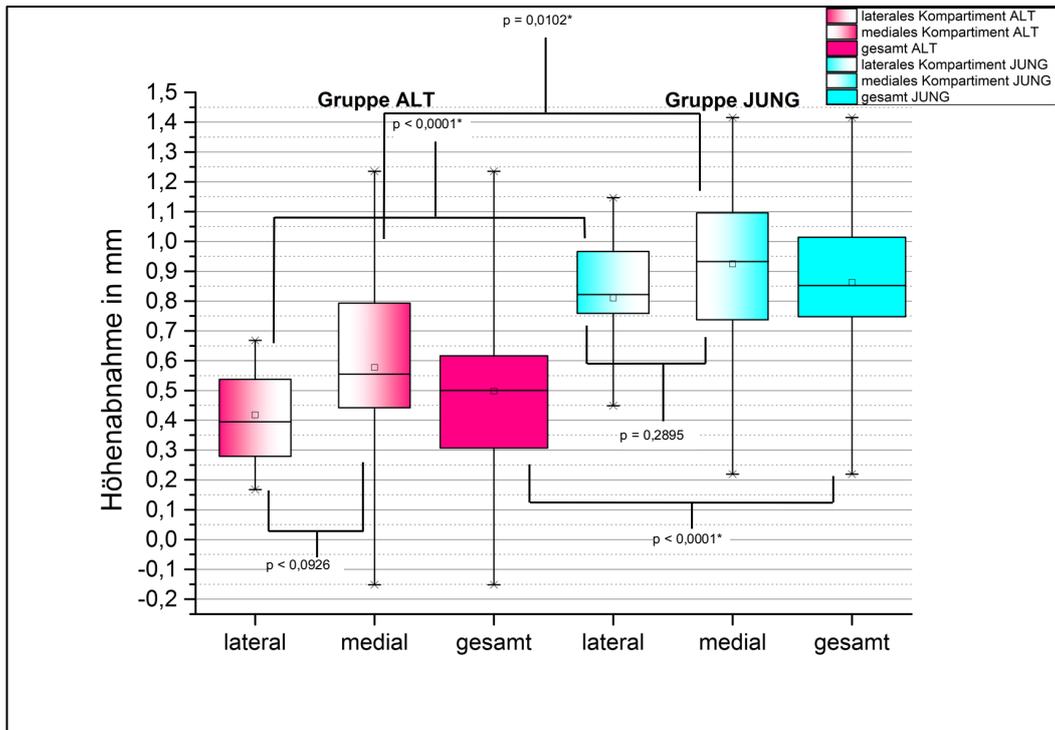


Abbildung 46: Streuungsmaße der absoluten Höhenabnahmen nach 1108 Zyklen der Gruppe ALT (pink) und Gruppe JUNG (cyan). Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

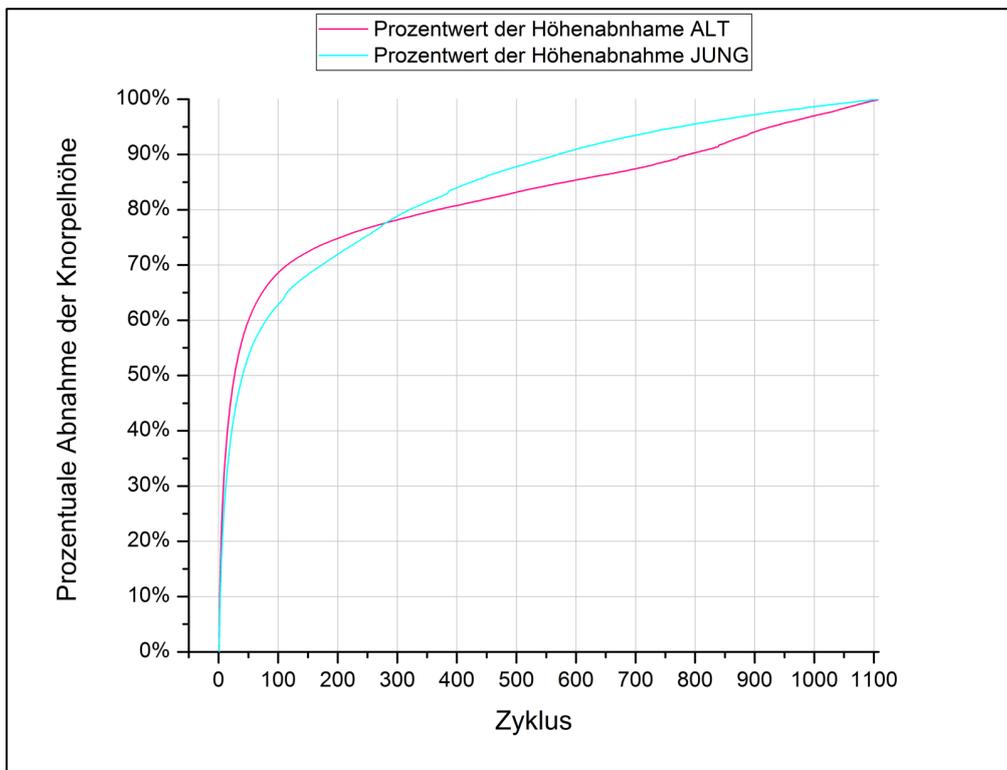


Abbildung 47: Prozentuale Höhenabnahme über den Verlauf von 1108 Zyklen bei altem versus jungem Knorpel. Tendenziell ist bei absolut geringer Knorpelhöhenminderung der relative Verlust an Knorpelhöhe (ALT) in den frühen Zyklusphasen höher als bei Knorpel JUNG. Gut sichtbar ist dieses Phänomen um Zyklus 100, an welchem Gruppe JUNG erst wenig mehr als 60% und ALT schon wenig unter 70% seiner Knorpelsubstanz verloren hat.

3.5.7 Vergleich der Kompartimente medial/lateral zwischen den Gruppen JUNG/ALT

Anhand des Vergleiches der medialen Kompartimente der Gruppe ALT mit denen der Gruppe JUNG ließ sich feststellen, dass es bezogen auf die Mittelwerte der beiden Gruppen einen statistisch signifikanten Unterschied gab, $t(24) = 2,79$, $p = 0,0102$ (Tab. 26).

Auf der anderen – lateralen – Seite war ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen den vergleichenden Versuchen an Knorpel der Gruppe JUNG versus ALT nachzuweisen (Abb. 46), $t(26) = 5,81$, $p < 0,0001$ (Tab. 26).

3.6 Auswertung der Daten des Kraftsensors

Die vom Kraftsensor aufgezeichneten auf die Knorpelproben wirkenden Kräfte, gemessen in Newton [N], wurden konstant über die Dauer der 1108 Zyklen mit einer Messfrequenz von 1kHz aufgezeichnet. Die nachfolgenden Werte entsprechen den Durchschnittswerten der Kräfte je Zyklus, die über die Dauer aller insgesamt 1108 Zyklen auf die beiden Reibpartner durchschnittlich aufgebracht wurde. Korrespondierend zu den Versuchen, bei denen die Höhenabnahme bestimmt wurde, konnten gleichzeitig zu der Höhenabnahme die auf die Proben wirkenden Kräfte aufgezeichnet werden. Es sind Normalkräfte von insgesamt 53 tribologischen Versuchsläufen aufgezeichnet worden. 29 dieser Tests sind an alten und 24 an jungen Knorpelproben realisiert worden. Die Diskrepanz zur Anzahl der makro- und histologisch ausgewerteten Proben sowie zur Anzahl der Proben, bei welchen die Höhenabnahme gemessen wurde, erklärt sich durch eine unvollständige Aufzeichnung der Daten. Diese beruht auf technischen Fehlern, wie zum Beispiel die unvollständige Aufzeichnung der Normalkräfte über die gesamten 1108 Zyklen.

3.6.1 Unterschied in der Kraftaufbringung zwischen HIN und RÜCK

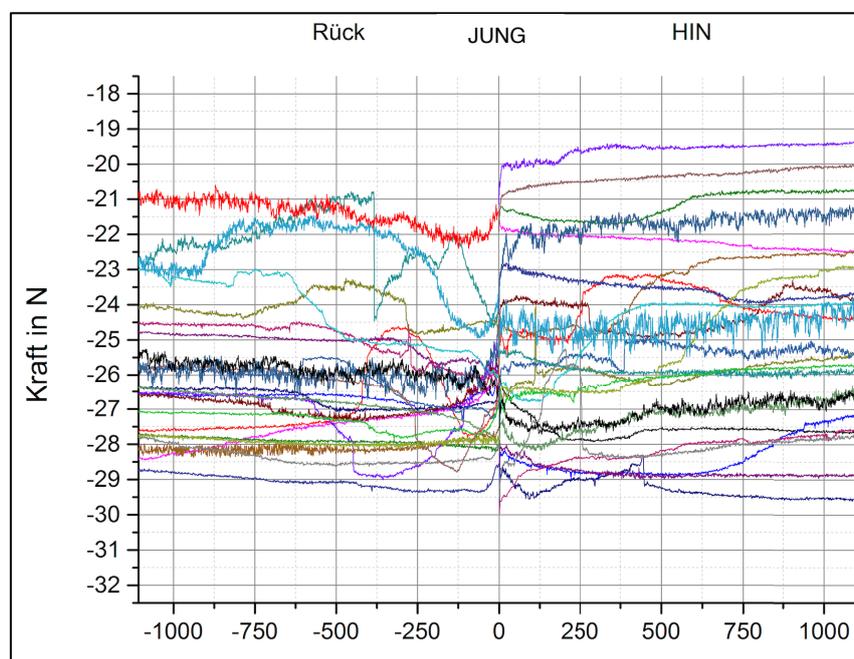


Abbildung 48: Volcano-Plot zur grafischen Gegenüberstellung der Kraft in N zwischen HIN und RÜCK in der Gruppe JUNG ($n = 24$). Auf der Abszisse sind die Zyklusnummern aufgetragen, bei denen die jeweiligen Kräfte auf der Ordinate abgelesen werden können. Jede Farbe entspricht einem HIN oder RÜCK eines einzelnen tribologischen Test.

Es konnte gezeigt werden, dass es bezogen auf die Versuche an jungen Knorpelproben keinen signifikanten Unterschied in der Kraftaufbringung beim Abfahren des Pins zwischen HIN und RÜCK gab ($t(46) = 1,67$, $p = 0,1016$ (Tab. 26)).

Aufgrund dessen wurden in der Gruppe JUNG zur weiteren Auswertung die Durchschnittswerte von HIN und RÜCK des jeweiligen Zyklus verwendet.

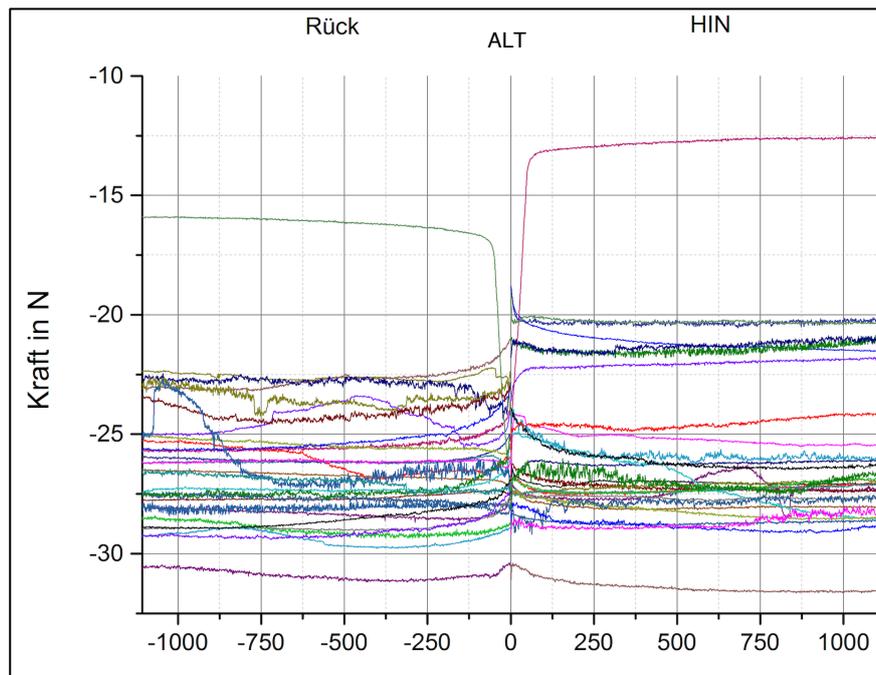


Abbildung 49: Analog zur Abbildung 48 erfolgt die grafische Gegenüberstellung der Kraft in der Gruppe ALT mittels Volcano-Plot.

Auch in der Gruppe ALT konnte gezeigt werden, dass kein signifikanter Unterschied zwischen HIN und Rück in der Kraftaufbringung nachgewiesen werden konnte, weswegen auch hier sich der Kraftwert eines Zyklus aus dem Durchschnitt zwischen HIN und RÜCK errechnete, $t(56) = 0,55$, $p = 0,5813$ (Tab. 26).

3.6.2 Messung der Kraft - Knorpelproben Gruppe JUNG

Es konnten Kraftwerte von 24 Versuchen aus der Gruppe JUNG aufgezeichnet werden, welche insgesamt aus 14 Kniegelenken entstammten. Davon entfielen 11 auf mediale und 13 auf laterale Versuche. Auch hier bestand (wie bei der Höhenaufzeichnung) der Grund der nicht ausbalancierten Gruppe in der teils unvollständigen Aufzeichnung der Daten. Diese beruht wie unter Abschnitt 3.6 beschrieben auf technischen Fehlern.

Schweinenummer	Alter: jung/alt	Kompartiment medial/lateral	Kraft in N über 1108 Zyklen
1902	jung	lateral	-27,24
1902	jung	medial	-25,36
1906	jung	lateral	-27,95
1906	jung	medial	-25,05
1967	jung	medial	-23,94
1982	jung	lateral	-28,26
1982	jung	medial	-22,35
1983	jung	lateral	-27,84
1983	jung	medial	-24,17
1984	jung	lateral	-26,04
1984	jung	medial	-23,84
1987	jung	medial	-26,98
1987	jung	lateral	-25,42
1988	jung	lateral	-25,57
1988	jung	medial	-26,2
1996	jung	lateral	-26,85
1996	jung	medial	-25,73
1997	jung	lateral	-26,67
2006	jung	lateral	-27,16
2006	jung	medial	-23,6
2065	jung	lateral	-24,9
2066	jung	lateral	-25,27
2066	jung	medial	-23,77
2067	jung	lateral	-24,23

Tabelle 20: Tabellarische Auflistung der Ergebnisse von Kraftaufzeichnungen der Gruppe JUNG.

Die auf die jungen Knorpelproben über die Dauer von 1108 Zyklen durchschnittlich aufgebrauchte Kraft betrug $M = 25,6$ N ($SD = 1,57$).

Kraft Gruppe JUNG					
N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
24	22.35	24.49	25.60	28.26	1.57

Tabelle 21: Deskriptive Statistik der Kraftaufbringung Gruppe JUNG

3.6.3 Vergleich der Kraft zwischen lateral und medial – JUNG

Anhand des Vergleiches zwischen der auf das laterale und das mediale Kompartiment wirkenden Kräfte in der Gruppe JUNG konnte ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen festgestellt werden, $t(22) = 3,31$, $p = 0,00315$ (Tab. 26). Demnach war die Kraftaufbringung während der lateral-seitigen Versuche um $M = 1,78$ N höher als medial-seitig (Abb. 51).

Kraft im lateralen und medialem Kompartiment JUNG						
Kompartiment medial/lateral	N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
lateral	13	24,23	26,67	26.42	28,26	1.28
medial	11	22,35	24,17	24.64	26,98	1.35

Tabelle 22: Deskriptive Statistik der auf die Proben wirkenden Kräfte, aufgeteilt nach der lateralen bzw. medialen Kompartimentsseite

3.6.4 Messung der Kraft - Knorpelproben Gruppe ALT

Aufgezeichnet wurden Kraftdaten von 29 Versuchsdurchläufen. Diese bestanden aus 15 Kniegelenken, wobei bei einem Test - 1986 medial - keine Werte gespeichert werden konnten. Die Kraftwerte finden sich in der Tabelle 23.

Schweinenummer	Alter: jung/alt	Kompartiment medial/lateral	Kraft in N über 1108 Zyklen
1904	alt	lateral	-25,76
1904	alt	medial	-27,81
1907	alt	lateral	-24,4
1907	alt	medial	-23,89
1908	alt	lateral	-24,75
1908	alt	medial	-26,18
1909	alt	lateral	-24,38
1909	alt	medial	-28,16
1927	alt	lateral	-26,34
1927	alt	medial	-27,2
1926	alt	lateral	-27,38
1926	alt	medial	-26,39
1985	alt	medial	-28,45
1985	alt	lateral	-24,98
1986	alt	lateral	-14,77
2005	alt	lateral	-28,15
2005	alt	medial	-24,02
2007	alt	lateral	-28,37
2007	alt	medial	-26,86
2011	alt	lateral	-28,33
2011	alt	medial	-23,21
2012	alt	lateral	-26,59
2012	alt	medial	-25,38
2020	alt	lateral	-27,58
2020	alt	medial	-27,72
2063	alt	lateral	-26,45
2063	alt	medial	-26,08
2064	alt	lateral	-26,54
2064	alt	medial	-24,14

Tabelle 23: Ergebnisse der Kraftauswertung über 1108 Zyklen Gruppe ALT

Die auf die Knorpelproben Gruppe ALT über die Dauer von 1108 Zyklen durchschnittlich aufgebrauchte Kraft betrug $M = 25,87 \text{ N}$ ($SD = 2,63$) (Abb. 51).

Kraft Gruppe ALT					
N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
29	14.77	26.39	25.87	28.45	2.63

Tabelle 24: Deskriptive Statistik der mittleren Kraftaufbringung Gruppe ALT

3.6.5 Vergleich der Kraft zwischen lateral und medial – ALT

Anhand dieses Gruppenvergleichs konnte in der Kraftaufbringung zwischen lateralem und medialem Kompartiment kein signifikant erfassbarer Unterschied festgestellt werden, $t(21) = 0,23$, $p = 0,8228$ (Abb. 51, Tab. 26).

Kraft im lateralen und medialem Kompartiment ALT						
Kompartimentsseite medial/lateral	N	Minimum	Median	Mittelwert	Maximum	Standardabweichung
lateral	15	14.77	26.05	25.57	28.37	2,93
medial	14	23.21	26.39	25.25	28.45	1.70

Tabelle 25: Deskriptive Statistik der Kraftaufbringung aufgeteilt nach der Kompartimentsseite

3.6.6 Unterschied der Normalkraft zwischen alten und jungen Knorpelproben

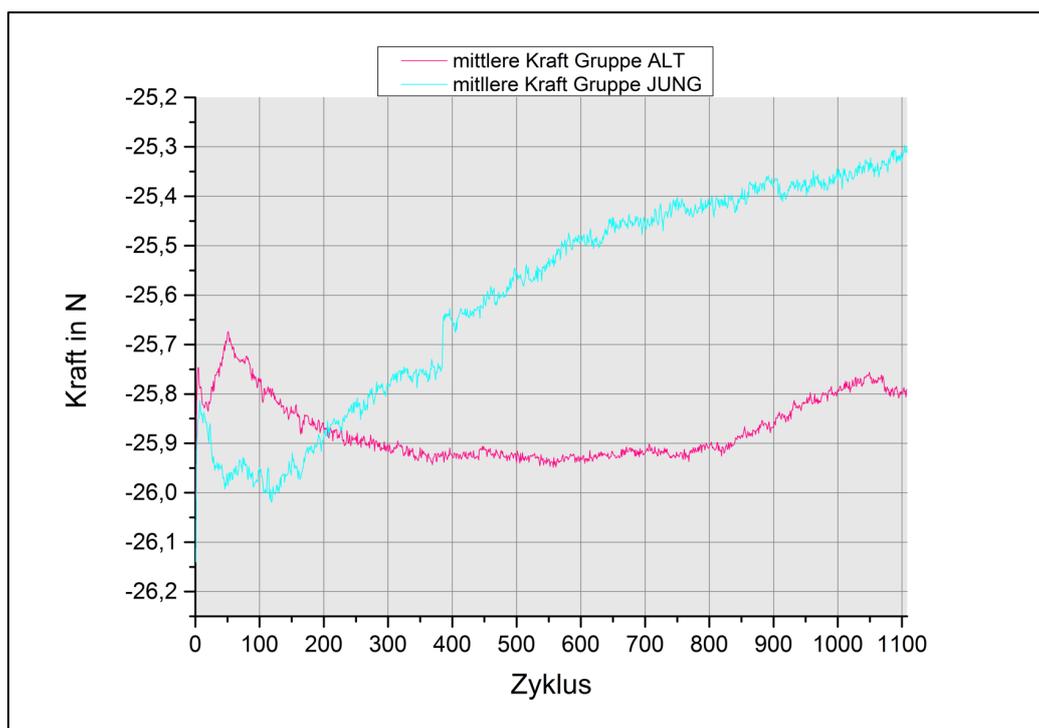


Abbildung 50: Durchschnittliche Kraftaufbringung der Gruppe ALT (rosa) bzw. JUNG (cyan) über den Verlauf von 1108 Zyklen. Aufgrund der feinen Skalierung der Kraftwerte (Ordinate) sind leichte Variationen in beiden Gruppen über die Gesamtanzahl der 1108 Zyklen sichtbar. Diese befinden sich in einem definierten Bereich von 1N.

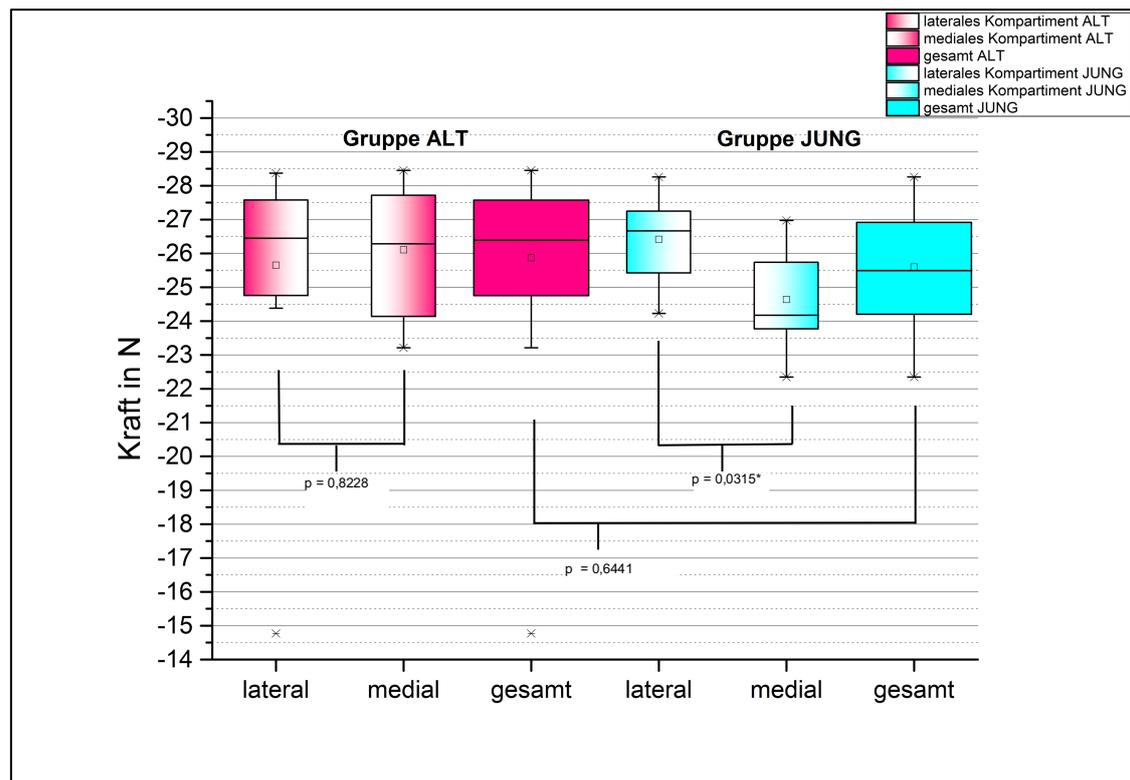


Abbildung 51: Boxplotdiagramm der Kraftaufbringung lateral sowie medial, je nach Gruppenzugehörigkeit ALT/JUNG. Die mit einem Stern markierten Werte wurden als statistisch signifikant definiert.

