

Untersuchungen des Gelenkknorpels am Reibepfand: Einfluss von Defekten und Biomaterialien

Alexander Michael Pieringer

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der
Technischen Universität München zur Erlangung eines

Doktors der Medizin (Dr. med.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. Gabriele Multhoff

Prüfende der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Stephan Vogt
2. Prof. Dr. Rüdiger von Eisenhart-Rothe

Die Dissertation wurde am 03.02.2025 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die TUM School of Medicine and Health am 01.05.2025
angenommen.

Zusammenfassung

Hintergrund

Zahlreiche neue Knorpeltherapieverfahren wurden in den letzten Jahren entwickelt, damit vor allem bei jungen Patienten mit fokalen Knorpeldefekten der Leidensdruck minimiert und die Entwicklung einer Arthrose verhindert wird. Im Fokus des Interesses stehen dabei oftmals *One-step*-Verfahren, die durch das Einbringen eines Biomaterials in einem einzigen operativen Eingriff den Defekt sanieren sollen. Ziel dieser Arbeit ist, die Auswirkungen sowohl fokaler Knorpeldefekte als auch eines Biomaterials (ChondroFiller) auf den korrespondierenden Gelenkknorpel zu untersuchen.

Methodik

An einem Reibprüfstand wurden 30 aus porcinen Kniegelenken gewonnene Knorpel-Knochen-Zylinder in zehn verschiedenen Versuchsanordnungen unter zyklischer Belastung (33 N) gegen einen Reibepartner geprüft. Variiert wurde hierbei sowohl der Reibepartner (Knorpel, Knochen, Knorpeldefekt, Knorpeldefekt mit ChondroFiller) als auch das Testmedium, in dem die Reibeversuche durchgeführt wurden (NaCl oder Hyaluronsäure). Zudem wurde jede Versuchsreihe mit zwei Laufzeiten durchgeführt (eine Stunde oder sechs Stunden). Die getesteten Knorpel-Knochen-Zylinder wurden anschließend histologisch aufgearbeitet, und der Schaden wurde anhand einer visuellen Schadenstabelle beurteilt.

Resultate

In der Versuchsgruppe *Knorpel gegen Knochen in NaCl* zeigten sich sowohl bei den einstündigen als auch bei den sechsstündigen Versuchen starke Knorpelschäden mit einem durchschnittlichen Schadenswert von 3,5 (1 h: 3,67; 6 h: 3,33). Die Schäden bei der Gruppe *Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl* fielen mit einem Schadenswert von 2,5 (1 h) und 2,67 (6 h) mittelschwer aus. Ähnliche Ergebnisse zeigte die Versuchsgruppe *Knorpel gegen Knorpeldefekt mit ChondroFiller in NaCl* mit einem Schadenswert von 2,67 für die einstündigen und 2,5 für die sechsstündigen Versuche. Bei den

Reibeversuchen *Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure* betraf der Schaden lediglich die oberflächigen Knorpelzonen mit Werten von 0,67 für die einstündige und 1,5 für die sechsstündige Laufzeit. Während der Schaden in der Versuchsgruppe *Knorpel gegen Knorpeldefekt in Hyaluronsäure* im einstündigen Versuch mit 1,5 ähnlich ausfiel, zeigten sich im sechsstündigen Versuch starke Knorpelschäden mit einem Schadenswert von 3,67.

Schlussfolgerung

Es konnte im Reibeprüfstand an porcinen Kniegelenken dargestellt werden, dass bereits ein fokaler viertgradiger Knorpelschaden zu erheblichen Schäden am korrespondierenden Knorpel führen kann. Der Schaden konnte durch den Einsatz weder von Hyaluronsäure noch von ChondroFiller reduziert werden. Dies ist im Versuchsaufbau in erster Linie durch eine zu geringe Primärstabilität des ChondroFiller zu sehen. Eine unmittelbare postoperative Vollbelastung sollte daher vermieden werden. Weitere Versuche im Reibeprüfstand mit einem niedrigeren axialen Druck und längeren Laufzeiten sowie mit erhöhten Probenzahlen zur Überprüfung einer statistischen Signifikanz wären erstrebenswert.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Hintergrund	I
Methodik	I
Resultate	I
Schlussfolgerung	II
Inhaltsverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VII
1 Einleitung	1
1.1 Anatomische und physiologische Grundlagen.....	2
1.1.1 Einteilung von Gelenken	2
1.1.2 Allgemeiner Aufbau einer Diarthrose.....	2
1.1.3 Synovialflüssigkeit	4
1.1.4 Feinstruktur von Knorpelgewebe	5
1.1.5 Funktion von Knorpelgewebe.....	9
1.2 Knorpelschäden.....	9
1.2.1 Epidemiologie.....	10
1.2.2 Ätiologie	10
1.2.3 Folgen	11
1.3 Aktuelle Therapiekonzepte von Knorpelschäden	13
1.3.1 Knochenmark stimulierende Techniken	13
1.3.2 Autologe Knorpel-Knochen-Transplantation	15
1.3.3 Autologe Chondrozytentransplantation	16
1.3.4 Tissue Engineering	17
1.4 Fragestellung und Hypothese der Studie	19
2 Material und Methodik.....	20
2.1 Studiendesign.....	20
2.2 Gewinnung der Knochen-Knorpel-Zylinder.....	22
2.2.1 Präparation der Schweineknie	22
2.2.2 Entnahme der Knochen-Knorpel-Zylinder	24
2.3 Weiterverarbeitung des medialen Tibiaplateaus.....	27
2.3.1 Setzung des Knorpeldefekts.....	27
2.3.2 Füllung mit ChondroFiller	28
2.4 Reibprüfstand	28
2.4.1 Aufbau	28

2.4.2	Funktionsweise und Testablauf	30
2.5	Herstellung der histologischen Präparate.....	31
2.5.1	Einbettung in Methylmethacrylat	31
2.5.2	Anfertigung der Schnitte.....	33
2.5.3	Schleifen und Polieren der Präparate.....	36
2.5.4	Färbung der Präparate.....	37
2.6	Histologische Beurteilung der Präparate	39
3	Ergebnisse	42
3.1	Knorpel gegen Knorpel in NaCl	43
3.2	Knorpel gegen Knochen in NaCl.....	45
3.3	Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl	47
3.4	Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl.....	49
3.5	Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure	51
3.6	Knorpel gegen Knorpelschaden in Hyaluronsäure	53
3.7	Weitere Auffälligkeiten	55
3.7.1	Tidemarkschäden	55
3.7.2	Gefäßanschnitte	57
3	Diskussion.....	60
4.1	Diskussion der eigenen Ergebnisse.....	60
4.1.1	Ausreißer.....	60
4.1.2	Vergleich der Testmedien.....	61
4.1.3	Vergleich der Laufzeiten	63
4.1.4	Vergleich der Gruppen in NaCl.....	65
4.1.5	Tidemarkschäden	69
4.2	Limitationen und Einschränkungen	72
4.2.1	Geringe Probenzahlen und fehlende Statistik.....	72
4.2.2	Vergleichbarkeit von humanem und porcinen Knorpel.....	72
4.2.3	Knorpel-Knochen-Zylinder als Testmaterial	73
4.2.4	Dauerbelastung des Knorpels	74
4.3	Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien.....	74
4.4	Ausblick: Testung neuer Biomaterialien im Reibepfstand.....	76
4.4.1	Grundidee	76
4.4.2	Diskussion möglicher Einwände	78
5	Resümee	80
6	Literaturverzeichnis.....	82

Abkürzungsverzeichnis

ACT	Autologe Chondrozytentransplantation
B	Bone
C	Cartilage
CD	Cartilage defect
CF	ChondroFiller
EZM	Extrazelluläre Matrix
IGF	Insulin-like growth factor
KOOS	Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score
MMA	Methylmethacrylat
NaCl	Natriumchlorid
TGF- β	Transforming growth factor β

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Liste der durchgeführten Versuche samt dazugehörigen Abkürzungen.....	21
Tabelle 2: Münchner Vorschrift Standard für Einbettung von Knochen	32
Tabelle 3: Zusammensetzung des MMA-Gemischs.....	32
Tabelle 4: Färbeergebnis bei Giemsa-Eosin-Färbung	37
Tabelle 5: Erklärung zu den Werten der Schadenstabelle	41
Tabelle 6: Schadenswerte der Versuchsreihen C-C NaCl ¹⁰	44
Tabelle 7: Schadenswerte der Versuchsreihe C-B NaCl 1 h	45
Tabelle 8: Schadenswerte der Versuchsreihe C-B NaCl 6 h	46
Tabelle 9: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-B NaCl	46
Tabelle 10: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD NaCl 1 h	47
Tabelle 11: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD NaCl 6 h	48
Tabelle 12: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-CD NaCl	48
Tabelle 13: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD CF NaCl 1 h	49
Tabelle 14: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD CF NaCl 6 h	50
Tabelle 15: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-CD CF NaCl	50
Tabelle 16: Schadenswerte der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure 1 h	51
Tabelle 17: Schadenswerte der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure 6 h	52
Tabelle 18: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure	52
Tabelle 19: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure 1 h	53
Tabelle 20: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure 6 h	54
Tabelle 21: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure	54
Tabelle 22: Vergleich der Gesamtschadenswert der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpel zwischen den beiden Testmedien Hyaluronsäure und NaCl.....	62
Tabelle 23: Vergleich der Gesamtschadenswert der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpeldefekt zwischen den beiden Testmedien Hyaluronsäure und NaCl.....	63
Tabelle 24: Vergleich der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpeldefekt nach Laufzeit und Testmedium.....	64
Tabelle 25: Vergleich der Gesamtschadenswert der Versuchsreihen in NaCl	65

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schemazeichnung eines Gelenks (nach Naumann, 2013) ¹⁶	3
Abbildung 2: Zusammensetzung des hyalinen Knorpels (nach Aigner et al., 2003) ²⁸	6
Abbildung 3: Schemazeichnung der zonalen Gliederung von Gelenkknorpel: A. Strukturelle Organisation der Chondrozyten; B. Strukturelle Organisation der Kollagenfasern (nach Buckwalter et al., 1994) ³²	7
Abbildung 4: Subskalen für den KOOS für die Patientenkategorien. ADL, <i>activities of daily living</i> ; SpRec, <i>sports and recreational function</i> ; QoL, <i>knee-related quality of life</i> (aus Heir et al., 2010) ⁴¹	11
Abbildung 5: Direkte Krankheitskosten einzelner Diagnosen 2002 (in Millionen EUR) (aus Merx et al., 2007) ⁴³	12
Abbildung 6: Prinzip der Mikrofrakturierung (nach Erggelet, 2016) ⁴⁸	15
Abbildung 7: Schema der Arbeitsschritte	21
Abbildung 8: Übersicht über die Präparationsschritte (aus Diermeier, 2018) ⁷⁹	23
Abbildung 9: Blick auf die Femurkondylen (li.) und das Tibiaplateau (re.) eines porcinen Kniegelenks (aus Diermeier, 2018) ⁷⁹	24
Abbildung 10: OATS-Entnahmesystem der Firma Arthrex (aus Diermeier, 2018) ⁷⁹	25
Abbildung 11: Mediales Tibiaplateau mit gesetztem 6-mm Defekt (links) und gewonnener Knorpel-Knochen-Zylinder mit 10 mm Durchmesser (rechts)	26
Abbildung 12: Vergleich des medialen und lateralen Tibiaplateaus eines porcinen Kniegelenks (aus Diermeier, 2018) ⁷⁹	26
Abbildung 13: Eingespanntes mediales Tibiaplateau mit standardisiert gesetztem Knorpeldefekt mit CF	27
Abbildung 14: Aufbau des Reibprüfstands; 1) Motor und Getriebe, 2) Drehachse, 3) Achslagerung, 4) Exzenter, 5) Auffanggefäß, 6) fixierte Probe, 7) bewegliche Probe, 8) Zugfeder, 9) Kraftsensor, 10) Kraftanzeige, 11) Einstellung Wegamplitude, 12) Drehzahl, 13) Zyklenzähler	29
Abbildung 15: Schemazeichnung der in den Prüfstand installierten Zylindern	30
Abbildung 16: In MMA-Gemisch eingebetteter Knochen-Knorpel-Zylinder	33
Abbildung 17: Knochen-Knorpel-Zylinder mit eingezeichnetem Schema der Entnahmestellen der Schnitte. Lediglich die beiden mittleren (blau) wurden weiterverarbeitet. Die äußeren vier (schwarz) sind Reserve	34
Abbildung 18: li.: Bandsäge FK23 Bizerba; re.: Sägemikrotom SP1600 ohne (oben) und mit Probe (unten)	35
Abbildung 19: Mikro-Schleifsystem Exakt 400 CS	36
Abbildung 20: Histologisches Präparat mit sichtbarem Knorpel- und Knochengewebe in Giemsa-Eosin-Färbung	38
Abbildung 21: Auflichtmikroskop Axiophot der Firma Zeiss mit integrierter Kamera (AxioCam)	39