Auf die Reibpartner der alten Knorpelproben wurden im Mittel 0,2716 N (Wert alt – Wert Jung) mehr aufgebracht, als auf junge. Diese Differenz war statistisch als nicht signifikant anzusehen ($t(47) = 0,46$, $p = 0,6441$) (Abb. 51, Tab. 25).

Der Mittelwert der durchschnittlichen Kraftaufbringung JUNG und ALT betrug 25,74. Dieser Wert wurde als Kraftaufbringung auf die Proben beider Gruppen definiert (Abb. 51).

3.6.7 Vergleich der Kompartimente medial/lateral zwischen den Gruppen JUNG/ALT

Ein Vergleich zwischen den medialen Kompartimenten der Gruppe ALT mit denen der Gruppe JUNG ließ sich feststellen, dass es bezogen auf die Mittelwerte der beiden Gruppen einen statistisch signifikanten Unterschied gab, ($t(28) = 2,69$, $p = 0,01186$).

Auf der anderen – lateralen – Seite war kein signifikanter Unterschied zwischen lateralem Versuch JUNG und lateralem Versuch ALT nachzuweisen, ($t(31) = 0,98$, $p = 0,33498$) (Abb. 51, Tab. 26).

3.7 Übersicht der verschiedenen Vergleiche mit dazugehörigen Signifikanzwerten

Die im fortlaufenden Text zwischen den Kapitel 3.1 und 3.6 erwähnten Gruppenvergleiche mit ihren dazugehörigen Signifikanzwerten wurden in der Tabelle 26 aufgeführt.

Abbildung bzw. Tabelle	Score	Zeitpunkt / Vergleich	Gruppe 1	Gruppe 2	p-Wert
30	Kellgren & Lawrence	prätrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p = 0,0002
31	ICRS	prätrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p < 0,0001
31	ICRS	posttrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p = 0,0992
31	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Jung gesamt	Jung gesamt	p < 0,0001
31	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Alt gesamt	Alt gesamt	p < 0,0001
33	ICRS	prätrib	Alt medial	Alt lateral	p = 0,0139
33	ICRS	prätrib	Jung medial	Jung lateral	p = 0,2214
33	ICRS	posttrib	Alt medial	Alt lateral	p = 0,0047
33	ICRS	posttrib	Jung medial	Jung lateral	p = 0,2393
33	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Jung lateral	Jung lateral	p = 0,0001
33	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Jung medial	Jung medial	p = 0,0001
33	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Alt lateral	Alt lateral	p = 0,0045
33	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Alt medial	Alt medial	p = 0,0021
34	ICRS	prätrib	Alt femoral	Alt tibial	p = 0,7826
34	ICRS	prätrib	Jung femoral	Jung tibial	p < 0,0001
34	ICRS	posttrib	Alt femoral	Alt tibial	p = 0,6207
34	ICRS	posttrib	Jung femoral	Jung tibial	p < 0,0001
34	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Jung femoral	Jung femoral	p < 0,0001
34	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Jung tibial	Jung tibial	p < 0,0001
34	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Alt femoral	Alt femoral	p < 0,0229
34	ICRS	prä- vs. post tribologisch	Alt tibial	Alt tibial	p < 0,0001
-	Körperseite ICRS	rechts vs. links	Alt rechts	Alt links	p = 0,0522
-	Körperseite ICRS	rechts vs. links	Jung rechts	Jung links	p = 0,8474
35	Little et al.	prätrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p < 0,0001
35	Little et al.	posttrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p = 0,0006
35	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Alt gesamt	Alt gesamt	p = 0,0242
35	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Jung gesamt	Jung gesamt	p = 0,0003
37	Little et al.	prätrib	Alt medial	Alt lateral	p = 0,0642
37	Little et al.	prätrib	Jung medial	Jung lateral	p = 0,3149

37	Little et al.	posttrib	Alt medial	Alt lateral	p = 0,0635
37	Little et al.	posttrib	Jung medial	Jung lateral	p = 0,5779
37	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Alt medial	Alt medial	p = 0,0597
37	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Alt lateral	Alt lateral	p = 0,1905
37	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Jung medial	Jung medial	p = 0,0101
37	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Jung lateral	Jung lateral	p = 0,0098
38	Little et al.	prätrib	Alt femoral	Alt tibial	p = 0,5433
38	Little et al.	prätrib	Jung femoral	Jung tibial	p < 0,0001
38	Little et al.	posttrib	Alt femoral	Alt tibial	p = 0,8477
38	Little et al.	posttrib	Jung femoral	Jung tibial	p < 0,0001
38	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Alt femoral	Alt femoral	p = 0,0597
38	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Alt tibial	Alt tibial	p = 0,1861
38	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Jung femoral	Jung femoral	p = 0,1712
38	Little et al.	prä- vs. post tribologisch	Jung tibial	Jung tibial	p < 0,0001
-	Körperseite Little et al.	rechts vs. links	Alt rechts	Alt links	p = 0,0245
-	Körperseite Little et al.	rechts vs. links	Jung rechts	Jung links	p = 0,7803
39	adaptierter Little	prätrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p < 0,0001
39	adaptierter Little	posttrib	Jung gesamt	Alt gesamt	p = 0,5621
39	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Alt gesamt	Alt gesamt	p = 0,0169
39	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Jung gesamt	Jung gesamt	p < 0,0001
40	adaptierter Little	prätrib	Alt medial	Alt lateral	p = 0,0538
40	adaptierter Little	prätrib	Jung medial	Jung lateral	p = 0,2494
40	adaptierter Little	posttrib	Alt medial	Alt lateral	p = 0,1013
40	adaptierter Little	posttrib	Jung medial	Jung lateral	p = 0,4160
40	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Alt medial	Alt medial	p = 0,0581
40	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Alt lateral	Alt lateral	p = 0,1329
40	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Jung medial	Jung medial	p = 0,0016
40	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Jung lateral	Jung lateral	p = 0,0003
41	adaptierter Little	prätrib	Alt femoral	Alt tibial	p = 0,7403
41	adaptierter Little	prätrib	Jung femoral	Jung tibial	p = 0,5147
41	adaptierter Little	posttrib	Alt femoral	Alt tibial	p = 0,6829
41	adaptierter Little	posttrib	Jung femoral	Jung tibial	p < 0,0001
41	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Alt femoral	Alt femoral	p = 0,0937
41	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Alt tibial	Alt tibial	p = 0,0854
41	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Jung femoral	Jung femoral	p = 0,6069
41	adaptierter Little	prä- vs. post tribologisch	Jung tibial	Jung tibial	p < 0,0001
-	adaptierter Little	rechts vs. links	Alt rechts	Alt links	p = 0,0233

-	adaptierter Little	rechts vs. links	Jung rechts	Jung links	p = 0,8790
42	Höhenabnahme in mm	Hin vs. Rück	Jung hin	Jung rück	p = 0,4960
43	Höhenabnahme in mm	Hin vs. Rück	Alt hin	Alt rück	p = 0,4988
46	Höhenabnahme in mm	lateral vs. medial	Jung lateral	Jung medial	p = 0,2895
46	Höhenabnahme in mm	lateral vs. medial	Alt lateral	Alt medial	p = 0,0926
46	Höhenabnahme in mm	Jung vs. Alt	Jung gesamt	Alt gesamt	p < 0,0001
46	Höhenabnahme in mm	Jung vs. Alt	Alt medial	Jung medial	p = 0,0102
46	Höhenabnahme in mm	Jung vs. Alt	Alt lateral	Jung lateral	p < 0,0001
48	Kraft in Newton	Hin vs. Rück	Jung hin	Jung rück	p = 0,1016
49	Kraft in Newton	Hin vs. Rück	Alt hin	Alt rück	p = 0,5813
51	Kraft in Newton	während Tribo	Jung medial	Jung lateral	p = 0,0315
51	Kraft in Newton	während Tribo	Alt medial	Alt lateral	p = 0,8228
51	Kraft in Newton	während Tribo	Jung gesamt	Alt gesamt	p = 0,6441
51	Kraft in Newton	während Tribo	Jung medial	Alt medial	p = 0,01186
51	Kraft in Newton	während Tribo	Jung lateral	Alt medial	p = 0,33498

Tabelle 26: Auflistung der verschiedenen Gruppenvergleiche mit dazugehörigen Signifikanzwerten. Werte, die als statistisch signifikant definiert wurden, sind gelb markiert.

3.8 Beziehung zwischen der Höhenabnahme in mm und den Scores

Um einen wechselseitigen Zusammenhang zwischen der Zielvariable „Höhenabnahme in mm“ und den verschiedenen Scores herzustellen, wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman sowie Pearson durchgeführt.

Im Zuge der Spearman-Korrelationsanalyse wurde die Variable der „Höhenabnahme in mm“ der Gruppen ALT zusammen mit JUNG dabei mit folgenden anderen sieben Variablen korreliert:

- Röntgen-Score K&L nach Kompartimenten
- prä-tribologischer ICRS-Score
- post-tribologischer ICRS-Score
- Histologie-Score nach Little - Kontrollen
- Histologie-Score nach Little – Reibungsproben
- adaptierter Histologie-Score Kontrollen
- adaptierter Histologie-Score Reibungsproben

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind - bezogen auf die Gruppe ALT und JUNG - in der nachfolgenden Tabelle 27 aufgeführt.

Spearman'sche Korrelationskoeffizienten, N = 55 Prob > r unter H0: Rho=0		
Korrelationskoeffizienten zwischen der Höhenabnahme des Knorpels und:	Koeffizient r_s	p-Wert
Röntgenscore	-0,38146	0,0041
prä-tribologischer ICRS-Score	-0,55237	< 0,0001
post-tribologischer ICRS-Score	0,07152	0,6038
prä-tribologischer (Kontrollen) Histologiescore nach Little	-0,46776	0,0003
post-tribologischer Histologiescore nach Little	-0,16972	0,2154
prä-tribologischer (Kontrollen) Histologiescore nach adaptiertem Little-Score	-0,25407	0,0612
post-tribologischer Histologiescore nach adaptiertem Little-Score	0,19290	0,1582

Tabelle 27: Auflistung der Korrelationen nach Spearman. Die gelb hinterlegten Werte entsprechen einem signifikanten Ergebnis

Die Korrelationsanalyse nach Spearman zeigte einen negativen Zusammenhang ($r_s = 0,38$, $p = 0,0041$) von Röntgenscore und dem Betrag der Höhenabnahme des Knorpels während der tribologischen Tests. Ebenfalls negativ korreliert sind die Ergebnisse zwischen dem prätribologischen ICRS-Scoring ($r_s = 0,55$, $p < 0,0001$) sowie den „prätribologisch“ (Syn. Kontrolle) nach Little et al. [251] untersuchten histologischen Präparate ($r_s = 0,46$, $p = 0,0003$).

Im Zuge der Pearson-Korrelationsanalyse wurde die Variable der „Höhenabnahme in mm“ mit der Variablen der „Kraft in N“ korreliert, jeweils Gruppe JUNG und ALT. Die zwei Variablen korrelierten nicht signifikant miteinander $r = 0,08029$, $p = 0,5677$.

3.9 Einfluss verschiedener Variablen auf die Höhenabnahme

Um zu untersuchen ob einem einzelnen Faktor oder mehreren im Zusammenspiel ein Einfluss auf die abhängige Variable „Höhenabnahme in mm“ zugeschrieben werden konnte, wurde eine multivariaten Varianzanalyse (MANOVA) durchgeführt. Die Grundlage dieser Formel lautete:

Δ Höhe = Kraft + Histologie-Wert (Little-Score [251] des Pins und der Plate des jeweiligen Triboversuches) + Pin (Little-Score [251] des jeweiligen Pins) + Plate (Little-Score Wert der jeweiligen Plate) + Kraft (N) x Little-Scorewert [251] + Kraft x Pin + Kraft x Plate.

Die Scorewerte bezogen sich hierbei immer auf die der Kontrollen.

Aus dieser Analyse ergab sich ein signifikanter Einfluss des Little-Scorewertes des Pins auf die Höhenabnahme. Zudem konnte eine signifikante Interaktion des Little-Scorewertes des Pins in Kombination mit der Kraft auf die Höhenabnahme gezeigt werden (Tab. 28).

Parameter	Schätzwert	Standardfehler	t-Wert	Pr > t
Kraft in N	-0.011578182	0.06636036	-0.17	0.8623
Little-Score der beiden Reibpartner	1.242875072	0.75190962	1.65	0.1053
Pin Little-Score	-1.580239378	0.69009653	-2.29	0.0268
Plate Little-Score	-0.887171751	0.82893643	-1.07	0.2902
Kraft*Reibpartner-Little-Score	0.047507060	0.02846780	1.67	0.1021
Kraft in N * Pin-Little-Score	-0.059676381	0.02578798	-2.31	0.0253
Kraft in N * Plate-Little-Score	-0.032559676	0.03167972	-1.03	0.3095

Tabelle 28: Ergebnisse der multivariaten Analyse. Gelb hinterlegte Werte wurden als signifikant definiert.

Zur grafischen Darstellung der Ergebnisse dient die folgende Abbildung 52.

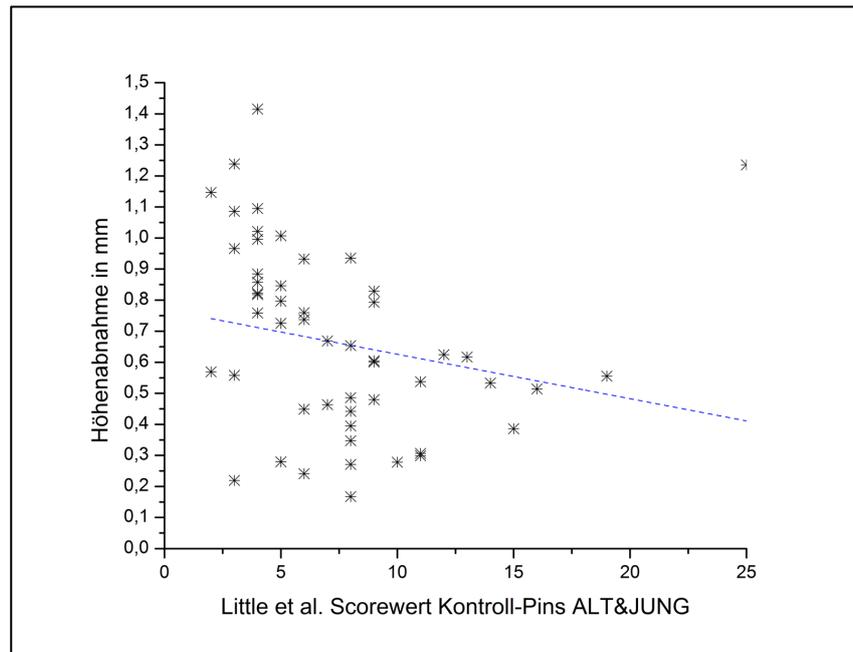


Abbildung 52: Beziehung der Höhenabnahme des Knorpels und dem Scorewert der Kontroll-Pins. Jeder Stern entspricht einem Little-Scorewert eines Kontroll-Pins mit der zu diesem tribologischen Versuch aufgezeichneten Höhenabnahme in mm. Mittels linearer Trendfunktion (blau gestrichelte Linie) konnte diese - negativ verlaufende - Beziehung dargestellt werden.

4 DISKUSSION

Vor dem Hintergrund der steigenden Prävalenz von osteoarthrotischen Erkrankungen ist die Erforschung der biomechanischen Eigenschaften des Knorpels ein dringliches Anliegen. Die Osteoarthrose des Gelenkknorpels bedingt eine Änderung des tribologischen Verhaltens des Knorpels [252]. Zum Verständnis dieser Änderung - und somit der Erkrankung generell - ist es sinnvoll, die tribologischen Eigenschaften des arthrotischen Knorpels mit dem des normalen zu vergleichen [252].

Der Fokus dieser Dissertation liegt auf der Beschreibung eines unterschiedlichen Abriebverhaltens, welches durch eine tribologische Testung verursacht wurde.

Für die Testung wurden Kniegelenke aus dem örtlichen Schlachthof bezogen und der Knorpelbelag mittels verschiedener, zur Einteilung der Osteoarthrose geeigneter, visueller Scores [180, 242, 251] untersucht.

Die in eine Gruppe ALT (osteoarthrotisch) und Gruppe JUNG (arthrosefrei) aufgeteilten Knorpelproben wurden in einem präzise messenden, tribologischen Prüfstand mechanisch untersucht und das biomechanische Verhalten - gemessen an der Höhenabnahme in Millimetern - miteinander verglichen. Eine anschließende zweite Evaluation der Proben ermöglichte anhand von verschiedenen Scores einen visuellen Vergleich, der durch die Versuche stattgehabten Effekte.

Da bisher keine vergleichbare Arbeit gefunden wurde, könnten die Ergebnisse dieser Dissertation neue Einblicke in die Biomechanik und Morphologie des hyalinen Knorpels liefern und somit das Verständnis für die Osteoarthrose fördern.

4.1 Diskussion: Material und Methodik

4.1.1 Das Schwein als Spender des Probenmaterials

Die in vivo Analyse der biomechanischen Eigenschaften hyalinen Knorpels impliziert hohe praktische und ethische Herausforderungen [253]. Aus diesem Grund bedient sich die Wissenschaft Modelle, die aus Versuchen - häufig an Tieren - Ergebnisse aus der Osteoarthroseforschung ermöglicht und ableitet.

In der Literatur finden sich viele Beschreibungen von Tiermodellen in der Osteoarthroseforschung. Die Spezies reichen dabei von Schafen, Schweinen, Ziegen, Pferden, Rindern oder Hunden, wie sie in Großtiermodellen verwendet werden, bis hin zu Kaninchen, Mäusen und Ratten in Kleintiermodellen [186, 253-259]. Ökonomischen Vorteilen sowie der meist besseren Verfügbarkeit der Kleintiere steht die Frage des eingeschränkten Vergleichs zur humanen Knorpelsituation und damit der Anwendung am Menschen gegenüber [253, 257, 260, 261].

Der konsistenten zonalen Architektur des Knorpels innerhalb der Säugetierarten ist es zu verdanken, dass diese Variabilität an Tiermodellen in der Knorpelforschung erst ermöglicht wird [262, 263]. Erwartungsgemäß existieren in einer solch großen Gruppe Unterschiede wie der Vergleich in einer Studie anhand von 58 verschiedenen Säugetierarten zeigen konnte [263]. So hat beispielsweise der Knorpelbelag einer Maus eine

Höhe von „lediglich“ 90 μm im Vergleich zu dem eines afrikanischen Elefanten mit bis zu 3000 μm [263].

Unterscheiden lassen sich nicht nur die verschiedenen Tierarten, sondern auch das verwendete synoviale Gelenk beziehungsweise der Gelenkbereich. Als Beispiele sind hier das quantitativ am häufigsten untersuchte femoro-tibiale Gelenk [258], das Schultergelenk [264], das Sprunggelenk [265] oder Metacarpophalangealgelenk [266] zu nennen.

Aufgrund der heterogenen Erkrankung der Osteoarthritis (Abschnitt 1.2) ist noch kein Goldstandard als Tiermodell gefunden worden, der den Prozess, wie er beim Menschen stattfindet in seiner vollumfänglichen Pathologie abbilden kann [260].

Gewöhnlich werden Großtiermodelle - wie das porcine Modell - bevorzugt, da sie der in vivo Situation beim Menschen am nächsten kommen [261, 267].

Die für diese Dissertation verwendete „Schwäbisch-Hällische Landschwein“ – Rasse gehört, wie das in vielen Studien untersuchte „Göttinger Miniaturschwein“ [268], ebenfalls zur Gattung der Hausschweine - *Sus scrofa domesticus*. Die weiterführende Literaturrecherche bestätigte, dass sich das Schwein als ideales Modelltier in der medizinischen Forschung etabliert hat und sich für Untersuchungen am Knorpel bestens eignet [259, 262, 269, 270]. Zum einen, weil seine anatomische und somit biomechanische Natur dem Menschen nahekommt [261] und zum anderen, weil sich sein Organismus und Metabolismus ebenfalls ähnlich verhält [259, 271]. Überdies zeigt die Literatur, dass nicht nur porcine Kollagene (verglichen mit anderen Spezies) mit denen im humanen hyalinen Knorpel vergleichbar sind [272, 273] [237], sondern auch die Knorpelbelagsdicke an sich [255, 274], was speziell für dieses Projekt von Relevanz ist.

Die vorliegend verwendete Hausschweinerasse weist, bis auf wenige Parameter wie Größe und Gewicht, im Vergleich zum meist verwendeten Göttinger Miniaturschwein wenig Unterschiede auf [275]. Vorteilhaft zudem war die Wahl der Rasse dahingehend, dass durch den unkomplizierten Bezug von Kniegelenken aus dem örtlichen Schlachthof eine uniforme Auswahl an Kniegelenken bezüglich Alter, Größe/Gewicht und veterinärmedizinisch dokumentiertem Gesundheitsstatus möglich war. Die „Schwäbisch-Hällische Landschwein“ – Rasse eignete sich daher als Knorpelprobendonator für diese Arbeit.

Auf den Röntgenaufnahmen (Abschnitt 3.1, Abb. 27) der Kniegelenke Gruppe JUNG ist auffallend, dass die epiphysären Wachstumsfugen noch nicht verschlossen waren. Dies war zum Zeitpunkt der Schlachtung der sechs Monate alten Schweine zu erwarten [255, 259]. Der Verschluss der Epiphysenfugen erfolgt beim Schwein erst nach dem ca. 18. Lebensmonat [276, 277]. Das skelettale Längenwachstum der Röhrenknochen war daher noch nicht vollends abgeschlossen [7]. Für den hyalinen Knorpel des Gelenks bedeutet dies, dass er noch Umbauprozessen unterlag [65, 278].

Bei den Kniegelenken der Gruppe ALT konnte hingegen von einem abgeschlossenen skelettalen Wachstum ausgegangen werden. Die Annahme, bei dieser Gruppe osteoarthrotische Veränderungen identifizieren zu können, stützt sich unter anderem auf Beobachtungen von degenerativen Phänomenen im Kniegelenk bei Zuchtschweinen [236, 279, 280]. Die Ergebnisse dieser Dissertation stützen diese Annahme (Ergebnisteil 3.1.1), denn in dieser Gruppe konnte ein breites Spektrum an osteoarthrotischen Veränderungen festgestellt werden.

4.1.2 Röntgenologische Evaluation der Kniegelenke

Die radiologische Interpretation in Form einer projektionsradiographischen Röntgenbildanalyse stellt nach wie vor eine einfache und kostengünstige Möglichkeit zur Diagnostik und Verlaufskontrolle der Osteoarthrose dar [281]. Als Goldstandard etablierte sich die validierte Einteilung des Schweregrades nach Kellgren und Lawrence [180]. Darüber hinaus existieren noch andere, weniger geläufige radiologisch-deskriptive Arthrose-Graduierungen [180, 282-286].