Abbildung 22: Schadenstabelle zur Beurteilung der histologischen Präparate (nach Glaser et al., 2002 und Milz et al., 1994) ^{82,83}	40
Abbildung 23: Balkendiagramm zur Verteilung des Knorpelschadens der Knochen-Knorpel-Zylinder, die einheitlich bewertet wurden. Jeweils Angabe der absoluten Werte (x-Achse) und in Prozent (über Balken). n (gesamt) = 24	42
Abbildung 24: Balkendiagramm zur Verteilung des Knorpelschadens der Knochen-Knorpel-Zylinder, die von den Befundern unterschiedlich bewertet wurden. Jeweils Angabe der absoluten Werte (x-Achse) und in Prozent (über Balken). n (gesamt) = 6	43
Abbildung 25: Versuchsgruppe 1, „Knorpel auf Knorpel“: tibialer Knorpel in NaCl für 24 h, ohne Schaden, Zylinder 1183-2 bei fünffacher Vergrößerung (aus Diermeier, 2018) ⁷⁹	44
Abbildung 26: Probe 3 <i>C-B NaCl 1 h</i> , Histologie	45
Abbildung 27: Probe 2 der Versuchsreihe <i>C-B NaCl 6 h</i> , Histologie	46
Abbildung 28: Probe 3 der Versuchsreihe <i>C-CD NaCl 1 h</i> , Histologie	47
Abbildung 29: Probe 2 der Versuchsreihe <i>C-CD NaCl 6 h</i> , Histologie	48
Abbildung 30: Probe 3 der Versuchsreihe <i>C-CD CF NaCl 1 h</i> , Histologie	49
Abbildung 31: Probe 1 der Versuchsreihe <i>C-CD CF NaCl 6 h</i> , Histologie	50
Abbildung 32: Probe 1 der Versuchsreihe <i>C-C Hyaluronsäure 1 h</i> , Histologie	51
Abbildung 33: Probe 1 der Versuchsreihe <i>C-C Hyaluronsäure 6 h</i> , Histologie	52
Abbildung 34: Probe 1 der Versuchsreihe <i>C-CD Hyaluronsäure 1 h</i> , Histologie	53
Abbildung 35: Probe 2 der Versuchsreihe <i>C-CD Hyaluronsäure 6 h</i> , Histologie	54
Abbildung 36: Probe 3 der Versuchsreihe <i>C-C Hyaluronsäure 6 h</i> mit multiplen Tidemarkschäden (siehe Pfeile)	55
Abbildung 37: Probe 2 der Versuchsreihe <i>C-CD Hyaluronsäure 6 h</i> mit massiven Knorpelschäden und Ablösung des Knorpels im Bereich des Knochen-Knorpel-Überganges und der Tidemark, Histologie	56
Abbildung 38: Probe 3 der Versuchsreihe <i>C-CD Hyaluronsäure 6 h</i> mit massiven Knorpelschäden und Ablösung des Knorpels im Bereich des Knochen-Knorpel-Überganges und der Tidemark, Histologie	56
Abbildung 39: Probe 1 der Versuchsreihe <i>C-CD CF NaCl 1 h</i> mit klaffenden Tidemarkschäden (s. Pfeile)	57
Abbildung 40: Histologisches Bild Nr. 1 eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil)	57
Abbildung 41: Histologisches Bild Nr. 2 eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil)	58
Abbildung 42: Histologisches Bild Nr. 3 eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil) und vermutlich zerstörtem Gefäß (*)	58
Abbildung 43: Histologisches Bild eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil)	59
Abbildung 44: Auffaserung der Knorpeloberfläche im Sinne eines Schadens Grad 1 der Schadenstabelle	62

Abbildung 45: Reibungskoeffizienten für Knorpel gegen Knorpel gemessen nach 5 s, 30 s, 2 min, 5 min, 20 min und 45 min nach statischer Belastung in NaCl (R) und Synovialflüssigkeit (SF) (aus Forster et al., 1996) ⁸⁴	64
Abbildung 46: Schema von Knorpelzylinder im Reibepfstand ohne (li.) und mit (re.) ChondroFiller	67
Abbildung 47: Schemazeichnung der zonalen Gliederung von Gelenkknorpel mit sichtbare Tidemark: A. Strukturelle Organisation der Chondrozyten; B. Strukturelle Organisation der Kollagenfasern. (nach Buckwalter et al., 1994) ³² ..	70

1 Einleitung

Schmerzen, Schwellung, funktionelle Einschränkungen: Die Beschwerden, unter denen Patienten mit fokalen Knorpelschäden leiden können, sind vielfältig¹. Aber nicht nur die Lebensqualität der Patienten nimmt teilweise drastisch ab. Auch für das betroffene Gelenk können fokale Knorpelschäden eine ernsthafte Bedrohung darstellen und teilweise bis zur Arthrose führen². Umso mehr bemühen sich derzeit zahlreiche Wissenschaftler darum, die aktuellen Knorpeltherapieverfahren zu optimieren und neue Therapieansätze zu entwickeln. Insbesondere bei jungen Patienten wird versucht, dass der Progress zur Arthrose verhindert und der Leidensdruck minimiert wird. Während mit fortschreitendem Alter die prothetische Versorgung zunehmend in den Vordergrund rückt, bestehen für Patienten bis zum 40. Lebensjahr einige biologische Verfahren zur Behandlung fokaler Knorpelschäden.

Eine gängige Knorpeltherapie hierfür ist beispielsweise die matrix-assoziierte autologe Chondrozytentransplantation (MACT), bei der zunächst körpereigene Knorpelzellen entnommen werden, damit sie nach millionenfacher Vermehrung wieder auf einem Zellträger implantiert werden können³. Aktuell treten auch *One-step*-Verfahren verstärkt in den Fokus des Interesses, da hierbei nur eine einzige Operation notwendig ist und dadurch die Komplikationsrisiken gesenkt werden können. Es existieren zahlreiche Studien, die die klinische Wirksamkeit dieser biologischen Knorpeltherapieverfahren belegen⁴⁻⁶.

Wie sich jedoch die Biomaterialien direkt auf die Qualität des gegenüberliegenden Gelenkknorpels auswirken, ist nur unzureichend untersucht. Auch mangelt es an Arbeiten, die untersuchen, welche Schäden ein fokaler Knorpelschaden am gegenüberliegenden Knorpel hervorrufen kann. Die vorhandene Literatur beschäftigt sich stattdessen meist mit den Auswirkungen eines fokalen Knorpelschadens auf die biomechanischen Eigenschaften des ihm unmittelbar angrenzenden Knorpels^{7,8}. In dieser Arbeit soll daher das Augenmerk auf den korrespondierenden Knorpel gerichtet und im Reibepfand an porcinen Kniepräparaten der Einfluss von Knorpeldefekten und Biomaterialien auf denselben untersucht werden. Dieses Versuchssetting (Testung von porcinen Kniepräparaten im Reibepfand) hat sich in zwei anderen Arbeiten bewährt, die ebenfalls in der Abteilung und Poliklinik für Sportorthopädie am Klinikum rechts der

Isar durchgeführt wurden. In einer Arbeit wurde dabei der Einfluss von Meniskusnähten auf den korrespondierenden Knorpel geprüft⁹, während sich die andere mit den Folgen von metallischen Implantaten auf denselben beschäftigte¹⁰.

Bei der Auseinandersetzung mit einem Thema ist es zentral, sich zunächst mit den Grundlagen vertraut zu machen. Ohne fundiertes Hintergrundwissen ist es beinahe unmöglich, die Ergebnisse einer Arbeit zu deuten und richtig zu interpretieren. Dies gilt auch für die vorliegende Dissertation. Daher sollen eingangs kurz die anatomischen und physiologischen Grundlagen zum Thema Knorpelgewebe wiederholt werden, damit auch fachfremden interessierten Lesern ein Zugang zu dieser Arbeit ermöglicht wird.

1.1 Anatomische und physiologische Grundlagen

1.1.1 Einteilung von Gelenken

Ein Gelenk, auch *Articulatio* genannt, stellt im Wesentlichen eine Kontaktstelle zwischen zwei oder mehr Skelettelementen dar¹¹. Je nach Bewegungsspielraum, den diese Kontaktstelle zulässt, lassen sich in der Medizin verschiedene Arten von Gelenken unterscheiden: die Synarthrosen, die Amphiarthrosen und die Diarthrosen. Während die Synarthrosen keine und die Amphiarthrosen nur geringe Beweglichkeit zulassen, sind die Diarthrosen frei beweglich¹². Dieser Unterschied im Bewegungsspielraum ergibt sich vor allem durch den anatomischen Aufbau. So besitzen Synarthrosen beispielsweise keinen Gelenkspalt, und die Skelettelemente sind direkt durch fibröses Bindegewebe oder Knorpel miteinander verbunden^{11,13}. Die Gelenkpartner von Diarthrosen hingegen sind durch einen Gelenkspalt voneinander separiert, was eine höhere Beweglichkeit ermöglicht¹⁴. Diarthrosen stellen den Großteil der Gelenke im menschlichen Körper dar^{12,15} und können ihrerseits weiter nach Freiheitsgraden, Anzahl der artikulierenden Flächen oder Form der Gelenkoberflächen eingeteilt werden^{11,13}. Da dieser Gelenktyp die höchste Relevanz für diese Dissertation hat, soll er im folgenden Abschnitt genauer betrachtet werden.

1.1.2 Allgemeiner Aufbau einer Diarthrose

Eine Diarthrose besteht aus mindestens zwei gelenkbildenden Knochen, die an ihren gelenknahen Enden von Knorpel überzogen sind (vgl. Abb. 1). Meist handelt es sich

hierbei um hyalinen Knorpel mit einer Dicke von mehreren Millimetern^{11,12}. Zwischen den beiden Gelenkpartnern befindet sich der Gelenkspalt (*Cavum articulare*), der eine Bewegung der Knochen gegeneinander ermöglicht und in dem sich die Synovialflüssigkeit befindet. Die äußere Begrenzung des Gelenks bildet eine Kapsel (*Capsula articularis*), die sich in zwei Schichten aufteilen lässt^{11,14}.