Auffallend war, dass in Publikationen zwar meist auf die ursprüngliche Veröffentlichung von Kellgren und Lawrence von 1957 verwiesen wird, jedoch häufig Abwandlungen des Scores verwendet werden. Schiphof et al. [287] legten neben anderen dar, dass aufgrund der ungenauen Formulierung in der Original-Veröffentlichung zahlreiche Abwandlungen des Scores existieren [287, 288].

In dieser Dissertation wurde die Original-Beschreibung Kellgren und Lawrences angewendet. Diese bereits 1957 beschriebene und 1961 von der World Health Organization (WHO) anerkannte Klassifikation von Kellgren und Lawrence beruht auf der semiquantitativen Analyse des Ausmaßes der Gelenkdestruktion [281, 289].

Unterteilt wird in fünf Stadien (0 Normalbefund – IV schwere osteoarthrotische Läsionen) zunehmender Destruktion, wobei das Stadium IV das gesamte Spektrum der Pathologie abbildet. Dieses besteht aus:

- osteophytäre Anbauten
- Gelenkspaltverschmälerung
- subchondrale Sklerose
- Deformitäten an den Knochenenden
- Pseudozysten in Gelenkspaltnähe

Die Röntgenbefunde sind hierbei allesamt Ausdruck eines histologischen Pendant. So kann die mehr oder weniger ausgeprägte Verschmälerung des Gelenkspaltes als Indiz für die Knorpeldegeneration gedeutet werden [174, 290]. Ossär manifestiert sich eine reaktive Knochenneubildung, röntgenologisch sichtbar als subchondrale Sklerose sowie eine Knochenproliferation am Gelenkrand, den sogenannten Osteophyten [174]. Gelenknahe Zysten werden durch das Eindringen von Synovialflüssigkeit erklärt. Ohne Frage sind diese Kriterien kritisch zu betrachten, denn ob sie ein genaues Maß für die Ausprägung der Osteoarthrose sind, ist fraglich. Die Annahme, dass eine Reduktion der Gelenkspaltweite direkt mit der Reduktion des Knorpelvolumens korreliert [290], konnte in anderen Studien nicht bestätigt werden [291-293]. Als Beispiel sei hier die Studie von Raynauld et al. [292] genannt, bei der keine röntgenologische Verminderung der Gelenkspaltweite erudierbar war, obwohl mittels MRT ein signifikanter Verlust des Knorpelvolumens stattgefunden hatte. So unterliegt die Bewertung der Röntgenbilder zu einem Großteil auf subjektiven- und projektionsradiographischen Unterschieden [290, 291, 293].

Die Beurteilung der Gelenkspaltweite war während des Projektes ein kritischer Punkt. Aufgrund der Tatsache, dass die Kniegelenke nicht, wie sonst üblich, im Stehen - als Standbeinaufnahme - [294] und vollständig extendiert geröntgt werden konnten (Abschnitt 2.3.1), waren hier eventuell Abweichungen (bspw. Gelenkspalt fälschlicherweise zu weit) in der Punktwertvergabe des Scorings denkbar.

Die Radiologie kann zwar grundlegend hilfreich bei der Beurteilung einer Osteoarthrose sein, allerdings korreliert das Ausmaß der radiologischen Veränderung nicht mit

klinischen Symptomen [287, 295-299]. So konnten beispielsweise Hannan et al. [297] nachweisen, dass bei K&L Grad 2-4 nur 47% der Untersuchten klinische Beschwerden äußerten. Auf der anderen Seite hingegen klagten 15% der Untersuchten über eine klinische Symptomatik, obwohl kein radiologisch erfassbares Korrelat sichtbar war. In unserer Studie waren die Tiere nicht bekannt, daher kann auch keine Aussage über eventuell klinische Beschwerden getroffen werden.

Die intra-observer [300] sowie interrater [150, 284] - Reliabilität wird im K&L - Score als hoch angesehen. Vorliegend wurde durch Messhilfen versucht, subjektive Einflüsse auf die Bewertung gering zu halten. Die Kniegelenke wurden in immer der gleichen Projektionstechnik mit demselben Röntgengerät aufgenommen.

Konventionell radiologisch erhobene Befunde sind im Vergleich zu den mittels MRT erhobenen Befunden durch eine geringe Validität gekennzeichnet [294, 301]. Da die Validität bestimmt wird durch die Sensitivität und Spezifität [302], war die röntgenologischen Auswertung mit Nachteilen behaftet, was in verschiedenen Studien gezeigt werden konnte [303, 304].

Schlussendlich wird der Radiologie in der vorliegenden Diskussion ein wichtiger, aber nicht entscheidender Stellenwert beigemessen. Dies rührt daher, dass sich im Initialstadium befindliche Knorpelläsionen konventionell radiologisch nicht oder nur kaum darstellen lassen, was von zahlreichen Autoren bestätigt wurde [294, 305, 306]. Etwaige Knorpelschäden im Frühstadium könnten daher radiologisch nicht erkannt worden sein.

4.1.3 Die Probenentnahme

Während der Präparation (Abschnitt 2.4) wurde sorgfältig darauf geachtet, dass die Knorpeloberfläche nicht beschädigt wurde. Die Probenentnahme wurde mit den dafür speziell entwickelten Werkzeugen realisiert [307]. Auf der femoralen Seite handelte es sich um ein Pinentnahmewerkzeug, mit Hilfe dessen die zylindrische Knorpelprobe aus dem im Schraubstock fixierten Femur gelöst werden konnte. Hierbei wurde auf ein möglichst orthogrades Aufsetzen des Werkzeugs auf die Knorpeloberfläche geachtet. Naturgemäß ist dies aufgrund der konvexen Krümmung der Kondylen nicht zu 100% möglich gewesen. Dadurch bedingte Messartefakte konnten nicht ausgeschlossen werden. Die orthogonale Probenentnahme ist wichtig, wie Gleghorn et al. [193] darstellen konnten, da die Belastung einer unebenen Knorpelfläche zu unterschiedlichen Stauchungen innerhalb der belasteten Knorpelprobe führt, was wiederum andere Reibungszahlen zur Folge hat. Da ein Einfluss der Reibungszahl auf den Verschleiß des Knorpels diskutiert wird [196], ist dies in Bezug auf dieses Projekt zu berücksichtigen.

Der Lokalisation der Probenentnahme innerhalb des Kniegelenks kommt ebenfalls eine wichtige Bedeutung zu, da der Entnahmeort wegen der unterschiedlichen Knorpelkonvexität, Knorpelbelagdicke und Zusammensetzung mit einer Einflussnahme auf die Biomechanik verbunden ist [10, 308-311]. Bei den jungen Kniegelenken wurden immer an der biomechanisch relevanten Hauptbelastungszone der Kondylen die Proben entnommen. Bei den Proben der Gruppe ALT erfolgte die Entnahme im Bereich der arthrotisch veränderten Hauptbelastungszone. Falls dort keine arthrotischen Veränderungen nachweisbar waren, aus anderen Bereichen, welche eindeutige Arthrosezeichen zeigten.

Bei der Lagerung der Knorpelproben bis zum eigentlichen Reibeversuch wurde ein feuchtes Milieu sichergestellt. Durch die ständige Benetzung mit PBS konnten etwaige trocknungsbedingte Artefakte ausgeschlossen werden, welche die mechanischen Eigenschaften des Knorpels verändert hätten [197]. Ein Einfluss der Raumtemperatur auf die Reibung kann als vernachlässigbar angesehen werden [119].

4.1.4 Die makroskopische Evaluation prä- und post-tribologisch

Die makroskopische Graduierung von osteoarthrotischen Läsionen wird in der Literatur mit verschiedenen Klassifikationen definiert [240, 312-318].

In der klinischen Diagnostik, insbesondere in der arthroskopischen chirurgischen Orthopädie, hat sich die Einteilung von Knorpelschäden nach Outerbridge durchgesetzt, die sich am visuell erkennbaren Ausmaß der Schädigung orientiert [240]. Da es sich um eine reine Oberflächenevaluation handelt, können bei Outerbridge Stadium II und III keine Angaben zur Läsionstiefe gemacht werden. Inwieweit eine Knorpelabrasion der Plate oder des Pins stattfand, konnte damit nicht beurteilt werden. Darüber hinaus eignen sich oben genannte Klassifikationen eher für die Evaluation der Osteoarthrose und weniger von fokalen, osteoarthrotischen Läsionen [242, 313]. Die „International Cartilage Repair Society“ (ICRS) modifizierte die Einteilung von Outerbridge und integrierte sie in das von ihr veröffentlichte ICRS „Cartilage Injury Evaluation Package“, das als Grundlage für die Einteilung von Knorpelschäden in der vorliegenden Arbeit diente [319-321]. Eine besser abgestufte Diskriminierung der Veränderungen als bei Outerbridge konnte mit dem ICRS-Scoring in diesem Projekt realisiert werden. Van den Borne et al. [322] sehen die ICRS-Klassifikation aufgrund ihrer guten Inter- sowie Intra-rater-Reliabilität als vorteilhaft an.

Wie im Material- und Methoden-Teil abgebildet (Abschnitt 2.4.2), besteht der ICRS-Score aus numerischen Größen (Grad 0, 1, 2, 3, 4), sowie für die feinere Diskriminierung innerhalb dieser Kategorien aus alphabetischen Sub-Unterteilungen (A, B, C, D). Da eine statistische Auswertung (beispielsweise Ermittlung des Durchschnitts von Score 2A und 3C) mit alphabetischen Indices nicht möglich ist, wurde die Bewertungsskala numerisch adaptiert (Tab. 3). Die Anwendung eines für dieses Projekt geeigneten rein numerischen Scores mit der ICRS-Bewertung, wurde somit für die arithmetische Auswertung möglich.

Aufgrund der immer gleichen Vorgehensweise der Fotodokumentation (selbe Kamera, selbe Repräsentativ-Einheit, selbe Beleuchtung, selber Abstand Film-Focus-Kamera-Knorpel) konnte ein standardisiertes Vorgehen zur makroskopischen Dokumentation gewährleistet werden. Die Punktwertvergabe bezog sich hierbei auf das Areal der stärksten Knorpelschädigung [180].

4.1.5 Die Messungen der tribologischen Belastung

Die Knorpel-auf-Knorpel Versuchskonfiguration - wie sie in diesem Projekt verwendet wurde - wird von allen Prüfständen als die realitätsnächste angesehen [323]. Zwangsläufig ist damit eine hohe Komplexität des Testvorganges verbunden.

In vitro erzielte Ergebnisse hängen vom verwendeten tribologischen System ab [181]. Die Ergebnisse sind deshalb immer auf das Prüfsystem zu beziehen und können nicht 1:1 mit denen anderer Systeme verglichen werden [13, 324]. Von großer Bedeutung

war zum einen die aufgebrachte Kraft, mit welcher der Pin auf der Prüfstrecke (Trajektorie) abfuhr. Zum anderen war die Höhenabnahme des Knorpels nach 1108 Zyklen präzise zu messen, denn die Kraftaufbringung und die Höhenabnahme stehen in direkter Beziehung zueinander: Eine vermehrte Kraftaufbringung bedingt einen vermehrten Verschleiß des Knorpels wie Katta et al. [187] bei der Betrachtung des Zusammenhangs von Kraft, Reibungszahl und Verschleiß betonen.

Aus der entsprechenden Literatur wurde die vom Pin ausgehende Anpresskraft in Höhe von 1 MPa entnommen und am Druckbehälter eingestellt [13]. Der Betrag dieses Druckes orientiert sich an den im Kniegelenk herrschenden Belastungen [269, 325]. So erwähnt Brand [326] in seiner Übersicht physiologische Drücke zwischen 0,5 und 5 MPa. Hodge et al. [327] konnten in vivo überdies Drücke von über 18 MPa feststellen, die physiologisch sind. Bei 1 MPa wurde daher kein unphysiologisch hoher Druck auf den Knorpel appliziert [81].

1 MPa entspricht bei einem Probendurchmesser des Pins von 5 mm einer Kraft von 19,6 Newton. Diese in vertikaler Richtung einwirkende Lastkraft (F_L) wurde von einem Kraftsensor aufgezeichnet. Dabei muss beachtet werden, dass die gemessene vertikale Fz-Kraft nicht der orthogonal (rechtwinklig) zur unebenen Probenoberfläche wirkenden Normalkraft F_n entspricht. Da die zu berechnende Normalkraft F_n und die Steigung in dem Punkt von F_L abhängt, hat die Qualität der Fz-Messung Einfluss auf das Normalkraft-Ergebnis. Dieser Punkt ist als kritisch zu betrachten, da die Genauigkeit der Normalkraft-Messung eine konstante Lastaufbringung erfordert. Der Grund hierfür ist der in der vertikalen Linearführung verbaute Höhenausgleich, dessen vorkommender Widerstand als Reibung beim Ausgleich der Höhendifferenz direkt in die Lastkraft und somit zu 100% in die gemessene Fz-Kraft eingeht. Da die Fz-Kraft daher als nicht konstant erachtet werden konnte, unterlag die von ihr abhängige F_n -Kraft ebenfalls Schwankungen. Daher ist es als kritisch zu erachten, dass die Genauigkeit der Normalkraft-Messung eine konstante Lastaufbringung erfordert, welche aufgrund von systembedingten Schwankungen nicht erfüllt werden konnte. Die eingestellte Kraft von 19,6 N auf die Probe wich daher von der tatsächlich auf die Probe gebrachten Kraft von ca. 25 N ab. Wie in Abschnitt 2.6.6 beschrieben, waren die Messschwankungen nicht signifikant. Von einer konstanten Lastaufbringung auf die Proben konnte daher jedoch ausgegangen werden. Ein Umbau des Prüfstandes mit Parallelogrammführung und reibungslosen Blattfederlagern wäre hier in Zukunft wünschenswert.

Die Messung der Höhenabnahme des Knorpels soll an dieser Stelle kritisch diskutiert werden. Die Beschreibung von Verschleißerscheinungen am Knorpel wird in der Literatur in vivo sowie in vitro beschrieben [222, 224, 231, 232, 328] [227]. So beschreiben Oungoulian et al. [233] einen quantitativen Rückschluss auf den Verschleiß durch einen Abrieb-Partikel-Zähler. Die Konzentration von 4-Hydroxyprolin (einem Bestandteil des Kollagens) sowie die GAG-Konzentration im Schmiermittel der artikulierenden Proben sind quantitativ erfassbare Parameter zur Deskription von tribologischen Ereignissen [230].

Der tribologische Prüfaufbau mit seinem hoch sensiblen Höhenmesser, der mit einer Genauigkeit von 10 μm bei einer Auflösung von 5 μm das Höhenprofil des Knorpels aufzeichnete, erlaubte genaue Messungen der Knorpelhöhenabnahme. Zu berücksichtigen ist hier jedoch, dass der Sensor nicht zu unterscheiden vermochte, an welcher der Proben (Pin oder Plate) sich die Höhenabnahme und damit der Verschleiß ereignete. Daher bezieht sich die angegebene Höhenabnahme immer auf eine Verän-

derung beider Proben. Um Rückschlüsse der Höhenabnahme an den jeweils einzelnen Proben machen zu können, wäre eine histologische Vermessung der Tiefe der Riefen bzw. der Höhenabnahme des Pins im Vergleich zu Kontrolle erforderlich gewesen. Zweifelsohne wäre eine histologische Vermessung der Abnahme der Knorpelhöhe mit Einschränkungen verbunden. Zu nennen ist die kritische orthogonale Schnittführung zur Gewinnung des histologischen Präparates. Daher hätte hiermit keine Aussage mit absoluten Werten in mm getroffen werden können, sondern lediglich eine Verhältnisangabe, welches sich aus der Höhenabnahme der Reibspur bzw. des Pins mit der Kontrolle ergibt.

Von Bedeutung ist überdies das Lubrikationsmittel, da diesem ein Einfluss auf Reibzahl und Verschleiß zugeschrieben wird [184, 201]. So gaben Simon et al. [224] und Lipshitz et al. [228] nach in vitro Studien an, dass der Abrieb/Verschleiß von osteochondralen Pins erheblich mittels der Verwendung von Synovia im Vergleich zu PBS reduziert werden kann. Radin et al. [203] wiederum beschreiben das Fehlen jeglichen verschleißsparenden Effekts der Synovialflüssigkeit und zwar bei nativen sowie arthrotischem Knorpel.

Der Vorteil des in diesem Projekt verwendeten PBS liegt in seiner standardisierten Zusammensetzung. Ein Einfluss des verwendeten PBS auf Reibzahl oder Verschleiß wurde im vorliegenden Projekt nicht eigens berücksichtigt.

Zukünftig wären Versuche mit verschiedenen Schmiermitteln und Untersuchung des Einflusses dieser auf den Verschleiß wünschenswert.

4.1.6 Die histologische Evaluation

Für die histologische Evaluation wurden die Plates auf eine praktikable Größe reduziert. Der zur histologischen Aufbereitung 2 mm dünne osteochondrale Streifen wurde mittig aus der Plate gewonnen. Die Messgenauigkeit, mit der die 9 mm Abstand zum Platerand für das Abtrennen eines mittigen Streifens vermessen wurden, wird unter anderem von der Schieblehre determiniert. Die hier vom Hersteller angegebene Längenmessabweichung beträgt $\pm 0,05$ mm. Der Bereich in dem der Pin auf der Plate im Zyklus HIN- als auch RÜCK vollflächig im Messbereich auflag, war mittig zwischen den Umlenkpunkten. Dieser Bereich hatte eine Länge von 3 mm. Somit wurde sichergestellt, dass Knorpelproben zur Beurteilung kamen, die vollflächig mit dem oszillierenden Pin in Kontakt getreten waren. Der Bereich direkt neben der Prüfstrecke wurde hierbei als Kontrollbereich gewählt. Der unbeanspruchte Probenanteil erlaubt hierbei Rückschlüsse auf die ursprüngliche Morphologie. Die unmittelbar aneinander angrenzende Prüfstrecke zum Kontrollbereich ermöglichte es, morphologische Veränderungen durch den tribologischen Versuch vergleichend zu beurteilen. Ein anderer Vorteil liegt in der Egalisierung von Artefakten, verursacht durch das Herstellen der histologischen Schnitte, denn diese tangieren gleichermaßen den Kontrollbereich ebenso wie die Prüfstrecke.

Unter den verschiedenen Methoden die Osteoarthrose qualitativ und quantitativ präzise zu beschreiben, steht die Histologie an erster Stelle [251, 329, 330], denn die makroskopische Beurteilung des Knorpels wird im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität, speziell in Anfangsstadien der Degeneration, als grob angesehen [14]. Das weltweit mit am häufigsten angewendete histologische Graduierungssystem der Osteoarthrose ist dasjenige nach Mankin [44, 330, 331], nicht nur in der humanen Anwendung, sondern auch bei Tiermodellen [332, 333]. Das als Eponym verwendete Mankin-System setzt sich aus Kriterien zusammen, die im Konglomerat eine Maximalpunktzahl

von insgesamt 14 vergeben und somit arithmetisch auswertbar ist. Berücksichtigt werden zelluläre Abweichungen, die Safranin-O-Färbungsintensität und strukturelle Veränderungen (Erosion, Penetration von Gefäßen durch die Grenzlinie) [331, 332]. Kritisiert wird an dieser Graduierung die mangelnde Reproduzierbarkeit sowie Validität [14, 334]. Ebenfalls sehen Ostergaard et al. [335, 336] die Spezifität sowie Sensitivität des Mankin-Scores als problematisch an. Eine Differenzierung osteoarthrotischer Läsionen im Initialstadium ist aufgrund der in der Originalveröffentlichung untersuchten Hüftköpfe im arthrotischem Endstadium nur eingeschränkt möglich.

In Anbetracht dieser Limitationen griff die „Osteoarthritis Research Society International (OARSI)“ die Problematik auf und entwickelte im Rahmen der „OARSI histopathology initiative“ diverse Graduierungssysteme sowohl für Tiermodelle [251, 337-341], als auch für die Anwendung im humanen Kontext [332]. In der vorliegenden Studie haben wir uns für den Little et al. [251] Score entschieden, welcher eine Graduierung der Osteoarthrose an Schafen und Ziegen empfiehlt. Unter anderem aufgrund der Ähnlichkeiten zum porkinen Großtiermodell (Abschnitt 4.1.1) ist es in dieser Arbeit eingesetzt worden. Zwar lehnt sich dieser Score ebenfalls an den Mankin-Score an, hat aber den Vorteil, dass dieser mit 25 eine feinere Differenzierung der Arthrosegrade erlaubt. Angaben zur Qualität des Little et al.-Scores hinsichtlich Reliabilität und Validität ließen sich in der Literaturrecherche nicht finden (Stand 2016). Die üblichen Limitationen eines semiquantitativen, histologischen Graduierungssystems treffen auch hier zu, wie Hoemann et al. [250] aufzeigten.

Die Definition der Osteoarthrose allein anhand der Knorpelqualität und nicht unter Einbezug aller gelenkbeteiligter Strukturen (bspw. Synoviamembran, Menisken, Bänder), die ebenfalls dem Arthroseprozess unterliegen, bemängeln Little et al. [251] sowie Aigner et al. [257]. Bei zukünftigen Studien sollte dies mit berücksichtigt werden.

Zur Beantwortung der Frage, welchen Effekt der tribologische Versuch auf histologischer Ebene verursachte, sind die beschriebenen Evaluationssysteme nur bedingt geeignet.

In einem ersten Schritt ist der Original-Little-Score zur Bewertung des durch den Reibeversuch in keiner Weise veränderten Knorpels eingesetzt worden. Diese Knorpelpartien sind aus den Kontrollbereichen gewonnen worden. Für diesen Untersuchungsabschnitt eignet sich der Little et al. Score, da er die arthrose-typischen Merkmale bewertet.

In einem zweiten Schritt wurde versucht, den Original-Little-Score auch für den durch den Reibeversuch veränderten Knorpel auf der Prüfstrecke anzuwenden. Da durch den Reibeversuch allerdings keine degenerativen Prozesse initiiert wurden, ist der Little-Score zur Beschreibung des resultierenden Knorpeldefektes nur eingeschränkt verwendbar. Hier gilt es nämlich zu beachten, dass Teile der Subkategorien sich durch den tribologischen Versuch nicht verändert haben, demgegenüber andere sehr stark. Zwar erwähnen unter anderem Tomford et al. [39, 342], dass Knorpel zu einem supravitalen Leben bis zu einem gewissen Maße fähig ist, allerdings kann eine Progredienz der Osteoarthrose post mortem als ausgeschlossen gelten. So konnte bedingt durch den tribologischen Versuch beispielsweise keine Vermehrung von Chondrozyten, Duplikatur der Grenzlinie noch Penetration von Gefäßen durch diese hindurch beobachtet werden. An diesem Punkt stellte sich die Frage, inwieweit der auf degenera-

tive Osteoarthrose fokussierte Score dem tribologischen Versuch ein verzerrtes, histologisches Abbild zuschreibt. Um dem entgegen zu wirken, wurde ein eigener, an die Gegebenheiten angepasster Score entwickelt und zeitgleich mit dem Little-Scores angewendet. Von diesem, exklusiv die Oberflächenstruktur bewertendem Score, erhoffte ich mir eine Evaluation, die ausschließlich die Effekte des tribologische Versuches allein abbilden kann. Der Little et al. [251] Score rückte dabei keinesfalls in den Hintergrund, da er essentiell für die Definition einer eventuell vorliegenden Osteoarthrose war. Zweifelsohne ist eine Anwendung dieses nicht validierten Scores ohne Berücksichtigung von Qualitätsaspekten wie Validität und Reliabilität als kritisch zu sehen.

4.2 Diskussion: Die Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurden porcine Kniegelenke aus dem örtlichen Schlachthof bezogen und bezüglich ihres Alters in zwei Gruppen aufgeteilt, die Gruppe ALT und die Gruppe JUNG. Die anschließende Evaluation hinsichtlich arthrosentypischer Pathologien zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen. Überdies stellten die tribologischen Versuche gleichermaßen einen signifikanten Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen dar. Auffallend und daher speziell von Interesse hierbei war die Art und das Ausmaß des durch die tribologischen Versuche verursachten Schadens.