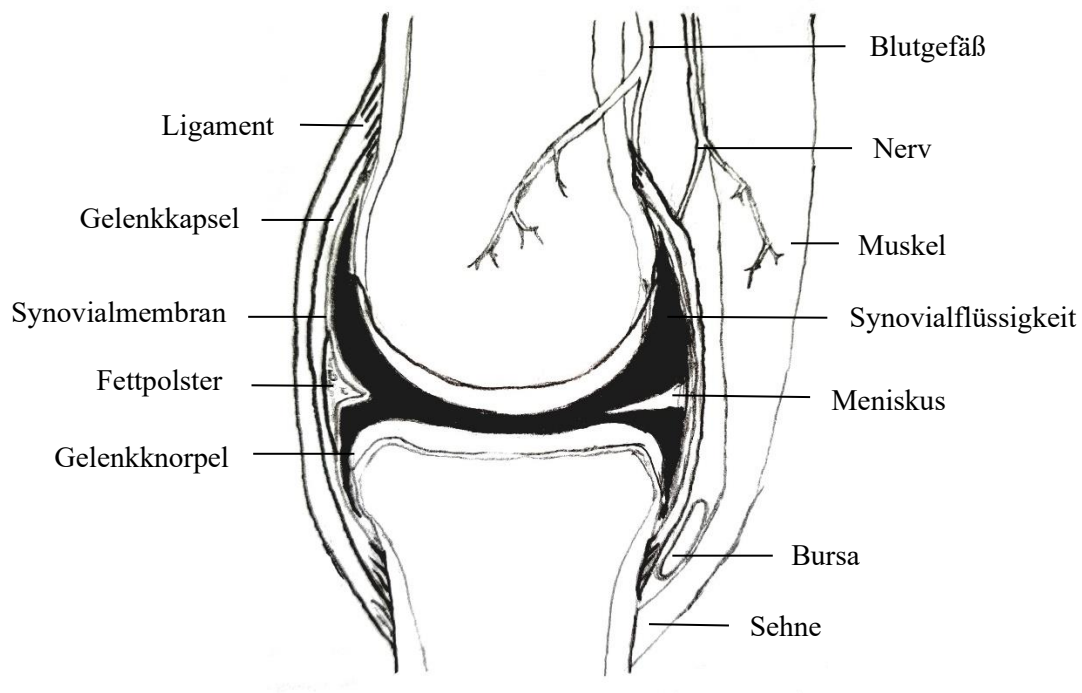


Abbildung 1: Schemazeichnung eines Gelenks (nach Naumann, 2013)¹⁶

Die äußere Schicht ist eine stabile Faserschicht (*Membrana fibrosa*) aus straffem, kollagenfaserigem Bindegewebe. Durch überbrückende Kollagenfasern (Sharpey-Fasern) ist sie mit dem Periost des jeweiligen Gelenkknöchens verwachsen^{11,15}. Ihre Stabilität erhält sie vor allem durch einen hohen Gehalt an Kollagen Typ I, dem wenige elastische Bindegewebsfasern beigemischt sind¹⁴. Sie geht nach innen kontinuierlich in die *Membrana synovialis* über, eine Art Gelenkinnenhaut, die die Gelenkhöhle umgibt. Im Gegensatz zur *Membrana fibrosa* ist sie zellreicher und lässt sich ihrerseits ein weiteres Mal in zwei Schichten unterteilen^{11,14}. Das äußere subintimale Gewebe besteht aus lockerem bis straffem Bindegewebe. Es enthält die Leitungsbahnen der *Membrana synovialis* und besitzt zahlreiche Zellarten. Neben Fibroblasten und Fettzellen lassen sich hier auch Abwehrzellen wie Makrophagen und Mastzellen finden. Zudem besitzt diese Schicht Schmerz- und Druckrezeptoren. Innen befindet sich die synoviale Intima. In ihr kommen zwei Zellpopulationen vor, die sich in zwei bis vier Schichten zusammenlagern:

Typ A- und Typ B-Synoviozyten. Erstere sind makrophagenähnlich und phagozytosefähig. Letztere hingegen ähneln eher den Fibroblasten und besitzen die Fähigkeit, Synovialflüssigkeit (siehe unten) zu sezernieren^{11,14}. Neben der Produktion der Synovialflüssigkeit ist die zweite wesentliche Aufgabe der Synovialmembran die Bereitstellung von Nährstoffen für die Knorpelzellen¹⁵. Teilweise können Zotten und Falten von der Synovialmembran entspringen, die der Oberflächenvergrößerung dienen¹³.

An den meisten Gelenken lassen sich zudem Hilfsstrukturen finden, die zum Großteil der Unterstützung der Gelenkmechanik dienen. Dazu gehören beispielsweise intraartikuläre Zwischenscheiben wie die *Disci articulares* oder die *Menisci articulares*, die sich zwischen den Gelenkpartnern befinden und die Kongruenz der Gelenke verbessern können. Auch können Ligamente vorkommen (intra- oder extraartikulär), die je nach anatomischem Verlauf als Verstärkungs-, Führungs- oder Hemmungsbänder dienen^{11,14}.