4.2.1 Die radiologischen Ergebnisse

Die radiologische Bewertung nach der Methode von Kellgren und Lawrence [180] führte zu unterschiedlichen Ergebnissen in der jeweiligen Gruppe. So konnten bei den 16 jungen Kniegelenken radiologisch keine Arthrosezeichen nachgewiesen werden, wobei bei zwei Gelenken minime Alterationen in Richtung Arthrose weisend interpretiert wurden. Im Kontrast stand dies zu den Ergebnissen der Gruppe ALT, bei denen über 50% der Kniegelenke mit einem Scorewert von ≥ 2 radiologische Befunde der Arthrose aufwiesen. Der Scorewert ≥ 2 innerhalb der Skala von 0 - 3 weist auf eine mittlere Arthroseausprägung bei den 15 alten Knorpelproben hin. Der U-Test weist auf einen signifikanten Unterschied ($p = 0,0002$) zur Gruppe JUNG hin. Dieser deutliche Unterschied der Gruppen JUNG und ALT war für dieses Forschungsprojekt wichtig, weil er Hinweise für weitere Unterschiede in anderen OA-Untersuchungsmethoden lieferte.

4.2.2 Die makro- und mikroskopischen Ergebnisse vor der tribologischen Testung

Die Materialgewinnung von osteoarthrotisch verändertem porcinem Knorpel ist in der vorliegenden Dissertation vergleichbar mit Hennerbichler et al. [280]. Unter histologischen (Little et al. [251]) Gesichtspunkten reichte dieser prätribologisch von 2 bis 19 Punkten (0 - 25) und erstreckte sich somit von nativ bis hochgradig verändert. Ein sehr ähnliches Bild lieferten die Ergebnisse der makroskopischen (ICRS) Evaluation, denn auch hier umfasste die Bandbreite des Scores „nicht verändert/ ohne erkennbare Pathologie“ (Score 0/4,5) bis hochgradig arthrotisch (Score 4/4,5). Die Definition eines statistisch eindeutigen Unterschiedes zwischen der Gruppe der alten und jungen Kniegelenke war sowohl mikro- als auch makroskopisch möglich, sodass generell die Einteilung in zwei verschiedene Gruppen (ALT/JUNG) als sinnvoll erachtet wurde. Diese Tatsache ist von hoher Relevanz für zukünftige chondrale Forschungsvorhaben. Die Arbeit konnte zeigen, dass über den örtlichen Schlachthof auf Kniegelenke mit natürlich auftretender Osteoarthrose zurückgegriffen werden kann, ohne diese experimentell induzieren zu müssen. Die Literatur ist sich diesbezüglich einig: Eine künstlich induzierte Osteoarthrose kommt der „natürlichen“ zwar nahe, kann aber keinesfalls den vollumfänglichen Prozess einer spontan auftretenden Osteoarthrose abbilden und ist daher für viele Forschungszwecke als untergeordnet zu betrachten [343-346].

Die Diskriminierung der Arthrosegrade zwischen medialem und lateralem Kompartiment war zwischen histologischem und makroskopischem Scoring nicht eindeutig. Zwar attestierten beide Scoringsysteme der medialen Gelenkseite (Gruppe ALT) eine

höher ausgeprägte Osteoarthrose als lateral. Ein statistischer Unterschied konnte jedoch nur für das makroskopische Scoringsystem nachgewiesen werden ($p = 0,0139$). Der Vergleich von Signifikanzwerten war hier von Relevanz, denn bei präziser Betrachtung fiel auf, dass der auf Unterschiede untersuchende U-Test in der histologischen Evaluation einen p-Wert von $p = 0,0642$ zeigte. Demzufolge überschreitet das Ergebnis nur knapp das Signifikanzniveau von $\leq 0,05$ und bei einer größeren Untersuchungsgruppe oder eines weiteren Bewerbers hätte das Ergebnis mit einer hohen Wahrscheinlichkeit auch innerhalb des Signifikanzniveaus ausfallen können. Die Vermutung beruht unter anderem auf das in der Literatur beschriebene häufigere Auftreten von Osteoarthrose medial als lateral in verschiedensten Tiermodellen [344, 345, 347-350]. In der humanen Situation ist diese Tatsache unter anderem aufgrund der häufigen varischen Beinachse (anatomisch femorotibialer Winkel von 173° - 175°) [351] und anderen Kraftverhältnissen [352] schon länger beschrieben [353-355].

4.2.3 Die makro- und mikroskopischen Evaluation nach der tribologischen Testung

Der folgende Abschnitt befasst sich mit den posttribologisch femoral und tibialen Ergebnissen. Diese bilden das Fundament zum Verständnis der durch die tribologischen Experimente hervorgebrachten Ergebnisse.

Wie auf den Abbildungen 32 (makroskopischer Vergleich) und 36 (mikroskopischer Vergleich) zu erkennen ist, waren die dem tribologischen Versuch zuschreibbaren Veränderungen ausgeprägt tibial (Plate) zu finden. Dies spiegelt sich in Form von Scores sowie statistischen Signifikanzen in allen Bewertungssystemen wider (Tab. 26). Dem femoralen Pin, unabhängig ob Gruppe ALT oder JUNG, konnten zwar makroskopisch Alterationen nachgewiesen werden, auf mikroskopischer Ebene hingegen war der tribologischen Belastung kein Effekt auf die Knorpelintegrität zuzuschreiben.

Die Diskrepanz zwischen makro- und mikroskopischen Ergebnissen könnte durch die histologische Schnittführung erklärt werden. So ist die Möglichkeit, dass Alterationen an den Proben zwar makroskopisch evaluiert, aber aufgrund der Schnittführung nicht auf dem histologischen Präparat abgebildet worden sind und infolgedessen nicht in die Bewertung mit einbezogen wurden, nicht auszuschließen. Mit Hilfe des in Abschnitt 4.1.6 beschriebenen adaptierten Little-Scores wurde ein Erklärungsansatz versucht. Dieser zeigte im Vergleich zum original Score Abweichungen. So konnte in der posttribologischen Situation zwischen den alten und jungen Proben ein signifikanter Unterschied dargestellt werden (Abb. 35, Tab. 26). Vergleicht man diese Ergebnisse nun mit dem adaptierten Score, dann fällt auf, dass zwischen JUNG und ALT kein signifikanter Unterschied in der posttribologischen Situation besteht (Tab. 26). Dies spiegelt sich ebenfalls in der ICRS-Bewertung wider. Die Gruppe JUNG erhöhte dementsprechend ihren Scorewert durch die tribologische Belastung zum prätribologischen signifikanten Vorsprung der Gruppe ALT soweit, dass posttribologisch kein signifikanter Unterschied zwischen JUNG und ALT mehr feststellbar war. Dieser posttribologisch fehlende Unterschied war ausschließlich mit dem eigenen, adaptierten Score zu erkennen.

Es stellen sich nach den oben genannten mikro- und makroskopischen Ergebnisse folgende Fragen:

- Wieso entstehen durch die tribologische Testung generell Defekte?
- Weshalb sind diese ausgeprägter an Knorpelproben von jungen Kniegelenken zu finden?
- Warum sind diese Defekte auf der tibialen Plate wesentlich stärker ausgeprägt als auf dem femoralen Pin?

Zur Beantwortung dieser Fragen ist die genaue Beschreibung der Defekte mit ihrem Entstehungsmechanismus sowie Erscheinungsbild sinnvoll.

Die Defekte sind zweifelsfrei als Verschleiß zu definieren, da „Verschleiß als Materialverlust aus der Oberfläche eines festen Körpers, hervorgerufen durch tribologische Beanspruchung“ definiert ist [181]. Die tribologische Beanspruchung von Knorpel erfolgte in diesem Projekt mittels eines „Gleitens“ des osteochondralen Pins auf der Oberfläche der korrespondierenden chondralen Plate. Die sich kausal daraus ergebende Verschleißart ist die des Gleitverschleißes, eine Begrifflichkeit angelehnt aus der Materialwissenschaft [181, 221]. Für diese Verschleißart typisch wirksame Verschleißmechanismen sind unter anderem Abrasion, Adhäsion sowie Oberflächenzerüttung (Abb. 6) [181, 221]. Im Kontext der biomechanischen, chondralen Forschung decken sich diese Begrifflichkeiten (im Englischen: abrasion, adhesion, fatigue wear) mit der in der angelsächsischen Literatur angegeben [22, 184-186, 201, 202, 224, 234, 356]. Die sich durch diese Verschleißmechanismen ergebenden Veränderungen der Knorpeloberfläche führen zu der Verschleißerscheinungsform der Riefe bzw. als Synonym gebräuchlich Furche (im Englischen: groove, wear track), die von der Gesellschaft für Tribologie als „längere, geradlinige, grabenförmige Oberflächenbeschädigung in Gleitrichtung...“ definiert ist [183]. Die wortwörtliche Übertragung dieser Definition auf das vorliegende Forschungsvorhaben bietet sich bei der Betrachtung der chondralen Defekte auf den Plates an (Abb. 32 und 36). Weshalb trotz der an die weitestgehend physiologischen Bedingungen (Knorpelreibpaarung, Drücke, Geschwindigkeit etc.) angepasste Prüfkonfiguration solch ausgeprägten Defekte in Form von Riefen entstehen konnten, wird im Folgenden erklärt.

Hierzu wird sich, aus der Materialwissenschaft angelehnt, der sogenannten Tieflage-Hochlage-Charakteristik nach Uetz und Wellinger [357] bedient. Hiernach werden prinzipiell drei verschiedenen Verschleißbereiche unterschieden [181, 357]:

- **Verschleißtieflage**, bei der die Abrasivstoffhärte H_A (bezogen auf dieses Projekt: Härte des Knorpelbelages des Pins) $<$ Werkstoffhärte H_W (Härte des Knorpelbelages der Plate)
- **Übergangsbereich**, wenn $H_A \approx H_W$
- **Verschleißhochlage**, wenn $H_A > H_W$

Die schematisch vereinfachte Darstellung angelehnt an Wellinger [357] verdeutlicht den Sachverhalt:

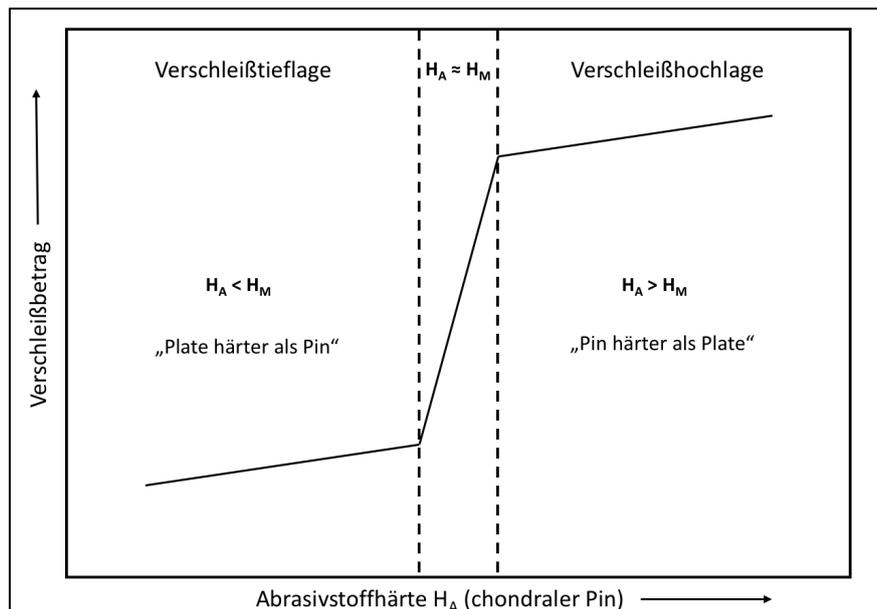


Abbildung 53: Einfluss der Härte der tribologischen Partner auf den Verschleiß (eigene Darstellung, modifiziert nach Wellinger [357])

Wie im Ergebnissteil ersichtlich, zeigten die Pins (femoral) histologisch keine signifikanten Veränderungen jeglicher Art, die durch die tribologischen Tests hätten verursacht werden können. Lediglich mikroskopisch konnten (schwache) Veränderungen teilweise nachgewiesen werden. Aus diesem Grund leitet sich die Vermutung ab, dass der Pin im Vergleich zur Plate (tibial) in dieser Konstellation als das Medium mit der höheren Härte (H_A) angesehen werden kann und daher kausal für die Riefen der Plates verantwortlich gemacht wird. Unter den Verschleißbedingungen, die in diesem Forschungsprojekt herrschten, wäre demzufolge in der Prüfkongfiguration von einem Härteverhältnis in einer Verschleißhochlage auszugehen.

Die Hypothese des im Vergleich zur tibialen Plate härteren femoralen Pin basiert nicht ausschließlich auf diesem Erklärungsansatz, sondern ist auch unter biomechanischen Gesichtspunkten der Knorpelproben und der Prüfkongfiguration an sich begründet. Während der tribologischen Versuche wurde auf den Knorpel des Pins und seinen korrespondierenden Part auf der Plate eine konstante Kraft/Last aufgebracht. Diese Last wird primär von dem Hauptbestandteil (70-80%) des Knorpels, der flüssigen Phase getragen, dem „fluid load support“ [80, 185, 196, 207, 358, 359]. Hält die Belastung nun an, so kommt es konsekutiv zu einem Flüssigkeitsausstrom durch die poröse Struktur der Kollagen-Proteoglykan-Architektur der extrazellulären Matrix hindurch in den Gelenkspalt bzw. unbelastete Knorpelregionen [196, 359], hier in dieser Studie in das Probenhaltergefäß. Dies geschieht solange („biphasic creep behaviour“), bis ein Gleichgewichtszustand der Deformation erreicht worden ist, ab welchem die gesamte Last schließlich nicht mehr von der flüssigen Phase, sondern allein von der Kollagen-Proteoglykan-Matrix des Knorpels getragen wird [80, 207, 360]. Im Kontext der biomechanisch cartilaginären Forschung ist dieser Zustand, bei dem keine Flüssigkeitsverschiebung mehr vonstatten geht, als Aggregatmodul (im Englischen „aggregate modulus“) definiert, welcher als Kennwert für die Steifigkeit des Knorpels angegeben wurde [108]. Je höher das Aggregatmodul ist, desto weniger ist der Knorpel in der Lage, sich aufgrund einer Belastung zu verformen [108]. Hier ist es wichtig, diesen, sich unter Last in Deformation befindlichen Zustand zwischen Pin und Plate zu unterscheiden. Auf den Pin wirkte diese Last kontinuierlich über die gesamte Zeitspanne

der 1108 Zyklen. Hingegen war der knorpelige Gegenpart zum Pin, nämlich die Plate, der Last je Zyklus lediglich zweimalig (HIN und RÜCK) und jeweils nur für eine kurze Zeit ausgesetzt. Bei einem Durchmesser des Pins von 5 mm und einer Verfahrensgeschwindigkeit von 4mm/sek sind Punkte auf der Prüfstrecke der Plate jeweils lediglich für 1,25 Sekunden belastet worden. Dies hatte zur Folge, dass der Knorpelbelag auf der Plate Zeit hatte, sich während der unbelasteten Phasen wieder zu rehydrieren, um so seine durch die Belastung abgegebene interstitielle Flüssigkeit zurückzugewinnen [185, 192, 211]. Im Gegensatz dazu blieb dem Pin diese Möglichkeit durch die konstante Belastung verwehrt, was bedeutet, dass hier zwei Reibpartner mit unterschiedlichen biomechanischen Zuständen miteinander interagieren [199, 211]. So geben Katta et al. [361] unter ähnlichen in vitro Bedingungen an, dass die Last einer Knorpel-auf-Knorpel Reibpaarung schon nach weniger als einer Stunde nicht mehr größtenteils von der fluiden Phase getragen wird. Forster und Fischer [118] konnten in einem cartilaginären Pin-auf-Edelstahl-Versuch eine noch wesentlich kürzere Zeit nachweisen. In diesem Projekt hingegen betrug die Versuchsdauer ca. 2,05 Stunden, was bedeutet, dass der Hauptteil der Last nicht mehr von der fluiden Phase „fluid load support“ getragen wird. Aufgrund dieser Annahmen lassen sich für den Pin und die Plate inhomogene Reibungszustände und Reibungseigenschaften ableiten. Die einseitig wirkende Lastaufbringung führt zu verschiedenen Eigenschaften, welche einen Einfluss auf den Reibungskoeffizienten [80, 91, 192] sowie den Verschleiß [118, 185] haben. Dass die Ausprägung des Reibungskoeffizienten nicht zwangsläufig mit Verschleißerscheinungen korreliert werden können, ist in Abschnitt 1.3 diskutiert worden, allerdings kann durch die eventuell erhöhten Reibezahlen ein Effekt auf den stattgefundenen Verschleiß in Form von Riefen auf der Plate nicht ausgeschlossen werden [118, 225]. Dem durch konstante Lastaufbringung unter Kompression befindlichen, deformierten Knorpelbelag des Pins könnten überdies im Vergleich zur Plate veränderte Steifigkeitswerte zugeschrieben werden. So steigt unter Deformation die Steifigkeit des Knorpels nicht-linear an und die Permeabilität nimmt exponentiell ab [80, 110, 362, 363]. Der Knorpel des Pins könnte daher mit einer höheren Steifigkeit angesehen werden als derjenige der Plate, womit sich der Rahmen zu der anfangs erwähnten Verschleißhochlage wieder schließt (Abb. 53). Fernab jeglicher durch Belastung herbeigeführten Effekte lassen sich in der Literatur darüber hinaus Belege finden, die dem nativen femoralen Knorpel im Vergleich zum tibialen generell eine höhere Steifigkeit bescheinigen [309]. Der Knorpel des Tibiaplateaus scheint der am weichsten im Kniegelenk zu sein [10].

Als paradox angesehen werden kann, dass die Auswirkungen der tribologischen Testung in der Gruppe der nativen, jungen Knorpelreibpaarungen wesentlich ausgeprägter sowohl mikro-, als auch makroskopisch ausfielen, als in der Gruppe der arthrotischen, alten Knorpelproben, zumal nativem Knorpel gegenüber arthrotischem eine bessere biomechanische Funktionalität zugesprochen wird. Die Ursachen der posttribologischen sicht- und messbaren Unterschiede müssen jedoch ausschließlich in der unterschiedlichen Knorpelbeschaffenheit liegen, da die Prüfparameter (Kraft, Dauer, Länge etc.) zwischen der Gruppe JUNG und ALT kaum differierten. In mehreren Studien konnte durch die experimentelle Induktion eines osteoarthrosenahen Zustandes - bspw. durch enzymatische Reduzierung des Glykosaminoglykangehaltes - zwar eine Erhöhung des Reibungskoeffizienten nachgewiesen werden [364, 365]. Ob dies jedoch zwangsläufig mit erhöhten Verschleißwerten einhergeht, ist Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen [196]. Exemplarisch ist hier die Studie von Caligaris et al. [202] zu nennen, die nachweisen konnte, dass bei humanen, arthrotischen Knorpel-auf-Knorpel-Reibpaarungen keine Erhöhung des Reibungskoeffizienten feststellbar

ist. Die osteoarthrosetypische Veränderung hat anscheinend Einfluss auf die Steifigkeit des Knorpels im Sinne einer Reduktion [108, 361]. Franz et al. [10] konnten dies anhand histologisch gesicherter Osteoarthrose nachweisen. Desrochers et al. [234, 366] sprechen von einem weicheren Knorpel, der Teile seiner viskoelastischen Eigenschaften verloren hat [366] und sich vermehrt zu deformieren vermag [367]. Konkreter werden Kleemann et al. [368], die anhand von gemessenen Equilibriumszuständen zeigen konnten, dass die Steifigkeit des Knorpels stark in Verbindung mit einer zunehmenden Osteoarthrose abnimmt. Diese Veränderung der Steifigkeit in Richtung eines weicheren Knorpels könnte ein Grund für die weniger stark ausgeprägten Defekte in der Gruppe Alt sein. Katta et al. [187] beschreiben, dass sich die Oberflächenrauheiten (R_a) von GAG-defizientem Knorpel im Vergleich zu nativem während eines tribologischen Test vermindern und postulieren darauf basierend die Hypothese, dass sich die Reibpartner kongruent aneinander anpassten. Dies führte zu einem hydrodynamischen Schmierzustand und konsekutiv zu einer Verminderung der Reibzahl. Darauf basierend lässt sich die These eines verminderten Verschleißes ebenfalls aufbauen [225], die darüber hinaus innerhalb der von Katta durchgeführten Studie dadurch untermauert wird, dass hier im Vergleich zum nativem Knorpel geringere Hydroxyprolinwerte in der Schmierflüssigkeit als Verschleißmaß detektiert werden konnten. Durch die erhöhte Deformationsfähigkeit des arthrotischen Pins könnte sich zudem die Kontaktfläche vergrößert haben. Eine Vergrößerung der Kontaktfläche führt zu einer relativen Verminderung der Belastung [367] und könnte teilweise für die im Vergleich verminderten Defekte der Gruppe ALT verantwortlich gemacht werden. Osteoarthrotischer Knorpel weist eine aufgrund der verminderten Konzentration an GAGs eine höhere Permeabilität auf [205]. Der Wassergehalt und die Gewebeswellung ist erhöht [367]. Diese beiden Faktoren könnten ebenfalls zu einer hydrodynamischen Schmierung mit dadurch kausal geringeren Verschleißwerten geführt haben.

Bezüglich der Situation in vivo sind diese Ergebnisse nicht direkt übertragbar, denn aufgrund der dynamischen Lastaufbringung die durch Bewegung in Gelenken entstehen, kann es als unwahrscheinlich angesehen werden, dass der lasttragende flüssige Anteil „fluid load support“ des Knorpels Werte nahe 0 annimmt [185]. Die Ergebnisse sind auch deshalb nicht übertragbar, da in der Literatur keine Beschreibungen von ähnlich schnell progredienten und ausgeprägten cartilaginären Defekten zu finden sind. Die Ergebnisse dieses Forschungsprojektes sind demzufolge unter rein experimentellen Gesichtspunkten zu betrachten. Die genauen kausalen Ursachen für die Defekte beziehungsweise den Verschleiß zu finden und in Einklang mit der Literatur zu bringen scheint abschließend nicht möglich zu sein. Dies liegt primär daran, dass tribologische Ergebnisse untereinander kaum zu vergleichen sind, da sie stark vom verwendeten tribologischen System und Prüfprotokoll abhängen [13, 186]. Die erwähnten Erklärungsansätze können jedoch ein teilweise geschlossenes Bild des Verschleißprozesses liefern. Auch kann eine Pin-on-Plate Prüfkonfiguration nicht den physiologischen Bewegungsablauf abbilden, wie er in einem natürlichen Gelenk stattfindet.

Dass osteoarthrotischer Knorpel gegenüber mechanischer Beanspruchung unter Experimentalbedingungen resilienter ist als nativer, wurde teilweise gezeigt, konnte jedoch aufgrund der wenigen Studien zu dieser Thematik nicht vollumfänglich geklärt werden. Die Möglichkeit eines Konfundierungseffekts, beispielsweise durch die Prüfkonfiguration oder den Aufbau des Prüfstandes, welcher die Ergebnisse beeinflusste, sollte jedoch mit in Betracht gezogen werden.