1.1.3 Synovialflüssigkeit

Wie im vorherigen Abschnitt erwähnt, befindet sich im Gelenkspalt die Synovialflüssigkeit (kurz Synovia). Diese klare, meist leicht gelblich bis bernsteinfarbene Flüssigkeit^{11,14} stellt im Wesentlichen ein Ultrafiltrat des Blutes dar, das auch einen ähnlichen Gehalt an Elektrolyten und Plasmaproteinen aufweist. Zusätzlich befinden sich in ihr Glykoproteine und Proteoglykane, die hauptsächlich von den B-Synoviozyten der Synovialmembran produziert werden¹¹. Diese Zellen sind zudem für den hohen Gehalt an Hyaluronsäure verantwortlich. Hyaluronsäure ist ein unverzichtbarer Bestandteil der Synovialflüssigkeit, denn sie bedingt beinahe alleinig deren ausgeprägte Viskosität. Ohne sie entspräche die Viskosität lediglich der von Wasser¹³. Obwohl die durchschnittliche Menge von Synovialflüssigkeit in einem Gelenk nur 1,1 ml beträgt¹⁵, ist sie unerlässlich für eine normale, physiologische Gelenkmechanik. Im Wesentlichen besitzt sie drei relevante Funktionen^{11,14}. Zum einen setzt die Synovialflüssigkeit die Reibung der Gelenkpartner herab. Diese Schmierfunktion wird vor allem durch den hohen Gehalt an Hyaluronsäure erreicht. Darüber hinaus fungiert sie zusammen mit dem Knorpel als eine Art Stoßdämpfer, indem sie den axialen Druck, der auf das Gelenk wirkt, gleichmäßig verteilt. Die Synovialflüssigkeit dient jedoch nicht nur der Mechanik. Nicht zuletzt ist sie unerlässlich für die Ernährung des Gelenkknorpels, worauf im folgenden Kapitel noch eingegangen wird.

1.1.4 Feinstruktur von Knorpelgewebe

Wie erwähnt, sind die gelenkbildenden Knochenenden von Diarthrosen von Knorpel überzogen. Knorpelgewebe gehört wie Knochengewebe zum Stützgewebe des Körpers und dient als lasttragendes, elastisches Material^{11,17}. Um den biomechanischen Anforderungen zu entsprechen, besitzt Knorpel weder Nerven noch Blut- oder Lymphgefäße, eine Tatsache, die auch zu der geringen Selbstheilungsfähigkeit von Knorpelgewebe beiträgt^{18,19}.

1.1.4.1 Histologischer Aufbau von Knorpelgewebe

Für das Verständnis der biomechanischen Eigenschaften von Knorpel ist es unumgänglich, die mikroskopische Struktur von Knorpelgewebe zu erörtern. Knorpel ist ein hochspezialisiertes Gewebe und besteht im Wesentlichen aus zwei relevanten Komponenten auf welche im folgenden Abschnitt genauer eingegangen wird: den Chondrozyten, die die spezialisierten Zellen des Knorpelgewebes darstellen, und der umgebenden extrazellulären Matrix (EZM)²⁰. Die Chondrozyten und die Matrix stehen dabei in einer kontinuierlichen Wechselbeziehung zueinander. Während die Chondrozyten unter anderem für die Produktion von Bestandteilen der EZM zuständig sind, schützt diese wiederum die Zellen bei Gelenkbelastung vor mechanischem Schaden und hilft ihnen dabei, Form und Phänotyp zu bewahren. Erst diese Wechselbeziehung ermöglicht (bei physiologischer Belastung) einen lebenslangen Erhalt des Knorpelgewebes²¹.

Chondrozyten

Chondrozyten sind die spezialisierten Zellen des Knorpelgewebes. Sie sind hauptsächlich für die Produktion von Mukopolysacchariden und Kollagenen der Matrix verantwortlich^{22,23}, in der sie eingebettet in Knorpelzellohlen (*Lacunae cartilagineae*) liegen¹¹. Dabei ist das Verhältnis von Zellen zu umgebender Matrix in Knorpel niedriger als in anderen Geweben des menschlichen Körpers. Chondrozyten stellen nur ungefähr 1–5 % des Volumens^{18,21}. Eventuell ist das der Tatsache geschuldet, dass Knorpel, wie eingangs erwähnt, keine Blutgefäße besitzt. Seine Ernährung ist diffusionsabhängig und wahrscheinlich nur für eine bestimmte Zellzahl ausreichend²⁴. Eine weitere besondere Eigenschaft von Chondrozyten ist die lange Lebensdauer und die niedrige Teilungsrate^{19,23}. Chondrozyten bilden aber keine einheitliche Gruppe. Je nach Zone

(siehe unten), in der sie sich befinden, unterscheiden sie sich zum Teil deutlich in Morphologie, Proliferationsrate²⁵ und auch der Menge an EZM, die sie produzieren²⁶.

Extrazelluläre Matrix

Die extrazelluläre Matrix, die die Chondrozyten umgibt, ist im Prinzip eine Art hydriertes Proteoglykan-Gel, das durch ein Netzwerk von Kollagenfibrillen verstärkt wird²⁷. Knorpel besteht dabei zu etwa 70–80 % aus Wasser²². Nur 20–30 % des Volumens entfallen auf Makromoleküle (vgl. Abb. 2).