4.2.4 Die tribologischen Ergebnisse – Höhenabnahme in mm

Bei arthrotischem Knorpel wurde eine geringere Höhenabnahme gemessen als bei nativem. Wenn die gemessene Höhenabnahme als direktes Maß für den Verschleiß angesehen wird, bedeutet dies, dass arthrotischer Knorpel weniger Verschleiß zeigt als nativer. Diese Tatsache deckt sich mit den Ergebnissen der posttribologischen Makro- und Mikroskopie. Für diese Hypothese findet sich in der Literatur keine Evidenz, denn bis auf eine Erwähnung bei Katta et al. [361], wo im Vergleich GAG-defizienter versus nativer Knorpel weniger Hydroxyprolin im Schmiermedium beim GAG-defizientem Knorpel gefunden werden konnte, sind in der Literatur zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine Hinweise zu finden.

Eine Erklärung für die vermehrte Höhenabnahme bei gesundem jungen Knorpel lässt sich unter Umständen in der Prüfkfiguration in Verbindung mit dem gesunden Knorpel an sich finden. Hierzu muss sich nochmals vergegenwärtigt werden, dass der Höhenmesser nicht die eigentliche Riefentiefe auf der Plate misst, sondern die Auslenkung des Pins in Richtung Plate angibt. Wenn nun auf gesunden jungen Knorpel, der im Vergleich zu arthrotischem eine höhere Knorpelbelagsdicke aufweist, eine Last wirkt, so hat jener auch eine vermehrte Knorpeldicke, die er zu komprimieren vermag. Dieser Tatsache könnte einen Einfluss auf die vermehrte Auslenkung des Höhenmessers bei nativem Knorpel geschuldet sein.

Abbildung 47 zeigt, dass bezogen auf ihre Gesamthöhe arthrotischer Knorpelbelag schneller proportional an Höhe verliert als nativer. Die Gesamt-Höhenabnahme ist jedoch geringer. Diese Tatsache lässt sich gut in Einklang mit der Literatur bringen, denn die Kompressionssteifigkeit von arthrotischem Knorpel ist weitaus geringer als die von nativem [108]. Bei beschädigter Knorpeloberfläche ist der Flüssigkeitsausstrom in Richtung Gelenkspalt vergrößert [47]. So lässt sich auch die schnellere Abnahme der Höhe beim arthrotischen Knorpel erklären.

Wie in Abbildung 46 ersichtlich, wurde bei einem Versuchslauf in der Gruppe ALT - medial ein negativer Wert in der Höhenabnahme gemessen. Dieser Wert wurde als paradox interpretiert, da er eine Zunahme der Knorpelhöhe während des tribologischen Belastung impliziert und somit den anderen Werten - unabhängig ob JUNG oder ALT - gegenübersteht. Trotz ausgiebiger Ursachensuche konnte kein Fehler in der Aufzeichnung gefunden werden. Dieser Wert wurde dennoch in die statistische Auswertung mit einbezogen. Falls dieser paradoxe Wert jedoch ein Messfehler gewesen sein sollte, ist eine Änderung der Kernaussage dieser Arbeit unwahrscheinlich.

Inwieweit die Prüfkfiguration beziehungsweise zwei unterschiedliche Knorpelqualitäten verantwortlich für die unterschiedliche absolute Höhenabnahme gemacht werden können, ist mit dieser Forschungsarbeit nicht vollends zu beantworten. Die Ergebnisse stützen jedoch die Hypothese, dass arthrotischer Knorpel resilienter in Bezug auf den Verschleiß zu sein scheint als gesunder.

Um Rückschlüsse über die biomechanische Stabilität von nativem im Vergleich zu arthrotischem Knorpel machen zu können, sollten weitere Forschungsprojekte angestrebt werden. Die Ergebnisse diesbezüglich sind in dieser Dissertation vielversprechend und können wichtige Ansätze für das Verständnis der Osteoarthritis liefern.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Bewegung in Gelenken impliziert Reibung und damit Reibungsphänomene. Die wissenschaftliche Betrachtung von Reibung sowie ihren Auswirkungen wie Verschleiß sind Gegenstand des Fachgebietes der Tribologie. In der medizinischen Forschung hat sich der interdisziplinäre Fachbereich der Biotribologie - zusammenfassend aus Medizin, Technik und Physik - etabliert.

Die tribologischen Veränderungen osteoarthrotischen Knorpels unter experimentellen Bedingungen zu untersuchen und mit denen von gesundem Knorpelgewebe zu kontrastieren, ist das Thema dieser Dissertation.

Hierfür wurde auf porkinen Knorpel von Kniegelenken aus dem örtlichen Schlachthof zurückgegriffen, der von 16 jungen (JUNG = sechs Monate alt) und 15 alten (ALT = fünf Jahre alt) Schweinen stammte. Vor der tribologischen Belastung wurde der Knorpel unter Zuhilfenahme verschiedener Bewertungskriterien bezüglich osteoarthrotischer Alterationen untersucht.

Die röntgenologischen (Kellgren&Lawrence-Score), makroskopischen (ICRS-Score) und mikroskopischen (Little et al. - Score) Untersuchungen erbrachten vor der tribologischen Testung folgende Ergebnisse:

1. Gelenkknorpel von alten Schweinen unterschied sich röntgenologisch von demjenigen der jungen Schweine.
2. In der makroskopischen Evaluation war ein Unterschied zwischen jungen und alten Knorpelproben feststellbar. Eine Osteoarthrose war innerhalb der Gruppe ALT teils deutlich nachzuweisen und in den medialen Kompartimenten ausgeprägter als in den lateralen. Bei JUNG ließ sich kein Kompartimentsunterschied feststellen, allerdings waren in dieser Gruppe tibial höhere Scorewerte als femoral aufzufinden.
3. Die mikroskopische Evaluation ergab ebenfalls einen deutlichen Unterschied zwischen JUNG und ALT. Ein Unterschied der Kompartimente konnte nicht belegt werden. Innerhalb der Gruppe JUNG zeigte sich tibial-seitig ein leicht höherer Scorewert.

Zur anschließenden tribologischen Belastung der Knorpelproben wurde ein tribologischer Prüfstand basierend auf dem Pin-on-plate-Prinzip eingesetzt, welcher in der Sektion experimentelle Orthopädie und Unfallchirurgie in Mannheim konstruiert und gebaut wurde. Als Pin diente ein osteochondraler Zylinder, gewonnen aus dem Femurkondylus, als Plate ein osteochondraler quadratischer Block aus dem korrespondierenden Tibiaplateau. Der Pin bewegte sich über eine Strecke von 13 Millimeter oszillierend auf der Plate. Hierbei wurde eine Anpresskraft (26 Newton) über eine Dauer von 1108 Zyklen (2,03 Stunden Prüfzeit) konstant gehalten. Die in Millimeter gemessenen Höhenabnahmen der Knorpelproben wurden von einem Höhensensor aufgezeichnet und die Ergebnisse als Maß für den Verschleiß miteinander verglichen.

Durch die Auswertung der Daten des Höhensensors konnte gezeigt werden, dass der Knorpelbelag JUNG mit durchschnittlich 0,86 Millimeter wesentlich mehr an Höhe am Ende der tribologischen Belastung abnahm, als der Knorpel ALT mit 0,50 Millimeter. Ein Unterschied zwischen medialem und lateralem Kompartiment war in beiden Gruppen nicht nachzuweisen.

Eine negative Korrelation zwischen den Arthrose-Scores und der Höhenabnahme des Knorpels zeigte, dass je stärker der Knorpel von Osteoarthrose befallen war, er umso weniger an Höhe während der tribologischen Testung verlor.

Die nach der tribologischen Beanspruchung veränderte Knorpelmorphologie wurde makro- und mikroskopisch evaluiert:

1. Der makroskopisch erkennbare Effekt führte sowohl in der Gruppe ALT als auch JUNG zu einem signifikanten Anstieg des Scores. Auf der tibialen (Plate-) Seite war eine ausgeprägte Riefenbildung erkennbar, die in der Gruppe JUNG stärker zur Geltung kam. In der Gruppe ALT war die femorale und tibiale Score-Verschlechterung gleich hoch. Demgegenüber war bei JUNG der tibiale Scorewert durch die Riefenbildung wesentlich höher als femoral.
2. Die durch die Belastung verursachten Effekte waren mikroskopisch nach dem Little et al. - Score ebenfalls in den Gruppen JUNG und ALT belegbar. Die bei JUNG nachweisbare Zunahme des tibialen (Plate-) Scorewertes durch die Belastung war analog zur makroskopischen Evaluation am ausgeprägtesten. Der femorale Pin veränderte sich unabhängig der Gruppenzugehörigkeit durch die Belastung nicht. Bei JUNG sowie ALT ließen sich mediale und laterale Kompartimente nach der Testung weiterhin mikroskopisch nicht unterscheiden.

Spezifischer wurden die mikroskopischen Veränderungen mit dem hier erstmalig vorgestellten adaptierten Little et al. - Score erfasst. Bei diesem lag der Fokus der mikroskopischen Veränderungen ausschließlich auf den durch die Reibversuche verursachten Effekten auf der Oberfläche des Knorpels und nicht auf degenerativen Prozessen wie zum Beispiel Zellklonierung und Tidemark-Duplikatur. Ein adäquates Messen mikroskopischer Phänomene, wie sie in der in vitro-Situation der Testung auftreten, war somit möglich. Im Ergebnis war - im Gegensatz zum originalen Score - nach der tribologischen Belastung kein Unterschied zwischen JUNG und ALT mehr feststellbar.

Diskutiert werden sollte, inwieweit dem tribologischen Prüfsystem mit seiner Pin-on-Plate Konfiguration ein eventueller Einfluss auf die Ergebnisse zugeschrieben werden muss. Aufgrund der Abhängigkeit der Messungen von ihrem jeweiligen Prüfsystem sind Vergleiche mit der Literatur jedoch nur eingeschränkt möglich.

Die vielversprechenden Ergebnisse dieser Forschungsarbeit sollten in weiterführenden Projekten verfolgt werden, da sie wichtige Charakterisierungen der Biomechanik des Knorpels liefern können.

Ist arthrotischer Knorpel demnach resistenter gegenüber mechanischen Beanspruchungen als junger?

Die Ergebnisse dieser Dissertation weisen in diese Richtung.

6 LITERATURVERZEICHNIS

1. Welsch, U, Deller, T: *Lehrbuch Histologie* München, Elsevier, Urban & Fischer, 2014.
2. Asan, E, Lüllmann-Rauch, R: *Taschenlehrbuch Histologie*, Thieme, 2015.
3. Elsberger, S, Moore, K, Persaud, TVN, Torchia, MG, Viebahn, C: *Embryologie: Entwicklungsstadien - Frühentwicklung - Organogenese - Klinik*, Elsevier Health Sciences Germany, 2013.
4. Schiebler, TH, Korf, HW: *Anatomie: Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie*, Steinkopff, 2007.
5. Schünke, M, Schulte, E, Schumacher, U: *Prometheus - Lernetlas der Anatomie: Innere Organe ; 118 Tabellen*, Thieme, 2009.
6. Bellamy, N, Park, W, Rooney, PJ: What do we know about the sacroiliac joint? *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 12: 282-313, 1983.
7. Debrunner, AM, Weiblen, C: *Orthopädie, orthopädische Chirurgie: patientenorientierte Diagnostik und Therapie des Bewegungsapparates*, Huber, 2005.
8. Werner, H: Die Dicke der menschlichen Gelenkknorpel. *Inaugural dissertation (Berlin)*. 1897.
9. Ateshian, GA, Soslowky, LJ, Mow, VC: Quantitation of articular surface topography and cartilage thickness in knee joints using stereophotogrammetry. *Journal of Biomechanics*, 24: 761-776, 1991.
10. Franz, T, Hasler, EM, Hagg, R, Weiler, C, Jakob, RP, Mainil-Varlet, P: In situ compressive stiffness, biochemical composition, and structural integrity of articular cartilage of the human knee joint. *Osteoarthritis and Cartilage*, 9: 582-592, 2001.
11. Eckstein, F, Faber, S, Mühlbauer, R, Hohe, J, Englmeier, KH, Reiser, M, Putz, R: Functional adaptation of human joints to mechanical stimuli. *Osteoarthritis and Cartilage*, 10: 44-50.
12. Shepherd, DET, Seedhom, BB: Thickness of human articular cartilage in joints of the lower limb. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 58: 27-34, 1999.
13. Schwarz, ML, Schneider-Wald, B, Krase, A, Richter, W, Reisig, G, Kreinest, M, Heute, S, Pott, PP, Brade, J, Schutte, A: Tribological assessment of articular cartilage. A system for the analysis of the friction coefficient of cartilage, regenerates and tissue engineering constructs; initial results. *Orthopäde*, 41: 827-836, 2012.
14. Aigner, T, Soder, S: Typing, grading and staging of osteoarthritis: histopathological assessment of joint degeneration. *Z Rheumatol*, 67: 32-36, 38-40, 2008.
15. Rudert, M, Wirth, CJ: Knorpelregeneration und Knorpelersatz. In: *Kompendium der praktischen Medizin*. edited by König, B., Reinhardt, D., Schuster, H.-P., Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg, 2000, pp 1205-1218.
16. Poole, CA: Review. Articular cartilage chondrons: form, function and failure. *Journal of Anatomy*, 191: 1-13, 1997.
17. Schumacher, BL, Block, JA, Schmid, TM, Aydelotte, MB, Kuettner, KE: A Novel Proteoglycan Synthesized and Secreted by Chondrocytes of the Superficial Zone of Articular Cartilage. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 311: 144-152, 1994.
18. Jackson, A, Gu, W: Transport properties of cartilaginous tissues. *Current rheumatology reviews*, 5: 40, 2009.

19. Bhosale, AM, Richardson, JB: Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *British Medical Bulletin*, 87: 77-95, 2008.
20. Muir, H, Bullough, P, Maroudas, A: The distribution of collagen in human articular cartilage with some of its physiological implications. *Bone & Joint Journal*, 52-B: 554-563, 1970.
21. O'Connor, P, Orford, CR, Gardner, DL: Differential response to compressive loads of zones of canine hyaline articular cartilage: micromechanical, light and electron microscopic studies. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 47: 414-420, 1988.
22. Neu, CP, Komvopoulos, K, Reddi, AH: The interface of functional biotribology and regenerative medicine in synovial joints. *Tissue Eng Part B Rev*, 14: 235-247, 2008.
23. Meachim, G, Allibone, R: Topographical variation in the calcified zone of upper femoral articular cartilage. *J Anat*, 139: 341-352, 1984.
24. Revell, PA, Pirie, C, Amir, G, Rashad, S, Walker, F: Metabolic activity in the calcified zone of cartilage: Observations on tetracycline labelled articular cartilage in human osteoarthritic hips. *Rheumatology International*, 10: 143-147, 1990.
25. Broom, ND, Poole, CA: A functional-morphological study of the tidemark region of articular cartilage maintained in a non-viable physiological condition. *Journal of Anatomy*, 135: 65-82, 1982.
26. Bullough, P, Jagannath, A: The morphology of the calcification front in articular cartilage. Its significance in joint function. *Bone & Joint Journal*, 65-B: 72-78, 1983.
27. Clark, AL, Barclay, LD, Matyas, JR, Herzog, W: In situ chondrocyte deformation with physiological compression of the feline patellofemoral joint. *Journal of Biomechanics*, 36: 553-568, 2003.
28. Buckwalter, JA, Mankin, HJ: Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons - Articular Cartilage. Part I: Tissue Design and Chondrocyte-Matrix Interactions*†. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 79: 600-611, 1997.
29. Roughley, PJ, Lee, ER: Cartilage proteoglycans: structure and potential functions. *Microsc Res Tech*, 28: 385-397, 1994.
30. Chen, FS, Frenkel, SR, Di Cesare, PE: Repair of articular cartilage defects: part I. Basic Science of cartilage healing. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, 28: 31-33, 1999.
31. and, VCM, Guo, XE: Mechano-Electrochemical Properties Of Articular Cartilage: Their Inhomogeneities and Anisotropies. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 4: 175-209, 2002.
32. Sophia Fox, AJ, Bedi, A, Rodeo, SA: The Basic Science of Articular Cartilage: Structure, Composition, and Function. *Sports Health*, 1: 461-468, 2009.
33. Palfrey, AJ, Davies, DV: The fine structure of chondrocytes. *Journal of Anatomy*, 100: 213-226, 1966.
34. Archer, CW, Francis-West, P: The chondrocyte. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35: 401-404, 2003.
35. Hubrt: Anatomy, Biochemistry, and Physiology of Articular Cartilage.
36. Kuettner, KE: NACB 15th Annual Symposium: Advances in Clinical Laboratory Evaluation of Cartilage, Bone, and Systemic Rheumatic Diseases Biochemistry of articular cartilage in health and disease. *Clinical Biochemistry*, 25: 155-163, 1992.

37. Quinn, TM, Hunziker, EB, Häuselmann, H-J: Variation of cell and matrix morphologies in articular cartilage among locations in the adult human knee. *Osteoarthritis and Cartilage*, 13: 672-678.
38. Cancedda, R, Cancedda, FD, Castagnola, P: Chondrocyte Differentiation. In: *International Review of Cytology*. edited by KWANG, W. J., JONATHAN, J., Academic Press, 1995, pp 265-358.
39. Ghadially, FN: *Fine Structure of Synovial Joints: A Text and Atlas of the Ultrastructure of Normal and Pathological Articular Tissues*, Butterworths, 1983.
40. Onyekwelu, I, Goldring, MB, Hidaka, C: Chondrogenesis, joint formation, and articular cartilage regeneration. *Journal of Cellular Biochemistry*, 107: 383-392, 2009.
41. Stockwell, RA: Chondrocytes. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)*, 12: 7-13, 1978.
42. Muir, H: The chondrocyte, architect of cartilage. Biomechanics, structure, function and molecular biology of cartilage matrix macromolecules. *BioEssays*, 17: 1039-1048, 1995.
43. Mohr, W, Endres-Klein, R: *Gelenkpathologie: Historische Grundlagen, Ursachen und Entwicklungen von Gelenkleiden und ihre Pathomorphologie*, Springer Berlin Heidelberg, 2000.
44. Söder, S, Aigner, T: Osteoarthritis. *Der Pathologe*, 32: 183-192, 2011.
45. Jadin, KD, Wong, BL, Bae, WC, Li, KW, Williamson, AK, Schumacher, BL, Price, JH, Sah, RL: Depth-varying Density and Organization of Chondrocytes in Immature and Mature Bovine Articular Cartilage Assessed by 3D Imaging and Analysis. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 53: 1109-1119, 2005.
46. Bruckner, P, van der Rest, M: Structure and function of cartilage collagens. *Microscopy Research and Technique*, 28: 378-384, 1994.
47. Setton, LA, Zhu, W, Mow, VC: The biphasic poroviscoelastic behavior of articular cartilage: Role of the surface zone in governing the compressive behavior. *Journal of Biomechanics*, 26: 581-592, 1993.
48. Poole, AR, Kojima, T, Yasuda, T, Mwale, F, Kobayashi, M, Laverty, S: Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clin Orthop Relat Res*: S26-33, 2001.
49. Burgeson, RE, Nimni, ME: Collagen types. Molecular structure and tissue distribution. *Clin Orthop Relat Res*: 250-272, 1992.
50. Aigner, T, Stöve, J: Collagens—major component of the physiological cartilage matrix, major target of cartilage degeneration, major tool in cartilage repair. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55: 1569-1593, 2003.
51. Eyre, DR, Wu, JJ, Woods, PE: The cartilage collagens: structural and metabolic studies. *J Rheumatol Suppl*, 27: 49-51, 1991.
52. Akizuki, S, Mow, VC, Müller, F, Pita, JC, Howell, DS, Manicourt, DH: Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus. *Journal of Orthopaedic Research*, 4: 379-392, 1986.
53. ap Gwynn, I, Wade, S, Ito, K, Richards, RG: Novel aspects to the structure of rabbit articular cartilage. *Eur Cell Mater*, 4: 18-29, 2002.
54. Watanabe, H, Yamada, Y, Kimata, K: Roles of Aggrecan, a Large Chondroitin Sulfate Proteoglycan, in Cartilage Structure and Function. *Journal of Biochemistry*, 124: 687-693, 1998.
55. Buckwalter, JA, Pita, JC, Muller, FJ, Nessler, J: Structural differences between two populations of articular cartilage proteoglycan aggregates. *Journal of Orthopaedic Research*, 12: 144-148, 1994.

56. Doege, KJ, Sasaki, M, Kimura, T, Yamada, Y: Complete coding sequence and deduced primary structure of the human cartilage large aggregating proteoglycan, aggrecan. Human-specific repeats, and additional alternatively spliced forms. *Journal of Biological Chemistry*, 266: 894-902, 1991.
57. Hardingham, TE, Fosang, AJ: Proteoglycans: many forms and many functions. *The FASEB Journal*, 6: 861-870, 1992.
58. Vanwanseele, B, Lucchinetti, E, Stüssi, E: The effects of immobilization on the characteristics of articular cartilage: current concepts and future directions. *Osteoarthritis and Cartilage*, 10: 408-419.
59. Toynebee, J: Researches, Tending to Prove the Non-Vascularity and the Peculiar Uniform Mode of Organization and Nutrition of Certain Animal Tissues, Viz. Articular Cartilage, and the Cartilage of the Different Classes of Fibro-Cartilage; the Cornea, the Crystalline Lens, and the Vitreous Humour; and the Epidermoid Appendages. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 131: 159-192, 1841.
60. Schoppa, C: Knorpel-Markraumkommunikation im Hüftkopf unter normalen und pathologischen Bedingungen. Dissertation Universität Ulm, 1997.
61. Havelka, SM, V.; Hess, L.: Nachweis der subchondralen Ernährungsrouten im erwachsenen Gelenkknorpel. *Akt Rheumatol*, 16: 10-12, 1991.
62. Mankin, HJ: The response of articular cartilage to mechanical injury. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 64: 460-466, 1982.
63. Burkart, A, Imhoff, BA: Present and future therapy of cartilage damage. *Arthroskopie*, 12: 279-288, 1999.
64. Honner, R, Thompson, RC: The Nutritional Pathways of Articular Cartilage. An autoradiographic study in rabbits using ³⁵S injected intravenously, 53: 742-748, 1971.
65. Ogata, K, Whiteside, LA, Lesker, PA: Subchondral route for nutrition to articular cartilage in the rabbit. Measurement of diffusion with hydrogen gas in vivo. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 60: 905-910, 1978.
66. Metz, J: Makroskopie, Histologie und Zellbiologie des Gelenkknorpels. In: *Gelenkknorpeldefekte*. edited by Ergellet, C., Steinwachs, M., Heidelberg, Steinkopff, 2001, pp 3-14.
67. Bailey, FR, Copenhaver, WM, Kelly, DE, Wood, RL: *Bailey's Textbook of Histology*, Williams & Wilkins, 1978.
68. Fischer, AE, Carpenter, TA, Tyler, JA, Hall, LD: Visualisation of mass transport of small organic molecules and metal ions through articular cartilage by magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Imaging*, 13: 819-826, 1995.
69. Bichat, MFX: *Allgemeine Anatomie angewandt auf die Physiologie und Arzneiwissenschaft*. - Leipzig, Siegfried Lebrecht Crusius 1802-1823, Siegfried Lebrecht Crusius, 1803.
70. Balazs, EA, Watson, D, Duff, IF, Roseman, S: Hyaluronic acid in synovial fluid. I. Molecular parameters of hyaluronic acid in normal and arthritic human fluids. *Arthritis & Rheumatism*, 10: 357-376, 1967.
71. Heilmann, H-HL, K.; Walther, H.-U.: Das Synovia-Volumen gesunder und arthrotischer menschlicher Kniegelenke. *Z Orthop Unfall*, 134: 144-148, 1996.
72. Mow, VC, Ratcliffe, A, Robin Poole, A: Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures. *Biomaterials*, 13: 67-97, 1992.
73. Knox, P, Levick, JR, McDonald, JN: Synovial Fluid - Its Mass, Macromolecular Content And Pressure In Major Limb Joints Of The Rabbit. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 73: 33-45, 1988.

74. Sanchez-Adams, J, Athanasiou, KA: Biomechanical Characterization of Single Chondrocytes. In: *Cellular and Biomolecular Mechanics and Mechanobiology*. edited by GEFEN, A., Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg, 2011, pp 247-266.
75. Guilak, F, Mow, VC: The mechanical environment of the chondrocyte: a biphasic finite element model of cell–matrix interactions in articular cartilage. *Journal of Biomechanics*, 33: 1663-1673, 2000.
76. Raimondi, MT, Boschetti, F, Falcone, L, Fiore, GB, Remuzzi, A, Marinoni, E, Marazzi, M, Pietrabissa, R: Mechanobiology of engineered cartilage cultured under a quantified fluid-dynamic environment. *Biomech Model Mechanobiol*, 1: 69-82, 2002.
77. Huang, C-Y, Stankiewicz, A, Ateshian, GA, Mow, VC: Anisotropy, inhomogeneity, and tension–compression nonlinearity of human glenohumeral cartilage in finite deformation. *Journal of Biomechanics*, 38: 799-809, 2005.
78. Jurvelin, J, Kiviranta, I, Säämänen, AM, Tammi, M, Helminen, HJ: Indentation stiffness of young canine knee articular cartilage as related to matrix proteoglycans and collagen. *Journal of Biomechanics*, 23: 1239-1246, 1988.
79. Park, S, Costa, KD, Ateshian, GA: Microscale frictional response of bovine articular cartilage from atomic force microscopy. *Journal of Biomechanics*, 37: 1679-1687, 2004.
80. Soltz, MA, Ateshian, GA: Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in confined compression. *J Biomech*, 31: 927-934, 1998.
81. Wong, M, Carter, DR: Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*, 33: 1-13, 2003.
82. Carter, DR, Beaupre, GS, Wong, M, Smith, RL, Andriacchi, TP, Schurman, DJ: The mechanobiology of articular cartilage development and degeneration. *Clin Orthop Relat Res*: S69-77, 2004.
83. Wood, A, Oldham, F, Raven, CE: *Thomas Young: Natural Philosopher 1773-1829*, Cambridge University Press, 2011.
84. Henak, CR, Anderson, AE, Weiss, JA: Subject-Specific Analysis of Joint Contact Mechanics: Application to the Study of Osteoarthritis and Surgical Planning. *Journal of Biomechanical Engineering*, 135: 0210031-02100326, 2013.
85. Taylor, ZA, Miller, K: Constitutive Modeling of Cartilaginous Tissues: a Review. *Journal of Applied Biomechanics*, 22: 212-229, 2006.
86. Kempson, GE, Freeman, MAR, Swanson, SAV: The determination of a creep modulus for articular cartilage from indentation tests on the human femoral head. *Journal of Biomechanics*, 4: 239-250, 1971.
87. Armstrong, CG, Mow, VC: Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 64: 88-94, 1982.
88. Mak, AF, Lai, WM, Mow, VC: Biphasic indentation of articular cartilage—I. Theoretical analysis. *Journal of Biomechanics*, 20: 703-714, 1987.
89. Mow, VC, Gibbs, MC, Lai, WM, Zhu, WB, Athanasiou, KA: Biphasic indentation of articular cartilage - A numerical algorithm and an experimental study. *Journal of Biomechanics*, 22: 853-861, 1989.
90. Huang, C-Y, Mow, VC, Ateshian, GA: The Role of Flow-Independent Viscoelasticity in the Biphasic Tensile and Compressive Responses of Articular Cartilage. *Journal of Biomechanical Engineering*, 123: 410-417, 2001.
91. Mow, VC, Holmes, MH, Michael Lai, W: Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: A review. *Journal of Biomechanics*, 17: 377-394, 1984.

92. Mow, VC, Kuei, SC, Lai, WM, Armstrong, CG: Biphase Creep and Stress Relaxation of Articular Cartilage in Compression: Theory and Experiments. *Journal of Biomechanical Engineering*, 102: 73-84, 1980.
93. Laasanen, MS, Toyras, J, Korhonen, RK, Rieppo, J, Saarakkala, S, Nieminen, MT, Hirvonen, J, Jurvelin, JS: Biomechanical properties of knee articular cartilage. *Biorheology*, 40: 133-140, 2003.
94. Korhonen, RK, Laasanen, MS, Töyräs, J, Rieppo, J, Hirvonen, J, Helminen, HJ, Jurvelin, JS: Comparison of the equilibrium response of articular cartilage in unconfined compression, confined compression and indentation. *Journal of Biomechanics*, 35: 903-909, 2002.
95. Lai, WM, Hou, JS, Mow, VC: A Triphasic Theory for the Swelling and Deformation Behaviors of Articular Cartilage. *Journal of Biomechanical Engineering*, 113: 245-258, 1991.
96. Eisenberg, SR, Grodzinsky, AJ: Swelling of articular cartilage and other connective tissues: Electromechanochemical forces. *Journal of Orthopaedic Research*, 3: 148-159, 1985.
97. Bursać, P, McGrath, CV, Eisenberg, SR, Stamenović, D: A Microstructural Model of Elastostatic Properties of Articular Cartilage in Confined Compression. *Journal of Biomechanical Engineering*, 122: 347-353, 2000.
98. Narmoneva, DA, Wang, JY, Setton, LA: Nonuniform swelling-induced residual strains in articular cartilage. *Journal of Biomechanics*, 32: 401-408, 1999.
99. Aigner, T, McKenna, L: Molecular pathology and pathobiology of osteoarthritic cartilage. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59: 5-18, 2002.
100. Mow, VC, Lai, WM, Holmes, MH: Advanced Theoretical and Experimental Techniques in Cartilage Research. In: *Biomechanics: Principles and Applications: Selected Proceedings of the 3rd General Meeting of the European Society of Biomechanics Nijmegen, The Netherlands, 21–23 January 1982*. edited by Huiskes, R., Van Campen, D. H., De Wijn, J. R., Dordrecht, Springer Netherlands, 1982, pp 47-74.
101. Bader, DL, Kempson, GE, Egan, J, Gilbey, W, Barrett, AJ: The Effects of Selective Matrix Degradation on the Short-Term Compressive Properties of Adult Human Articular-Cartilage. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1116: 147-154, 1992.
102. Kim, Y-J, Bonassar, LJ, Grodzinsky, AJ: The role of cartilage streaming potential, fluid flow and pressure in the stimulation of chondrocyte biosynthesis during dynamic compression. *Journal of Biomechanics*, 28: 1055-1066, 1995.
103. Mow VC, RA: *Structure and Function of Articular Cartilage and Meniscus*, Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 1997.
104. Arokoski, JPA, Jurvelin, JS, Vätäinen, U, Helminen, HJ: Normal and pathological adaptations of articular cartilage to joint loading. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 10: 186-198, 2000.
105. Coles, JM, Blum, JJ, Jay, GD, Darling, EM, Guilak, F, Zauscher, S: In Situ Friction Measurement on Murine Cartilage by Atomic Force Microscopy. *Journal of biomechanics*, 41: 541-548, 2008.
106. Gannon, AR, Nagel, T, Kelly, DJ: The role of the superficial region in determining the dynamic properties of articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20: 1417-1425, 2012.
107. Ateshian, GA, Wang, H: A theoretical solution for the frictionless rolling contact of cylindrical biphasic articular cartilage layers. *Journal of Biomechanics*, 28: 1341-1355, 1995.
108. Mansour, JM: Biomechanics of cartilage. *Kinesiology: the mechanics and pathomechanics of human movement*: 66-79, 2003.

109. Lai, WM, Mow, VC: Drag-induced compression of articular cartilage during a permeation experiment. *Biorheology*, 17: 111-123, 1980.
110. Mansour, J, Mow, V: The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 58: 509-516, 1976.
111. Maroudas, A: Physicochemical Properties of Cartilage in the Light of Ion Exchange Theory. *Biophysical Journal*, 8: 575-595, 1968.
112. Maroudas, A, Bullough, P: Permeability of Articular Cartilage. *Nature*, 219: 1260-1261, 1968.
113. Maroudas, A, Bannan, C: Measurement of swelling pressure in cartilage and comparison with the osmotic pressure of constituent proteoglycans. *Biorheology*, 18: 619-632, 1981.
114. Maroudas, A: Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage. *Nature*, 260: 808-809, 1976.
115. van den Berg, F, Wolf, B: *Angewandte Physiologie: Band 1: Das Bindegewebe des Bewegungsapparates verstehen und beeinflussen*, Thieme, 2010.
116. Gardner, DL, McGillivray, DC: Living articular cartilage is not smooth. The structure of mammalian and avian joint surfaces demonstrated in vivo by immersion incident light microscopy. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 30: 3-9, 1971.
117. Moa-Anderson BJ, CK, Hung CT, Ateshian GA: Bovine articular cartilage surface topography and roughness in fresh versus frozen tissue samples using atomic force microscopy. *Proceedings of 2003 Summer Bioengineering Conference*, 2003.
118. Forster, H, Fisher, J: The influence of loading time and lubricant on the friction of articular cartilage. *ARCHIVE: Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine 1989-1996 (vols 203-210)*, 210: 109-119, 1996.
119. Merkhara Y., SS, I. Etsiona, A. Maroudasb, G. Halperina, A. Yosef A rational human joint friction test using a human cartilage-on-cartilage arrangement. *Tribol Lett*: 29-36, 2006.
120. Feynman, RP, Leighton, RB, Sands, M: *Feynman-Vorlesungen über Physik Bd. 1. Mechanik, Strahlung, Wärme*, De Gruyter, 2015.
121. Dowson, D, Wright, V: *Introduction to the Biomechanics of Joints and Joint Replacement*, Wiley, 1981.
122. Sakai, N, Hashimoto, C, Yarimitsu, S, Sawae, Y, Komori, M, Murakami, T: A functional effect of the superficial mechanical properties of articular cartilage as a load bearing system in a sliding condition. *Biosurface and Biotribology*, 2: 26-39, 2016.
123. Mizrahi, J, Maroudas, A, Lanir, Y, Ziv, I, Webber, TJ: The "instantaneous" deformation of cartilage: effects of collagen fiber orientation and osmotic stress. *Biorheology*, 23: 311-330, 1986.
124. Kääh, MJ, Ito, K, Clark, JM, Nötzli, HP: Deformation of articular cartilage collagen structure under static and cyclic loading. *Journal of Orthopaedic Research*, 16: 743-751, 1998.
125. Pan, J, Zhou, X, Li, W, Novotny, JE, Doty, SB, Wang, L: In Situ measurement of transport between subchondral bone and articular cartilage. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 27: 1347-1352, 2009.

126. Mente, PL, Lewis, JL: Elastic modulus of calcified cartilage is an order of magnitude less than that of subchondral bone. *Journal of Orthopaedic Research*, 12: 637-647, 1994.
127. Imhof: Importance of subchondral bone to articular cartilage in health and disease.
128. RADIN, EL, PAUL, IL, LOWY, M: A Comparison of the Dynamic Force Transmitting Properties of Subchondral Bone and Articular Cartilage. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 52: 444-456, 1970.
129. Malekipour, F, Whitton, C, Oetomo, D, Lee, PV: Shock absorbing ability of articular cartilage and subchondral bone under impact compression. *J Mech Behav Biomed Mater*, 26: 127-135, 2013.
130. Radin, EL, Paul, IL: Does cartilage compliance reduce skeletal impact loads?. the relative force-attenuating properties of articular cartilage, synovial fluid, periarticular soft tissues and bone. *Arthritis & Rheumatism*, 13: 139-144, 1970.
131. Simon, SR, Radin, EL, Paul, IL, Rose, RM: The response of joints to impact loading — II In vivo behavior of subchondral bone. *Journal of Biomechanics*, 5: 267-272, 1972.
132. Goldring, MB, Goldring, SR: Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1192: 230-237, 2010.
133. v. Müller, F: Differentiation of the diseases included under chronic arthritis. (Differenzierung der chronischen Gelenkentzündungen.). *Münch med Wschr*, 60: 2017-2018, 1913.
134. Assmann, H: Klinische Einteilung der Chronischen Gelenkerkrankungen. *Klinische Wochenschrift*, 4: 1504-1508, 1925.
135. Bischoff, HP, Heisel, J, Locher, HA, Abdolvahab, F, Abel, FR: *Praxis der konservativen Orthopädie*, Thieme, 2007.
136. Hunter, DJ: Osteoarthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 25: 801-814, 2011.
137. Malfait, AM: Osteoarthritis year in review 2015: biology. *Osteoarthritis and Cartilage*, 24: 21-26, 2016.
138. Lane, NE, Brandt, K, Hawker, G, Peeva, E, Schreyer, E, Tsuji, W, Hochberg, MC: OARSI-FDA initiative: defining the disease state of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 19: 478-482, 2011.
139. Altman, RD: Classification of disease: Osteoarthritis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 20: 40-47, 1991.
140. Altman, R, Asch, E, Bloch, D, Bole, G, Borenstein, D, Brandt, K, Christy, W, Cooke, TD, Greenwald, R, Hochberg, M, Howell, D, Kaplan, D, Koopman, W, Longley, S, Mankin, H, McShane, DJ, Medsger, T, Meenan, R, Mikkelsen, W, Moskowitz, R, Murphy, W, Rothschild, B, Segal, M, Sokoloff, L, Wolfe, F: Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis: Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis & Rheumatism*, 29: 1039-1049, 1986.
141. Nuki, G: Osteoarthritis: a problem of joint failure. *Zeitschrift für Rheumatologie*, 58: 142-147, 1999.
142. Felson, DT, Lawrence, RC, Dieppe, PA, Hirsch, R, Helmick, CG, Jordan, JM, Kington, RS, Lane, NE, Nevitt, MC, Zhang, Y, Sowers, M, McAlindon, T, Spector, TD, Poole, AR, Yanovski, SZ, Ateshian, G, Sharma, L, Buckwalter, JA, Brandt, KD, Fries, JF: Osteoarthritis: New Insights. Part 1: The Disease and Its Risk Factors. *Annals of Internal Medicine*, 133: 635-646, 2000.

143. Glyn-Jones, S, Palmer, AJR, Agricola, R, Price, AJ, Vincent, TL, Weinans, H, Carr, AJ: Osteoarthritis. *The Lancet*, 386: 376-387, 2015.
144. Felson, DT: An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis. *Radiologic Clinics*, 42: 1-9.
145. Lawrence, RC, Felson, DT, Helmick, CG, Arnold, LM, Choi, H, Deyo, RA, Gabriel, S, Hirsch, R, Hochberg, MC, Hunder, GG, Jordan, JM, Katz, JN, Maradit Kremers, H, Wolfe, F, for the National Arthritis Data, W: Estimates of the Prevalence of Arthritis and Other Rheumatic Conditions in the United States, Part II. *Arthritis and Rheumatism*, 58: 26-35, 2008.
146. Felson, DT, Zhang, Y, Hannan, MT, Naimark, A, Weissman, BN, Aliabadi, P, Levy, D: The incidence and natural history of knee osteoarthritis in the elderly, the framingham osteoarthritis study. *Arthritis & Rheumatism*, 38: 1500-1505, 1995.
147. van Saase, JL, van Romunde, LK, Cats, A, Vandenbroucke, JP, Valkenburg, HA: Epidemiology of osteoarthritis: Zoetermeer survey. Comparison of radiological osteoarthritis in a Dutch population with that in 10 other populations. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 48: 271-280, 1989.
148. Kallman, DA, Wigley, FM, Scott, WW, Jr., Hochberg, MC, Tobin, JD: The longitudinal course of hand osteoarthritis in a male population. *Arthritis Rheum*, 33: 1323-1332, 1990.
149. Srikanth, VK, Fryer, JL, Zhai, G, Winzenberg, TM, Hosmer, D, Jones, G: A meta-analysis of sex differences prevalence, incidence and severity of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 13: 769-781, 2005.
150. Arden, N, Nevitt, MC: Osteoarthritis: Epidemiology. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 20: 3-25, 2006.
151. Rehart, S, Lehnert, H: [Arthrosis update]. *Z Rheumatol*, 67: 305-314, 2008.
152. Loughlin, J: Genetic epidemiology of primary osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, 13: 111-116, 2001.
153. Reginato, AM, Olsen, BR: The role of structural genes in the pathogenesis of osteoarthritic disorders. *Arthritis Research & Therapy*, 4: 1-9, 2002.
154. Blagojevic, M, Jinks, C, Jeffery, A, Jordan, KP: Risk factors for onset of osteoarthritis of the knee in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18: 24-33.
155. Anedron, JJ, Felson, DT: Factors associated with osteoarthritis of the knee in the first national health and nutrition examination survey (Hanes I): Evidence for an association with overweight, race, and physical demands of work. *American Journal of Epidemiology*, 128: 179-189, 1988.
156. Messier, SP, Gutekunst, DJ, Davis, C, DeVita, P: Weight loss reduces knee-joint loads in overweight and obese older adults with knee osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 52: 2026-2032, 2005.
157. Muthuri, SG, McWilliams, DF, Doherty, M, Zhang, W: History of knee injuries and knee osteoarthritis: a meta-analysis of observational studies. *Osteoarthritis and Cartilage*, 19: 1286-1293, 2011.
158. Pond, MJ, Nuki, G: Experimentally-induced osteoarthritis in the dog. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 32: 387-388, 1973.
159. Neuman, P, Englund, M, Kostogiannis, I, Fridén, T, Roos, H, Dahlberg, LE: Prevalence of Tibiofemoral Osteoarthritis 15 Years After Nonoperative Treatment of Anterior Cruciate Ligament Injury: A Prospective Cohort Study. *The American Journal of Sports Medicine*, 36: 1717-1725, 2008.

160. Englund, M, Paradowski, PT, Lohmander, LS: Association of radiographic hand osteoarthritis with radiographic knee osteoarthritis after meniscectomy. *Arthritis & Rheumatism*, 50: 469-475, 2004.
161. Engelhardt, P: *Das Risiko der sekundären Koxarthrose nach Hüftluxation, Morbus Perthes und Epiphyseolysis capitis femoris*, Stuttgart, Thieme, 1988.
162. Agricola, R, Waarsing, JH, Arden, NK, Carr, AJ, Bierma-Zeinstra, SMA, Thomas, GE, Weinans, H, Glyn-Jones, S: Cam impingement of the hip[mdash]a risk factor for hip osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*, 9: 630-634, 2013.
163. Buckwalter JA, MH, Grodzinsky AJ: Articular Cartilage and Osteoarthritis. *Instr Course Lect*, 54: 465-480, 1995.
164. Martel-Pelletier J, PJ: Is osteoarthritis a disease involving only cartilage or other articular tissues? *Joint Diseases and Related Surgery*, 21: 2-14, 2010.
165. Oehler, S, Neureiter, D, Meyer-Scholten, C, Aigner, T: Subtyping of osteoarthritic synoviopathy. *Clin Exp Rheumatol*, 20: 633-640, 2002.
166. Scanzello, CR, Goldring, SR: The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone*, 51: 249-257, 2012.
167. Cole, AA, Chubinskaya, S, Schumacher, B, Huch, K, Cs-Szabo, G, Yao, J, Mikecz, K, Hasty, KA, Kuettner, KE: Chondrocyte Matrix Metalloproteinase-8: Human Articular chondrocytes express neutrophil collagens. *Journal of Biological Chemistry*, 271: 11023-11026, 1996.
168. Shlopov, BV, Lie, W-R, Mainardi, CL, Cole, AA, Chubinskaya, S, Hasty, KA: Osteoarthritic Lesions. Involvement of three different collagenases. *Arthritis & Rheumatism*, 40: 2065-2074, 1997.
169. Kim, HA, Cho, M-L, Choi, HY, Yoon, CS, Jhun, JY, Oh, HJ, Kim, H-Y: The catabolic pathway mediated by Toll-like receptors in human osteoarthritic chondrocytes. *Arthritis & Rheumatism*, 54: 2152-2163, 2006.
170. Aigner, T, Hemmel, M, Neureiter, D, Gebhard, PM, Zeiler, G, Kirchner, T, McKenna, L: Apoptotic cell death is not a widespread phenomenon in normal aging and osteoarthritic human articular knee cartilage: A study of proliferation, programmed cell death (apoptosis), and viability of chondrocytes in normal and osteoarthritic human knee cartilage. *Arthritis & Rheumatism*, 44: 1304-1312, 2001.
171. Wick, MC, Jaschke, W, Klauser, AS: Radiological imaging of osteoarthritis of the knee. *Radiologe*, 52: 994-1002, 2012.
172. Weinans, H, Siebelt, M, Agricola, R, Botter, SM, Piscoer, TM, Waarsing, JH: Pathophysiology of peri-articular bone changes in osteoarthritis. *Bone*, 51: 190-196, 2012.
173. Suri, S, Walsh, DA: Osteochondral alterations in osteoarthritis. *Bone*, 51: 204-211, 2012.
174. Voegeli, E: *Praktische Skelettradiologie*, Huber, 1999.
175. Goldring, MB: Chondrogenesis, chondrocyte differentiation, and articular cartilage metabolism in health and osteoarthritis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease*, 4: 269-285, 2012.
176. Gelse, K, Söder, S, Eger, W, Diemtar, T, Aigner, T: Osteophyte development—molecular characterization of differentiation stages. *Osteoarthritis and Cartilage*, 11: 141-148, 2003.
177. van der Kraan, PM, van den Berg, WB: Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15: 237-244, 2007.
178. Dürr, HR, Martin, H, Pellengahr, C, Schlemmer, M, Maier, M, Jansson, V: The cause of subchondral bone cysts in osteoarthrosis. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 75: 554-558, 2004.

179. Schmalzried, TP, Akizuki, KH, Fedenko, AN, Mirra, J: The Role of Access of Joint Fluid to Bone in Periarticular Osteolysis: A Report of Four Cases*. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 79: 447-452, 1997.
180. Kellgren, JH, Lawrence, JS: Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*, 16: 494-502, 1957.
181. Czichos, H, Celis, JP, Cowan, RS, HABIG, KH, Fischer, A, Gradt, T, Groche, P, Kleinlein, E, Knoll, G, Mang, T: *Tribologie-Handbuch: Tribometrie, Tribomaterialien, Tribotechnik*, Springer Fachmedien Wiesbaden, 2015.
182. Coulomb, CA: *Théorie des machines simples en ayant égard au frottement de leurs parties et à la roideur des cordages*. [online]. Verfügbar unter: <http://books.google.de/books?id=71RJAAAACAAJ> (Zugriff vom 16.07.2012), 1821.
183. Tribologie, GGf: GfT Arbeitsblatt 7 - Tribologie; Verschleiß, Reibung, Definitionen, Begriffe, Prüfung. 2002.
184. Peterson, DR, Bronzino, JD: *Biomechanics: Principles and Applications, Second Edition*, CRC Press, 2007.
185. Katta, J, Jin, Z, Ingham, E, Fisher, J: Biotribology of articular cartilage—A review of the recent advances. *Medical Engineering & Physics*, 30: 1349-1363, 2008.
186. Shi, L, Sikavitsas, VI, Striolo, A: Experimental friction coefficients for bovine cartilage measured with a pin-on-disk tribometer: testing configuration and lubricant effects. *Ann Biomed Eng*, 39: 132-146, 2011.
187. Katta, J, Jin, Z, Ingham, E, Fisher, J: Effect of nominal stress on the long term friction, deformation and wear of native and glycosaminoglycan deficient articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 17: 662-668, 2009.
188. Noble, P, Collin, B, Lecomte-Beckers, J, Magnee, A, Denoix, JM, Serteyn, D: An equine joint friction test model using a cartilage-on-cartilage arrangement. *Vet J*, 183: 148-152, 2010.
189. Chan, SMT, Neu, CP, Komvopoulos, K, Reddi, AH: Dependence of nanoscale friction and adhesion properties of articular cartilage on contact load. *Journal of Biomechanics*, 44: 1340-1345, 2011.
190. Stachowiak, GW, Batchelor, AW, Griffiths, LJ: Friction and wear changes in synovial joints. *Wear*, 171: 135-142, 1994.
191. Zhang, JL, Burton, AP, Jin, ZM, Fisher, J, Williams, S: Friction of Articular Cartilage under Different Pressures and Sliding Velocities. *Journal of Biomechanics*, 41: S287, 2008.
192. Northwood, E, Fisher, J: A multi-directional in vitro investigation into friction, damage and wear of innovative chondroplasty materials against articular cartilage. *Clinical Biomechanics*, 22: 834-842, 2007.
193. Gleghorn, JP, Bonassar, LJ: Lubrication mode analysis of articular cartilage using Stribeck surfaces. *Journal of Biomechanics*, 41: 1910-1918, 2008.
194. Krishnan, R, Caligaris, M, Mauck, RL, Hung, CT, Costa, KD, Ateshian, GA: Removal of the superficial zone of bovine articular cartilage does not increase its frictional coefficient. *Osteoarthritis Cartilage*, 12: 947-955, 2004.
195. Krishnan, R, Kopacz, M, Ateshian, GA: Experimental verification of the role of interstitial fluid pressurization in cartilage lubrication. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 22: 565-570, 2004.
196. Kienle, S, Boettcher, K, Wiegler, L, Urban, J, Burgkart, R, Lieleg, O, Hugel, T: Comparison of friction and wear of articular cartilage on different length scales. *Journal of Biomechanics*, 48: 3052-3058, 2015.