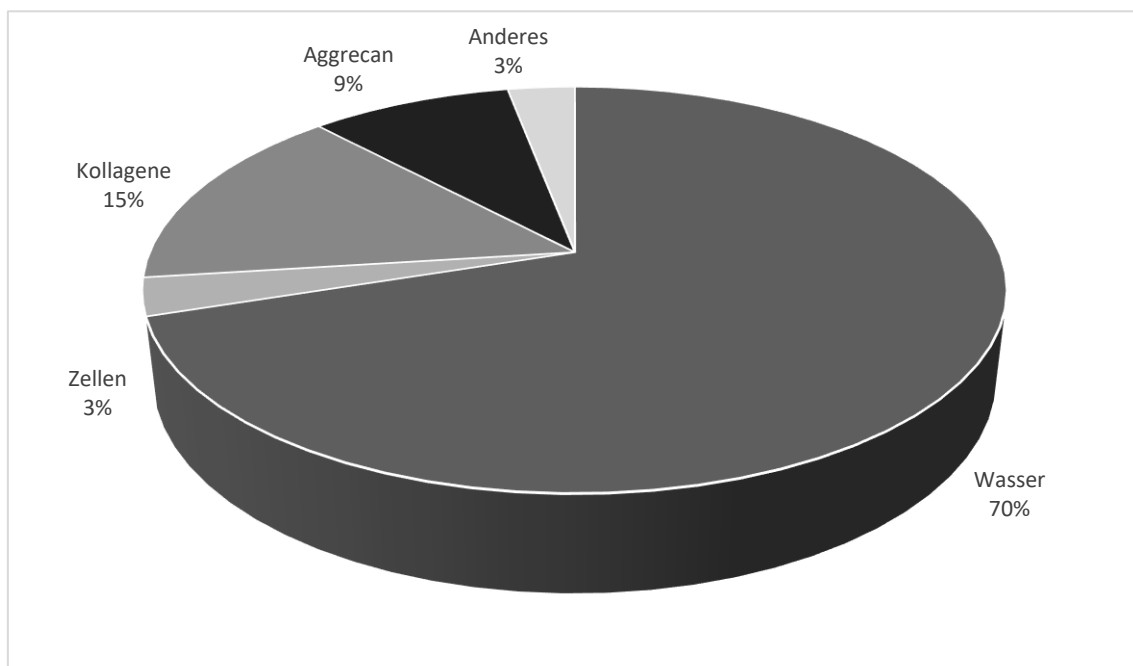


Abbildung 2: Zusammensetzung des hyalinen Knorpels (nach Aigner et al., 2003)²⁸

Zu diesen gehören Kollagene, Proteoglykane und nichtkollagene Proteine, wobei die Kollagene mit einem Trockengewicht von 50 bis 60 % den größten Anteil ausmachen^{19,20,27}. Kollagene besitzen für den Knorpel eine entscheidende Rolle, da sie der zentrale Bestandteil für die Zerreißfestigkeit des Knorpelgewebes sind. Insbesondere das Kollagen Typ II leistet hierbei einen relevanten Beitrag, da es mit 90–95 % das mit Abstand häufigste Kollagen darstellt und gleichsam die Basisarchitektur des Knorpels bildet^{17,18}. Durch die dreidimensionale Organisation ist das Kollagenfibrillengerüst optimal auf Gelenkbelastungen angepasst²⁹. Die Bedeutung der Proteoglykane für das Knorpelgewebe darf jedoch auch nicht unterschätzt werden. Die Kollagene können sich mit Proteoglykanaggregaten verknüpfen und dadurch eine Art Gel ausbilden, das Wasser bindet. Diese Proteoglykanaggregate werden vor allem durch das größte Proteoglykan

gebildet, das Aggrecan, das mehr als hundert Chondroitinsulfat- und Keratinsulfatketten besitzt. Zu diesem Zweck bindet Aggrecan an Hyaluronsäure und Link-Protein¹⁹. Während das Kollagenfibrillennetzwerk vor allem gegen Zugkräfte effektiv ist, bieten die Proteoglykane durch die Ausbildung einer Art hydrierten Gels einen exzellenten Schutz gegenüber Druckbelastungen³⁰.

1.1.4.2 Zonale Gliederung

Die Anordnung und Verteilung der Chondrozyten und einzelnen Komponenten der EZM im Knorpelgewebe sind jedoch nicht homogen: Je nach Lage und Entfernung zur Gelenkoberfläche muss Knorpelgewebe unterschiedliche Aufgaben und Funktionen erfüllen. Dies spiegelt sich auch in der histomorphologischen Struktur wider^{17,31}. Von Gelenkoberfläche in Richtung subchondralem Knochen lassen sich vier Zonen unterscheiden, die im Folgenden genauer dargestellt werden: die Tangentialfaserzone, die Übergangszone, die Radiärzone und die Mineralisationszone (vgl. Abb. 3).

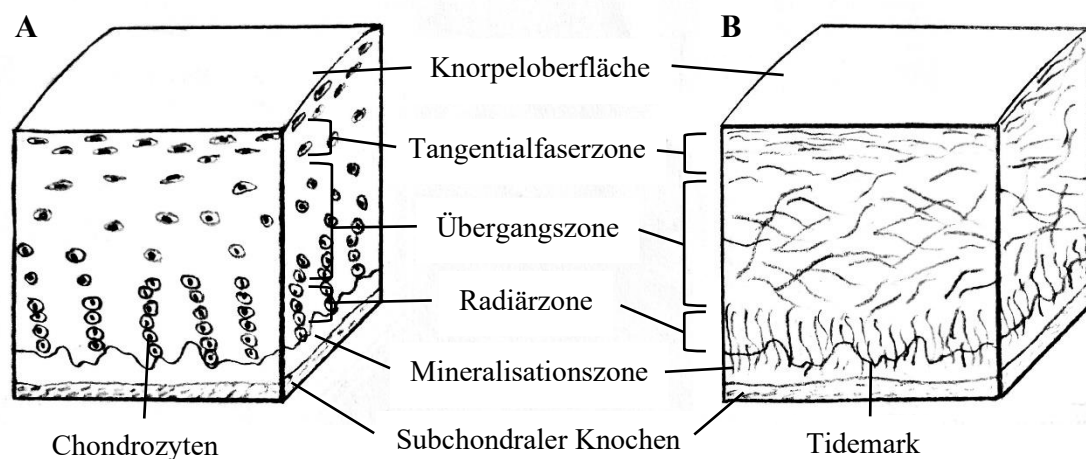


Abbildung 3: Schemazeichnung der zonalen Gliederung von Gelenkknorpel: A. Strukturelle Organisation der Chondrozyten; B. Strukturelle Organisation der Kollagenfasern (nach Buckwalter et al., 1994)³²