197. Boettcher, K, Kienle, S, Nachtsheim, J, Burgkart, R, Hugel, T, Lieleg, O: The structure and mechanical properties of articular cartilage are highly resilient towards transient dehydration. *Acta Biomaterialia*, 29: 180-187, 2016.
198. Whitney, GA, Jayaraman, K, Dennis, JE, Mansour, JM: Scaffold-free cartilage subjected to frictional shear stress demonstrates damage by cracking and surface peeling. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*: n/a-n/a, 2014.
199. Forster, H, Fisher, J: The influence of continuous sliding and subsequent surface wear on the friction of articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 213: 329-345, 1999.
200. Teeple, E, Elsaid, KA, Fleming, BC, Jay, GD, Aslani, K, Crisco, JJ, Mechrefe, AP: Coefficients of Friction, Lubricin, and Cartilage Damage in the Anterior Cruciate Ligament-Deficient Guinea Pig Knee. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 26: 231-237, 2008.
201. Caligaris, M, Ateshian, GA: Effects of sustained interstitial fluid pressurization under migrating contact area, and boundary lubrication by synovial fluid, on cartilage friction. *Osteoarthritis and Cartilage*, 16: 1220-1227, 2008.
202. Caligaris, M, Canal, CE, Ahmad, CS, Gardner, TR, Ateshian, GA: Investigation of the frictional response of osteoarthritic human tibiofemoral joints and the potential beneficial tribological effect of healthy synovial fluid. *Osteoarthritis and Cartilage*, 17: 1327-1332, 2009.
203. Radin, EL, Swann, DA, Paul, IL, McGrath, PJ: Factors influencing articular cartilage wear in vitro. *Arthritis Rheum*, 25: 974-980, 1982.
204. Lee, DW, Banquy, X, Israelachvili, JN: Stick-slip friction and wear of articular joints. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110: E567-E574, 2013.
205. Mow, VC, Kuei, SC, Lai, WM, Armstrong, CG: Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression? Theory and experiments. *J Biomech Eng*, 102: 73-84, 1980.
206. Dowson, D, Wright, V, Longfield, MD: Human joint lubrication. *Biomedical engineering*, 4: 160-165, 1969.
207. Ateshian, GA: The role of interstitial fluid pressurization in articular cartilage lubrication. *Journal of Biomechanics*, 42: 1163-1176, 2009.
208. Swann, DA, Slayter, HS, Silver, FH: The molecular structure of lubricating glycoprotein-I, the boundary lubricant for articular cartilage. *Journal of biological chemistry*, 256: 5921-5925, 1981.
209. Flannery, CR, Hughes, CE, Schumacher, BL, Tudor, D, Aydelotte, MB, Kuettner, KE, Caterson, B: Articular Cartilage Superficial Zone Protein (SZP) Is Homologous to Megakaryocyte Stimulating Factor Precursor and Is a Multifunctional Proteoglycan with Potential Growth-Promoting, Cytoprotective, and Lubricating Properties in Cartilage Metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 254: 535-541, 1999.
210. Swann, DA, Silver, FH, Slayter, HS, Stafford, W, Shore, E: The molecular structure and lubricating activity of lubricin isolated from bovine and human synovial fluids. *Biochemical Journal*, 225: 195-201, 1985.
211. Bell, CJ, Ingham, E, Fisher, J: Influence of hyaluronic acid on the time-dependent friction response of articular cartilage under different conditions. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 220: 23-31, 2006.

212. Radin, EL, Swann, DA, Weisser, PA: Separation of a Hyaluronate-free Lubricating Fraction from Synovial Fluid. *Nature*, 228: 377-378, 1970.
213. Swann, DA, Radin, EL, Nazimiec, M, Weisser, PA, Curran, N, Lewinnek, G: Role of hyaluronic acid in joint lubrication. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 33: 318-326, 1974.
214. Mabuchi, K, Obara, T, Ikegami, K, Yamaguchi, T, Kanayama, T: Molecular weight independence of the effect of additive hyaluronic acid on the lubricating characteristics in synovial joints with experimental deterioration. *Clinical Biomechanics*, 14: 352-356, 1999.
215. Obara, T, Mabuchi, K, Iso, T, Yamaguchi, T: Increased friction of animal joints by experimental degeneration and recovery by addition of hyaluronic acid. *Clinical Biomechanics*, 12: 246-252, 1997.
216. Park, J-Y, Duong, C-T, Sharma, AR, Son, K-M, Thompson, MS, Park, S, Chang, J-D, Nam, J-S, Park, S, Lee, S-S: Effects of Hyaluronic Acid and ??Globulin Concentrations on the Frictional Response of Human Osteoarthritic Articular Cartilage. *PLoS ONE*, 9: e112684, 2014.
217. Bian, L, Kaplun, M, Williams, DY, Xu, D, Ateshian, GA, Hung, CT: Influence of Chondroitin Sulfate on the Biochemical, Mechanical and Frictional Properties of Cartilage Explants in Long Term Culture. *Journal of biomechanics*, 42: 286, 2009.
218. Katta, J, Jin, Z, Ingham, E, Fisher, J: Chondroitin sulphate: an effective joint lubricant? *Osteoarthritis and Cartilage*, 17: 1001-1008.
219. Charnley, J: The long-term results of low-friction arthroplasty of the hip performed as a primary intervention. *The Journal of bone and joint surgery British volume*, 54: 61-76, 1972.
220. Gomez, PF, Morcuende, JA: A Historical and Economic Perspective on Sir John Charnley, Chas F. Thackray Limited, and the Early Arthroplasty Industry. *The Iowa Orthopaedic Journal*, 25: 30-37, 2005.
221. Sommer, K, Heinz, R, Schöfer, J: *Verschleiß metallischer Werkstoffe: Erscheinungsformen sicher beurteilen*. Wiesbaden, Vieweg+Teubner, 2010, pp 40-118.
222. Stachowiak, GW, Podsiadlo, P: Analysis of wear particle boundaries found in sheep knee joints during in vitro wear tests without muscle compensation. *Journal of Biomechanics*, 30: 415-419, 1997.
223. Buckwalter, JA, Martin, JA: Osteoarthritis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58: 150-167, 2006.
224. Simon, WH: Wear properties of articular cartilage in vitro. *Journal of Biomechanics*, 4: 379-389, 1971.
225. Oungoulian, SR, Durney, KM, Jones, BK, Ahmad, CS, Hung, CT, Ateshian, GA: Wear and damage of articular cartilage with friction against orthopedic implant materials. *Journal of Biomechanics*, 48: 1957-1964, 2015.
226. Verberne, G, Merkher, Y, Halperin, G, Maroudas, A, Etsion, I: Techniques for assessment of wear between human cartilage surfaces. *Wear*, 266: 1216-1223, 2009.
227. Lipshitz, H, Glimcher, MJ: In vitro studies of the wear of articular cartilage II. Characteristics of the wear of articular cartilage when worn against stainless steel plates having characterized surfaces. *Wear*, 52: 297-339, 1979.
228. Lipshitz, H, Etheredge, R, Glimcher, M: In vitro wear of articular cartilage. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 57: 527-534, 1975.
229. Bank, RA, Krikken, M, Beekman, B, Stoop, R, Maroudas, A, Lafebbers, FPJG, Te Koppele, JM: A simplified measurement of degraded collagen in tissues:

- Application in healthy, fibrillated and osteoarthritic cartilage. *Matrix Biology*, 16: 233-243, 1997.
230. Hollander, AP, Heathfield, TF, Webber, C, Iwata, Y, Bourne, R, Rorabeck, C, Poole, AR: Increased damage to type II collagen in osteoarthritic articular cartilage detected by a new immunoassay. *Journal of Clinical Investigation*, 93: 1722-1732, 1994.
231. Peng, Z: Osteoarthritis diagnosis using wear particle analysis technique: Investigation of correlation between particle and cartilage surface in walking process. *Wear*, 262: 630-640, 2007.
232. Podsiadlo, P, Kuster, M, Stachowiak, GW: Numerical analysis of wear particles from non-arthritic and osteoarthritic human knee joints. *Wear*, 210: 318-325, 1997.
233. Oungoulian, SR, Chang, S, Bortz, O, Hehir, KE, Zhu, K, Willis, CE, Hung, CT, Ateshian, GA: Articular Cartilage Wear Characterization With a Particle Sizing and Counting Analyzer. *Journal of Biomechanical Engineering*, 135: 0245011-0245014, 2013.
234. Desrochers, J, Amrein, MW, Matyas, JR: Microscale surface friction of articular cartilage in early osteoarthritis. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 25: 11-22, 2013.
235. Cawston, TE, Wilson, AJ: Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and disease. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 20: 983-1002, 2006.
236. Kreinest, M, Reisig, G, Strobel, P, Fickert, S, Brade, J, Wennemuth, G, Lipp, P, Schwarz, ML: Analysis of Gene Expression and Ultrastructure of Stifle Menisci from Juvenile and Adult Pigs. *Comp Med*, 66: 30-40, 2016.
237. Kreinest, M: Das Schwein als innovatives Tiermodell für Meniskusdegeneration. Saarbrücken, Saarländische Universitäts- und Landesbibliothek, 2012.
238. Kreinest, M, Reisig, G, Ströbel, P, Dinter, D, Attenberger, U, Lipp, P, Schwarz, M: A Porcine Animal Model for Early Meniscal Degeneration – Analysis of Histology, Gene Expression and Magnetic Resonance Imaging Six Months after Resection of the Anterior Cruciate Ligament. *PLoS ONE*, 11: e0159331, 2016.
239. Nickel, R, Schummer, A, Frewein, J, Seiferle, E: *Bewegungsapparat. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere 2*, Parey, 2004.
240. Outerbridge, RE: The etiology of chondromalacia patellae. *The Journal of bone and joint surgery British volume*, 43-b: 752-757, 1961.
241. Outerbridge, RE: The etiology of chondromalacia patellae. *The Journal of bone and joint surgery British volume*, 43-b: 752-757, 1961.
242. Brittberg, M, Winalski, CS: Evaluation of Cartilage Injuries and Repair. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 85: 58-69, 2003.
243. Brittberg M, PL: Introduction of an articular cartilage classification. *ICRS-Newsletter 1*: 5-8, 1998.
244. Heute, S: Erstellung eines tribologischen Prüfstandes zur Untersuchung von Knorpelgewebe. 2004.
245. Schütte, A: Diplomarbeit zum Thema Weiterentwicklung einer Software in LabView zur Inbetriebnahme und Datenerfassung des tribologischen Prüfstandes TRIBKNOR, sowie dessen Validierung. 2009.
246. Schütte, A, Heute, S, Reisig, G, Kreinest, M, Pott, P, Schwarz, M: Ein Prüfstand zur tribologischen Testung von Knorpelgewebe. *Poster anlässlich der 6 Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik (DGfB) 2009, Münster*, 2009.

247. Getzy, LL, Malemud, CJ, Goldberg, VM, Moskowitz, RW: Factors Influencing Metachromatic Staining in Paraffin-Embedded Sections of Rabbit and Human Articular Cartilage: A Comparison of the Safranin O and Toluidine Blue O Techniques. *Journal of Histotechnology*, 5: 111-116, 1982.
248. Hyllested, JL, Veje, K, Ostergaard, K: Histochemical studies of the extracellular matrix of human articular cartilage—a review. *Osteoarthritis and Cartilage*, 10: 333-343, 2002.
249. Naumann, A, Dennis, JE, Awadallah, A, Carrino, DA, Mansour, JM, Kastenbauer, E, Caplan, AI: Immunochemical and mechanical characterization of cartilage subtypes in rabbit. *J Histochem Cytochem*, 50: 1049-1058, 2002.
250. Hoemann, C, Kandel, R, Roberts, S, Saris, DBF, Creemers, L, Mainil-Varlet, P, Méthot, S, Hollander, AP, Buschmann, MD: International Cartilage Repair Society (ICRS) Recommended Guidelines for Histological Endpoints for Cartilage Repair Studies in Animal Models and Clinical Trials. *Cartilage*, 2: 153-172, 2011.
251. Little, CB, Smith, MM, Cake, MA, Read, RA, Murphy, MJ, Barry, FP: The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in sheep and goats. *Osteoarthritis Cartilage*, 18 Suppl 3: S80-92, 2010.
252. Robinson, DL, Kersh, ME, Walsh, NC, Ackland, DC, de Steiger, RN, Pandy, MG: Mechanical properties of normal and osteoarthritic human articular cartilage. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 61: 96-109, 2016.
253. Schneider-Wald, B, von Thaden, AK, Schwarz, ML: Defect models for the regeneration of articular cartilage in large animals. *Orthopade*, 42: 242-253, 2013.
254. Cohen-Solal, M, Hay, E, Funck-Brentano, T: Animal models in OA: a means to explore bone. *Osteoporosis International*, 23: 853-856, 2012.
255. McCoy, AM: Animal Models of Osteoarthritis: Comparisons and Key Considerations. *Veterinary Pathology*, 52: 803-818, 2015.
256. Qian, S-h, Ge, S-r, Wang, Q-l: The Frictional Coefficient of Bovine Knee Articular Cartilage. *Journal of Bionic Engineering*, 3: 79-85, 2006.
257. Aigner, T, Cook, JL, Gerwin, N, Glasson, SS, Laverty, S, Little, CB, McIlwraith, W, Kraus, VB: Histopathology atlas of animal model systems - overview of guiding principles. *Osteoarthritis Cartilage*, 18 Suppl 3: S2-6, 2010.
258. Kuyinu, EL, Narayanan, G, Nair, LS, Laurencin, CT: Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 11: 19, 2016.
259. Moran, CJ, Ramesh, A, Brama, PAJ, O'Byrne, JM, O'Brien, FJ, Levingstone, TJ: The benefits and limitations of animal models for translational research in cartilage repair. *Journal of Experimental Orthopaedics*, 3: 1, 2016.
260. Lampropoulou-Adamidou, K, Lelovas, P, Karadimas, EV, Liakou, C, Triantafillopoulos, IK, Dontas, I, Papaioannou, NA: Useful animal models for the research of osteoarthritis. *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology*, 24: 263-271, 2014.
261. Gregory, MH, Capito, N, Kuroki, K, Stoker, AM, Cook, JL, Sherman, SL: A review of translational animal models for knee osteoarthritis. *Arthritis*, 2012: 764621, 2012.
262. Speer, DPMDD, Laurence **: The Collagenous Architecture of Articular Cartilage: Correlation of Scanning Electron Microscopy and Polarized Light Microscopy Observations. *Clinical Orthopaedics & Related Research*, 139: 267-275, 1979.

263. Malda, J, de Grauw, JC, Benders, KEM, Kik, MJL, van de Lest, CHA, Creemers, LB, Dhert, WJA, van Weeren, PR: Of Mice, Men and Elephants: The Relation between Articular Cartilage Thickness and Body Mass. *PLoS ONE*, 8: e57683, 2013.
264. Guo X, WC, Duan C et al.: Repair of os- teochondral defects with autologous chondrocy- tes seeded onto bioceramic scaffold in sheep. *Tissue Eng* 10: 1830–1840, 2004.
265. Barnewitz, D, Endres, M, Krüger, I, Becker, A, Zimmermann, J, Wilke, I, Ringe, J, Sittinger, M, Kaps, C: Treatment of articular cartilage defects in horses with polymer-based cartilage tissue engineering grafts. *Biomaterials*, 27: 2882-2889, 2006.
266. McIlwraith, CW, Frisbie, DD, Kawcak, CE, Fuller, CJ, Hurtig, M, Cruz, A: The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the horse. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, Supplement 3: S93-S105, 2010.
267. Chu, CR, Szczodry, M, Bruno, S: Animal Models for Cartilage Regeneration and Repair. *Tissue Eng Part B Rev*, 16: 105-115, 2010.
268. Simianer, H, Kohn, F: Genetic management of the Gottingen Minipig population. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 62: 221-226, 2010.
269. Vernon, L, Abadin, A, Wilensky, D, Huang, CYC, Kaplan, L: Subphysiological Compressive Loading Reduces Apoptosis Following Acute Impact Injury in a Porcine Cartilage Model. *Sports Health*, 6: 81-88, 2014.
270. Ronken, S, Arnold, MP, Ardura García, H, Jeger, A, Daniels, AU, Wirz, D: A comparison of healthy human and swine articular cartilage dynamic indentation mechanics. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 11: 631-639, 2012.
271. Gotterbarm, T, Breusch, SJ, Schneider, U, Jung, M: The minipig model for experimental chondral and osteochondral defect repair in tissue engineering: retrospective analysis of 180 defects. *Laboratory Animals*, 42: 71-82, 2008.
272. Kääh, MJ, Ap Gwynn, I, Nötzli, HP: Collagen fibre arrangement in the tibial plateau articular cartilage of man and other mammalian species. *Journal of Anatomy*, 193: 23-34, 1998.
273. Aspden, RM, Yarker, YE, Hukins, DW: Collagen orientations in the meniscus of the knee joint. *Journal of Anatomy*, 140: 371-380, 1985.
274. McLure, SWD, Fisher, J, Conaghan, PG, Williams, S: Regional cartilage properties of three quadruped tibiofemoral joints used in musculoskeletal research studies. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 226: 652-656, 2012.
275. Beglinger, R, Becker, M, Eggenberger, E, Lombard, C: Das Göttinger Miniaturschwein als Versuchstier. *Research in Experimental Medicine*, 165: 251-263, 1975.
276. McAnulty, PA, Dayan, AD, Ganderup, NC, Hastings, KL: *The Minipig in Biomedical Research*, CRC Press, 2011.
277. Inui, A, Itamoto, K, Takuma, T, Tsutsumi, H, Tanigawa, M, Hayasaki, M, Taura, Y, Mamba, K: Age-Related Changes of Bone Mineral Density and Microarchitecture in Miniature Pigs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 66: 599-609, 2004.
278. Hoemann, CD, Lafantaisie-Favreau, CH, Lascau-Coman, V, Chen, G, Guzman-Morales, J: The cartilage-bone interface. *The journal of knee surgery*, 25: 85-97, 2012.

279. Bergmann, V: *Schweinekrankheiten : Ätiologie - Pathogenese - Klinik - Therapie - Bekämpfung; mit 127 Tab*, Stuttgart, Enke, 1987.
280. Hennerbichler, A, Rosenberger, R, Arora, R, Hennerbichler, D: Biochemical, biomechanical and histological properties of osteoarthritic porcine knee cartilage: implications for osteochondral transplantation. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 128: 61-70, 2008.
281. Peloschek, PL, Sailer, J, Kainberger, F, Boegl, K, Imhof, H: Radiologische Quantifizierung von Gelenkveränderungen. Ein methodischer Überblick. *Der Radiologe*, 40: 1154-1162, 2000.
282. Fairbank, TJ: Knee joint changes after menisektomy. *Bone & Joint Journal*, 30-B: 664-670, 1948.
283. Hart, DSS, T: The classification and assessment of osteoarthritis. *Bailliere' s Clinical Rheumatology*, 9: 407-432, 1995.
284. Kallman, DA, Wigley, FM, Scott, WW, Hochberg, MC, Tobin, JD: New radiographic grading scales for osteoarthritis of the hand. Reliability for determining prevalence and progression. *Arthritis & Rheumatism*, 32: 1584-1591, 1989.
285. Altman, RD, Gold, GE: Atlas of individual radiographic features in osteoarthritis, revised. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15, Supplement 1: A1-A56, 2007.
286. Ahlback, S: Osteoarthrosis of the knee. A radiographic investigation. *Acta radiologica: diagnosis: Suppl* 277:277-272, 1968.
287. Schiphof, D, Boers, M, Bierma-Zeinstra, SM: Differences in descriptions of Kellgren and Lawrence grades of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 67: 1034-1036, 2008.
288. Petersson, IF, Boegård, T, Saxne, T, Silman, AJ, Svensson, B: Radiographic osteoarthritis of the knee classified by the Ahlbäck and Kellgren & Lawrence systems for the tibiofemoral joint in people aged 35–54 years with chronic knee pain. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 56: 493-496, 1997.
289. Menkes, CJ: Radiographic criteria for classification of osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl*, 27: 13-15, 1991.
290. Adams, JG, McAlindon, T, Dimasi, M, Carey, J, Eustace, S: Contribution of meniscal extrusion and cartilage loss to joint space narrowing in osteoarthritis. *Clinical Radiology*, 54: 502-506, 1999.
291. Bruyere, O, Genant, H, Kothari, M, Zaim, S, White, D, Peterfy, C, Burlet, N, Richy, F, Ethgen, D, Montague, T, Dabrowski, C, Reginster, JY: Longitudinal study of magnetic resonance imaging and standard X-rays to assess disease progression in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15: 98-103, 2007.
292. Raynauld, P, Martel-Pelletier, J, Berthiaume, MJ, Labonté, F, Beaudoin, G, de Guise, JA, Bloch, DA, Choquette, D, Haraoui, B, Altman, RD: Quantitative magnetic resonance imaging evaluation of knee osteoarthritis progression over two years and correlation with clinical symptoms and radiologic changes. *Arthritis & Rheumatism*, 50: 476-487, 2004.
293. Ravaut, P, Auleley, G-R, Chastang, C, Rousselin, B, Paolozzi, L, Amor, B, Dougados, M: Knee joint space width measurement: an experimental study of the influence of radiographic procedure and joint positioning. *Rheumatology*, 35: 761-766, 1996.
294. Spahn, G, Wittig, R, Kahl, E, Klinger, HM, Mückley, T, Hofmann, GO: Evaluation of cartilage defects in the knee. *Der Unfallchirurg*, 110: 414-424, 2007.
295. Kinds, MB, Welsing, PMJ, Vignon, EP, Bijlsma, JWJ, Viergever, MA, Marijnissen, ACA, Lafeber, FPJG: A systematic review of the association between

- radiographic and clinical osteoarthritis of hip and knee. *Osteoarthritis and Cartilage*, 19: 768-778, 2011.
296. Cubukcu, D, Sarsan, A, Alkan, H: Relationships between Pain, Function and Radiographic Findings in Osteoarthritis of the Knee: A Cross-Sectional Study. *Arthritis*, 2012: 5, 2012.
297. Hannan, MT, Felson, DT, Pincus, T: Analysis of the discordance between radiographic changes and knee pain in osteoarthritis of the knee. *J Rheumatol*, 27: 1513-1517, 2000.
298. Creamer, P, Hochberg, MC: Why does osteoarthritis of the knee hurt--sometimes? *Rheumatology*, 36: 726-728, 1997.
299. Kean, WF, Kean, R, Buchanan, WW: Osteoarthritis: symptoms, signs and source of pain. *InflammoPharmacology*, 12: 3-31, 2004.
300. Gunther, KP, Scharf, HP, Puhl, W, Willauschus, W, Kalke, Y, Gluckert, K, Sun, Y: Reproducibility of radiologic diagnosis in gonarthrosis. *Zeitschrift fur Orthopadie und ihre Grenzgebiete*, 135: 197-202, 1997.
301. Schiphof, D, de Klerk, BM, Koes, BW, Bierma-Zeinstra, S: Good reliability, questionable validity of 25 different classification criteria of knee osteoarthritis: a systematic appraisal. *J Clin Epidemiol*, 61: 1205-1215, 2008.
302. Weiß, C: *Basiswissen Medizinische Statistik*, Springer Berlin Heidelberg, 2010.
303. Duncan, ST, Khazzam, MS, Burnham, JM, Spindler, KP, Dunn, WR, Wright, RW: Sensitivity of Standing Radiographs to Detect Knee Arthritis: Systematic Review of Level I Studies. *Arthroscopy*, 31: 321-328, 2015.
304. Schiphof, D, Oei, EHG, Hofman, A, Waarsing, JH, Weinans, H, Bierma-Zeinstra, SMA: Sensitivity and associations with pain and body weight of an MRI definition of knee osteoarthritis compared with radiographic Kellgren and Lawrence criteria: a population-based study in middle-aged females. *Osteoarthritis and Cartilage*, 22: 440-446, 2014.
305. Wright, RW, Boyce, RH, Michener, T, Shyr, Y, McCarty, EC, Spindler, KP: Radiographs are not useful in detecting arthroscopically confirmed mild chondral damage. *Clin Orthop Relat Res*, 442: 245-251, 2006.
306. Blackburn, WD, Chivers, S, Bernreuter, W: Cartilage imaging in osteoarthritis. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 25: 273-281, 1996.
307. Schwarz, ML, Schneider-Wald, B, Brade, J, Schleich, D, Schütte, A, Reisig, G: Instruments for reproducible setting of defects in cartilage and harvesting of osteochondral plugs for standardisation of preclinical tests for articular cartilage regeneration. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 10: 1-11, 2015.
308. Appleyard, RC, Burkhardt, D, Ghosh, P, Read, R, Cake, M, Swain, MV, Murrell, GAC: Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 11: 65-77, 2003.
309. Lyyra, T, Kiviranta, I, Väätäinen, U, Helminen, HJ, Jurvelin, JS: In vivo characterization of indentation stiffness of articular cartilage in the normal human knee. *Journal of Biomedical Materials Research*, 48: 482-487, 1999.
310. Cohen, ZA, McCarthy, DM, Kwak, SD, Legrand, P, Fogarasi, F, Ciaccio, EJ, Ateshian, GA: Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: in-vitro calibration and in-vivo measurements. *Osteoarthritis and Cartilage*, 7: 95-109, 1999.
311. Faber, SC, Eckstein, F, Lukasz, S, Mühlbauer, R, Hohe, J, Englmeier, K-H, Reiser, M: Gender differences in knee joint cartilage thickness, volume and articular surface areas: assessment with quantitative three-dimensional MR imaging. *Skeletal Radiology*, 30: 144-150, 2001.

312. Noyes, FR, Stabler, CL: A system for grading articular cartilage lesions at arthroscopy. *The American Journal of Sports Medicine*, 17: 505-513, 1989.
313. Ayrat, X, Dougados, M, Listrat, V, Bonvarlet, J-P, Simonnet, J, Poiraudou, S, Amor, B: Chondroscopy: A new method for scoring chondropathy. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 22: 289-297, 1993.
314. Dougados, M, Ayrat, X, Listrat, V, Gueguen, A, Bahuaud, J, Beaufiles, 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: The SFA system for assessing articular cartilage lesions at arthroscopy of the knee. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 10: 69-77, 1994.
315. Bentley, G, Dowd, G: Current concepts of etiology and treatment of chondromalacia patellae. *Clin Orthop Relat Res*: 209-228, 1984.
316. Casscells, SW: Gross pathological changes in the knee joint of the aged individual: a study of 300 cases. *Clin Orthop Relat Res*: 225-232, 1978.
317. Goodfellow, J, Hungerford, DS, Woods, C: Patello-femoral joint mechanics and pathology. 2. Chondromalacia patellae. *Bone & Joint Journal*, 58-B: 291-299, 1976.
318. Ficat, RP, Philippe, J, Hungerford, DS: Chondromalacia patellae: a system of classification. *Clin Orthop Relat Res*: 55-62, 1979.
319. Hjelle, K, Solheim, E, Strand, T, Muri, R, Brittberg, M: Articular cartilage defects in 1,000 knee arthroscopies. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 18: 730-734, 2002.
320. Aroen, A, Loken, S, Heir, S, Alvik, E, Ekeland, A, Granlund, OG, Engebretsen, L: Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies. *Am J Sports Med*, 32: 211-215, 2004.
321. Koulalis, D, Schultz, W, Heyden, M, König, F: Autologous osteochondral grafts in the treatment of cartilage defects of the knee joint. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 12: 329-334, 2004.
322. van den Borne, MPJ, Raijmakers, NJH, Vanlauwe, J, Victor, J, de Jong, SN, Bellemans, J, Saris, DBF: International Cartilage Repair Society (ICRS) and Oswestry macroscopic cartilage evaluation scores validated for use in Autologous Chondrocyte Implantation (ACI) and microfracture. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15: 1397-1402, 2007.
323. Bronzino, JD: *The Biomedical Engineering Handbook 1*, Springer Berlin Heidelberg, 2000.
324. Hurschler, C, Abedian, R: Possibilities for the biomechanical characterization of cartilage: a brief update. *Orthopade*, 42: 232-241, 2013.
325. Mow, VC, Huiskes, R: *Basic Orthopaedic Biomechanics & Mechano-biology*, Lippincott Williams & Wilkins, 2005.
326. Brand, RA: Joint contact stress: a reasonable surrogate for biological processes? *Iowa Orthop J*, 25: 82-94, 2005.
327. Hodge, WA, Fijan, RS, Carlson, KL, Burgess, RG, Harris, WH, Mann, RW: Contact pressures in the human hip joint measured in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83: 2879-2883, 1986.
328. Parsons, IMt, Millett, PJ, Warner, JJ: Glenoid wear after shoulder hemiarthroplasty: quantitative radiographic analysis. *Clin Orthop Relat Res*: 120-125, 2004.
329. Pastoureau, PC, Hunziker, EB, Pelletier, JP: Cartilage, bone and synovial histomorphometry in animal models of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18: S106-S112.

330. Pearson, RG, Kurien, T, Shu, KS, Scammell, BE: Histopathology grading systems for characterisation of human knee osteoarthritis--reproducibility, variability, reliability, correlation, and validity. *Osteoarthritis Cartilage*, 19: 324-331, 2011.
331. Mankin, HJ, Dorfman, H, Lippiello, L, Zarins, A: Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *The Journal of bone and joint surgery American volume*, 53: 523-537, 1971.
332. Pritzker, KP, Gay, S, Jimenez, SA, Ostergaard, K, Pelletier, JP, Revell, PA, Salter, D, van den Berg, WB: Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*, 14: 13-29, 2006.
333. Pritzker, KP: Animal models for osteoarthritis: processes, problems and prospects. *Ann Rheum Dis*, 53: 406-420, 1994.
334. van der Sluijs, JA, Geesink, RG, van der Linden, AJ, Bulstra, SK, Kuyer, R, Drukker, J: The reliability of the Mankin score for osteoarthritis. *J Orthop Res*, 10: 58-61, 1992.
335. Ostergaard, K, Andersen, C, Petersen, J, Bendtzen, K, Salter, D: Validity of histopathological grading of articular cartilage from osteoarthritic knee joints. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 58: 208-213, 1999.
336. Ostergaard, K, Petersen, J, Andersen, CB, Bendtzen, K, Salter, DM: Histologic/histochemical grading system for osteoarthritic articular cartilage: reproducibility and validity. *Arthritis Rheum*, 40: 1766-1771, 1997.
337. Glasson, SS, Chambers, MG, Van Den Berg, WB, Little, CB: The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the mouse. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, Supplement 3: S17-S23, 2010.
338. Gerwin, N, Bendele, AM, Glasson, S, Carlson, CS: The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, Supplement 3: S24-S34, 2010.
339. Kraus, VB, Huebner, JL, DeGroot, J, Bendele, A: The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the guinea pig. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, Supplement 3: S35-S52, 2010.
340. Cook, JL, Kuroki, K, Visco, D, Pelletier, JP, Schulz, L, Lafeber, FPJG: The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the dog. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, Supplement 3: S66-S79, 2010.
341. Laverty, S, Girard, CA, Williams, JM, Hunziker, EB, Pritzker, KPH: The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rabbit. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18, Supplement 3: S53-S65, 2010.
342. Tomford, WW, Fredericks, GR, Mankin, HJ: Studies on cryopreservation of articular cartilage chondrocytes. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 66: 253, 1984.
343. Arzi, B, Wisner, ER, Huey, DJ, Kass, PH, Hu, J, Athanasiou, KA: Naturally-occurring osteoarthritis in the domestic rabbit: possible implications for bioengineering research. *Lab animal*, 41: 20, 2012.
344. McNulty, MA, Loeser, RF, Davey, C, Callahan, MF, Ferguson, CM, Carlson, CS: Histopathology of Naturally Occurring and Surgically Induced Osteoarthritis in Mice. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20: 949-956, 2012.
345. Bendele, A: Animal models of osteoarthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 1: 363-376, 2001.

346. Little, C, Zaki, S: What constitutes an “animal model of osteoarthritis”—the need for consensus? *Osteoarthritis and Cartilage*, 20: 261-267, 2012.
347. Carlson, CS, Loeser, RF, Jayo, MJ, Weaver, DS, Adams, MR, Jerome, CP: Osteoarthritis in cynomolgus macaques: a primate model of naturally occurring disease. *J Orthop Res*, 12: 331-339, 1994.
348. Loeser, RF, Olex, A, McNulty, MA, Carlson, CS, Callahan, M, Ferguson, C, Chou, J, Leng, X, Fetrow, JS: Microarray Analysis Reveals Age-related Differences in Gene Expression During the Development of Osteoarthritis in Mice. *Arthritis and Rheumatism*, 64: 705-717, 2012.
349. Bendele, AM, Hulman, JF: Spontaneous cartilage degeneration in guinea pigs. *Arthritis Rheum*, 31: 561-565, 1988.
350. Mistry, D, Oue, Y, Chambers, MG, Kayser, MV, Mason, RM: Chondrocyte death during murine osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 12: 131-141, 2004.
351. C. Schnurr, DPK: 9.2.8 Achsenfehlstellungen Knie. In: RUCHHOLTZ, S., WIRTZ, D. C. (Eds.) *Orthopädie und Unfallchirurgie essentials*. 2., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage ed. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 2013.
352. Schipplein, O, Andriacchi, T: Interaction between active and passive knee stabilizers during level walking. *Journal of Orthopaedic Research*, 9: 113-119, 1991.
353. Cooke, D, Scudamore, A, Li, J, Wyss, U, Bryant, T, Costigan, P: Axial lower-limb alignment: comparison of knee geometry in normal volunteers and osteoarthritis patients. *Osteoarthritis and Cartilage*, 5: 39-47, 1997.
354. Ledingham, J, Regan, M, Jones, A, Doherty, M: Radiographic patterns and associations of osteoarthritis of the knee in patients referred to hospital. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 52: 520-526, 1993.
355. McAlindon, TE, Snow, S, Cooper, C, Dieppe, PA: Radiographic patterns of osteoarthritis of the knee joint in the community: the importance of the patellofemoral joint. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 51: 844-849, 1992.
356. Jin, ZM, Stone, M, Ingham, E, Fisher, J: Biotribology. *Current Orthopaedics*, 20: 32-40, 2006.
357. Wellinger, K, Uetz, H: *Gleitverschleiß, Spülverschleiß, Strahlverschleiß unter der Wirkung von körnigen Stoffen : mit 20 Tafeln*, Düsseldorf, Dt. Ingenieur-Verl., 1955.
358. Lizhang, J, Fisher, J, Jin, Z, Burton, A, Williams, S: The effect of contact stress on cartilage friction, deformation and wear. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 225: 461-475, 2011.
359. LU, XL, MOW, VC: Biomechanics of Articular Cartilage and Determination of Material Properties. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 40: 193-199, 2008.
360. Park, S, Krishnan, R, Nicoll, SB, Ateshian, GA: Cartilage Interstitial Fluid Load Support in Unconfined Compression. *Journal of biomechanics*, 36: 1785-1796, 2003.
361. Katta, J, Pawaskar, SS, Jin, ZM, Ingham, E, Fisher, J: Effect of load variation on the friction properties of articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*, 221: 175-181, 2007.
362. Li, L, Buschmann, M, Shirazi-Adl, A: Strain-rate dependent stiffness of articular cartilage in unconfined compression. *Journal of biomechanical engineering*, 125: 161-168, 2003.

363. Langelier, E, Buschmann, MD: Increasing strain and strain rate strengthen transient stiffness but weaken the response to subsequent compression for articular cartilage in unconfined compression. *Journal of Biomechanics*, 36: 853-859.
364. Basalo, IM, Chen, FH, Hung, CT, Ateshian, GA: Frictional response of bovine articular cartilage under creep loading following proteoglycan digestion with chondroitinase ABC. *Journal of biomechanical engineering*, 128: 131-134, 2006.
365. Katta, J, Stapleton, T, Ingham, E, Jin, ZM, Fisher, J: The effect of glycosaminoglycan depletion on the friction and deformation of articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H, Journal of engineering in medicine*, 222: 1-11, 2008.
366. Desrochers, J, Amrein, MW, Matyas, JR: Viscoelasticity of the articular cartilage surface in early osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20: 413-421, 2013.
367. Setton, LA, Elliott, DM, Mow, VC: Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis and Cartilage*, 7: 2-14, 1999.
368. Kleemann, RU, Krockner, D, Cedraro, A, Tuischer, J, Duda, GN: Altered cartilage mechanics and histology in knee osteoarthritis: relation to clinical assessment (ICRS Grade). *Osteoarthritis and Cartilage*, 13: 958-963.

7 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1	Zonale Gliederung hyalinen Knorpels	4
Abb. 2	Prozentuale Zusammensetzung des hyalinen Gelenkknorpels	5
Abb. 3	Flüssigkeitsabgabe und Verformung des Knorpels	10
Abb. 4	Gesunder und arthrotischer Gelenkknorpel im Vergleich	15
Abb. 5	Kräfte zwischen zwei Körpern	17
Abb. 6	Verschleißmechanismen	20
Abb. 7	Ablauf der Untersuchungen	23
Abb. 8	Makroskopische Arthrose femoral und tibial	26
Abb. 9	Präparationswerkzeuge	27
Abb. 10	Pin Entnahmewerkzeug	28
Abb. 11	Osteochondraler Pin	29
Abb. 12	Pin Entnahmestellen	29
Abb. 13	Werkzeug zum Entnehmen der Plate	30
Abb. 14	isolierte Plate	31
Abb. 15	Probenbezeichnung	31
Abb. 16	Tribologischer Prüfstand	34
Abb. 17	Pneumatische Anordnung	35
Abb. 18	Pin und Plate während eines Versuches	36
Abb. 19	Bemaßte Plate	37
Abb. 20	Auswertungsebenen	38
Abb. 21	Pin und Plate mit Alterationen	39
Abb. 22	Schematische Darstellung der Plate von kranial	40
Abb. 23	Schematische Darstellung der Plate von koronal	40
Abb. 24	Präparation der Plate für die Histologie	41
Abb. 25	Vorgehen bei der histologischen Graduierung	47
Abb. 26	Röntgenbild eines alten Kniegelenks	49
Abb. 27	Röntgenbild eines jungen Kniegelenks	49
Abb. 28	Häufigkeitsverteilung der Röntgenscorevergabe Gruppe ALT	51
Abb. 29	Häufigkeitsverteilung der Röntgenscorevergabe Gruppe JUNG	53
Abb. 30	Boxplot Röntgenscore JUNG/ALT	54
Abb. 31	Boxplot numerisch adaptierter ICRS-Score JUNG/ALT gesamt	57
Abb. 32	Makroskopischer Vergleich vor und nach tribologischer Belastung	58
Abb. 33	Boxplot numerisch adaptierter ICRS-Score lateral/medial	60

Abb. 34	Boxplot numerisch adaptierter ICRS-Score femoral/tibial	62
Abb. 35	Boxplot Little Score JUNG/ALT gesamt	65
Abb. 36	Mikroskopischer Vergleich vor und nach tribologischer Belastung	65
Abb. 37	Boxplot Little Score lateral/medial	67
Abb. 38	Boxplot Little Score femoral/tibial	69
Abb. 39	Boxplot adaptierter Little Score JUNG/ALT gesamt	71
Abb. 40	Boxplot adaptierter Little Score lateral/medial	72
Abb. 41	Boxplot adaptierter Little Score femoral/tibial	73
Abb. 42	Gegenüberstellung der Höhenabnahme in der Gruppe JUNG	74
Abb. 43	Gegenüberstellung der Höhenabnahme in der Gruppe ALT	75
Abb. 44	Mittlere Höhenabnahme JUNG und ALT	80
Abb. 45	Verschobene Skalierung der Höhenabnahme	80
Abb. 46	Boxplot der absoluten Höhenabnahmen JUNG/ALT gesamt	81
Abb. 47	Prozentuale Höhenabnahme	81
Abb. 48	Gegenüberstellung der Kraft in der Gruppe JUNG	83
Abb. 49	Gegenüberstellung der Kraft in der Gruppe ALT	84
Abb. 50	Kraft JUNG/ALT über 1108 Zyklen	87
Abb. 51	Boxplot Kraft lateral/medial	88
Abb. 52	Beziehung der Höhenabnahme und dem Scorewert	94
Abb. 53	Einfluss der Härte der tribologischen Partner auf den Verschleiß	107

8 TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1	Klassifikation der Arthrosen	12
Tab. 2	Graduierung der röntgenologischen Arthrosekriterien	25
Tab. 3	Makroskopische Graduierung der Arthrose	26
Tab. 4	Anzahl der histologischen Schnitte	43
Tab. 5	Schritte der Entparaffinierung	44
Tab. 6	Schritte des Färbungsprozesses	45
Tab. 7	Röntgenscores nach Kellgren&Lawrence Gruppe ALT	50
Tab. 8	Deskriptive Statistik des Röntgen-Scores Gruppe ALT	51
Tab. 9	Röntgenscores nach Kellgren&Lawrence Gruppe JUNG	52
Tab. 10	Deskriptive Statistik des Röntgen-Scores Gruppe JUNG	52
Tab. 11	Ergebnisse der makroskopischen Evaluation	55
Tab. 12	Ergebnisse der histologischen Evaluation	63
Tab. 13	Statistischen Kennzahlen des adaptierten Scoringsystems	70
Tab. 14	Auflistung der Höhenabnahmen JUNG	76
Tab. 15	Deskriptive Statistik der Höhenabnahme Gruppe JUNG	77
Tab. 16	Deskriptive Statistik der Höhenabnahme medial/lateral JUNG	77
Tab. 17	Auflistung der Höhenabnahmen ALT	78
Tab. 18	Deskriptive Statistik der Höhenabnahme Gruppe ALT	78
Tab. 19	Deskriptive Statistik der Höhenabnahme medial/lateral ALT	79
Tab. 20	Auflistung der Kraftaufzeichnungen Gruppe JUNG	85
Tab. 21	Deskriptive Statistik der Kraftaufbringung Gruppe JUNG	85
Tab. 22	Deskriptive Statistik der Kraft medial/lateral JUNG	86
Tab. 23	Auflistung der Kraftaufzeichnungen Gruppe ALT	86
Tab. 24	Deskriptive Statistik der Kraftaufbringung Gruppe ALT	87
Tab. 25	Deskriptive Statistik der Kraft medial/lateral ALT	87
Tab. 26	Signifikanzen der Gruppenvergleiche	89
Tab. 27	Korrelationen zwischen den Scores und der Höhenabnahme	92
Tab. 28	Ergebnisse der multivariaten Analyse	93

9 LEBENS LAUF

PERSONALIEN

Name und Vorname:	Jan Peter Engelhardt
Geburtsdatum:	11. Februar 1988
Geburtsort:	Heidelberg
Familienstand:	ledig
Vater:	Prof. Dr. med. Peter Werner Engelhardt
Mutter:	Dr. med. Rita Antonia Engelhardt

SCHULISCHER WERDEGANG

07/2000 – 06/2007	Arndt – Gymnasium Berlin, Zehlendorf
06/2007	Abitur

UNIVERSITÄRER WERDEGANG

WS 2008	Beginn des Studiums Humanmedizin Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg
09/2011	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
WS 2012	Beginn des Masterstudienganges Health Economics (M. Sc. HE) in englischer Sprache Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg
09/2014	Hauptstudium, Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (M2)
12/2015	Hauptstudium, Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (M3)
01/2016	Approbation als Arzt
05/2017	Master of Science in Health Economics (M. Sc. HE) Masterthesis „Was verdienen Ärzte in Deutschland“ Betreuung: Prof. Dr. med. Dr. rer. pol. Konrad Obermann

10 DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. M.L.R. Schwarz danke ich für die Initiierung und Planung des Projekts sowie die wissenschaftliche und persönliche Unterstützung sowie Betreuung während dieser Jahre. Ganz besonders möchte mich dafür bedanken, immerzu auf ein offenes Ohr und lösungsorientierte Kritik getroffen zu sein. Ohne diese Unterstützung wäre diese Arbeit nicht gelungen.

Herrn Dipl.-Ing. Andy Schütte danke ich für die ungezählten Stunden der Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der tribologischen Versuche. Dank hierbei auch für die Einarbeitung sowie ständige Betreuung vor Ort.

Herrn Dipl.-Biol. Gregor Reisig danke ich für die durchgehende Bereitschaft für praktische und theoretische Inhalte bei der Durchführung der histologischen Schnitte sowie der anschließenden Auswertung.

Bei **Frau Dr. Sventlana Hetjens** möchte ich mich für die Unterstützung sowie Geduld bei der statistischen Auswertung bedanken.

Ausdrücklich bedanke ich mich bei meiner Mutter, **Dr. med. Rita Engelhardt**. Sie motivierte mich immer wieder das zeitlich lange und anstrengende Dissertationsvorhaben voranzubringen. Ihre aufmunternden Worte sind mir noch in den Ohren. Danke vielmals. Zudem möchte ich mich bei meinem Vater, **Prof. Dr. med. Peter Engelhardt**, für die jahrelange und bedingungslose Unterstützung während des Studiums sowie während der Zeit der Abfassung der Dissertation bedanken. Zudem bin ich mir über das große Glück bewusst, neben familiärer- immer auch eine fachliche Unterstützung gehabt zu haben. Ohne meine Eltern wäre das Studium - die Dissertation erst recht - nicht abgeschlossen worden.

Ebenfalls ausdrücklich möchte ich mich bei meiner Verlobten **Dr. med. Christine Lämmle** bedanken. Seit unserem Kennenlernen vor Jahren begleitet uns meine Promotion. Ohne ihre Liebe, aufmunternden Worte und Geduld meine Unmut in der einen oder anderen Phase der Dissertation zur ertragen, wäre diese Arbeit nicht vollendet worden.