Tangentialfaserzone

Diese Zone ist mit einem Anteil von 10 bis 20 % der Knorpeldicke¹⁹ die dünnste Zone und steht in unmittelbarem Kontakt mit der Gelenkhöhle. Die relativ dünnen Kollagenfaserbündel laufen parallel zur Gelenkoberfläche und sind nur von wenig Grundsubstanz voneinander getrennt³³. Typisches Merkmal der Tangentialfaserzone sind die flachen, ellipsoid geformten Chondrozyten, die hohe Konzentrationen von Kollagenen und nur wenig Proteoglykane synthetisieren. Zudem findet sich in dieser

Zone die höchste Wasserkonzentration. Durch die parallele Ausrichtung der Kollagenfaserbündel bietet diese Schicht vor allem eine hohe Zug- und Scherbelastbarkeit¹⁸.

Übergangszone

Mit 40–60 % der Dicke ist die Übergangszone die breiteste Knorpelzone und bildet eine Art anatomische und funktionelle Brücke von der oberflächlichen zur tiefen Zone¹⁹. Die Chondrozyten besitzen eine sphäroide bis rundliche Form, die Kollagenfasern sind dicker und zufällig angeordnet¹⁸. Diese Zone bildet eine erste Widerstandslinie gegen Druckkräfte¹⁹.

Radiärzone

Den größten Widerstand gegen Druckkräfte bietet jedoch die Radiärzone, auch wenn sie nur etwa 30 % der Knorpeldicke entspricht¹⁹. Dies ist vor allem durch die senkrechte Ausrichtung der Kollagenfibrillen möglich, die zudem den größten Durchmesser besitzen. Auch die Chondrozyten sind senkrecht angeordnet, was ihnen in dieser Zone ein säulenartiges Aussehen verleiht. Die Zelldichte wie auch der Wassergehalt sind hier von allen Zonen am niedrigsten, der Proteoglykangehalt hingegen ist am höchsten^{17,18}.

Mineralisationszone

Diese kalzifizierte Zone stellt die direkte Grenze zum subchondralen Knochen dar, mit dem sie fest verzahnt ist¹¹. Zellen sind rar angesiedelt, erscheinen hypertroph und besitzen nur eine geringe metabolische Aktivität¹⁹. Die Zone dient als Überleitungszone auf den geringer elastischen subchondralen Knochen¹⁸.

1.1.4.3 Regionale Gliederung

Abgesehen von der zonalen Gliederung ist auch eine regionale möglich. Da sie aber für die vorliegende Dissertation nur geringe Relevanz hat, soll sie nur kurz angeschnitten werden. Es lassen sich die perizellulären, die territorialen und die interterritorialen Regionen abgrenzen, die sich in ihrer Organisation, ihrer Zusammensetzung, ihrer Nähe zu den Chondrozyten und ihrem Kollagenfibrillendurchmesser unterscheiden. Die perizelluläre Region grenzt direkt an die Zellmembran der Chondrozyten und ist vor allem dafür relevant, die Signaltransduktion im Knorpel bei Belastung zu starten¹⁹. Dazu ist zu erwähnen, dass Gelenkbelastungen zu biochemischen Veränderungen innerhalb des Knorpelgewebes führen³¹. Die geringfügig dickere territoriale Region umgibt die

perizelluläre. Sie scheint den Knorpel vor mechanischen Stress zu schützen und zur Widerstandsfähigkeit gegenüber starken Belastungen beizutragen. Die dickste der drei Regionen ist die interterritoriale Region, die am stärksten zu den biomechanischen Eigenschaften des Knorpels beiträgt¹⁹.

1.1.5 Funktion von Knorpelgewebe

Es stellt sich die Frage, welchen Zweck Knorpelgewebe hat und wieso Knorpel für eine normale Gelenkfunktion unentbehrlich ist. Knorpel hat im Wesentlichen drei Hauptfunktionen¹⁸:

1. Er muss eine möglichst reibungsarme Gleitoberfläche gewährleisten.
2. Er fungiert als eine Art Schockabsorber.
3. Er minimiert die Belastungsspitzen, die auf den subchondralen Knochen wirken.

Ähnlich wie Hartgummi in der Technik ist Knorpel zwar druckfest, aber dennoch elastisch, wodurch er seine stoßdämpfende Funktion erhält. Die teilweise extremen Belastungen, die auf ein Gelenk wirken, werden durch das Knorpelgewebe abgefangen und gleichmäßig verteilt. Ermöglicht wird dies durch die vorhin beschriebene ausgetüftelte Struktur des Knorpels, die ihn biomechanisch wie ein gekammertes Wasserkissen erscheinen lässt³⁴. Durch seine glatte Oberfläche besitzt er zudem nur eine minimale Reibung. Der Reibungskoeffizient wird mit nur 0,02–0,002 angegeben, während der von Stahl auf Stahl im Vergleich hierzu 0,6 beträgt³⁵. Diese Gleitfähigkeit wird durch die Synovialflüssigkeit zusätzlich verstärkt, die der Gelenkschmierung dient und mit der Funktion von Öl in der Technik vergleichbar ist. Auf diese Weise erträgt der Gelenkknorpel bis zu zehn Millionen Lastwechsel pro Jahr und bleibt meist dennoch bis ins hohe Alter funktionsfähig³⁴.

1.2 Knorpelschäden

Allerdings gilt dies nur für einen intakten Knorpel. Der Abrieb des Gelenkknorpels ist normalerweise niedrig und kann trotz der eingeschränkten Proliferationskapazität der Chondrozyten meist ausgeglichen werden. Größere strukturelle Änderungen, zum Beispiel durch einen Knorpelschaden hervorgerufen, können die Biomechanik des

Knorpels jedoch empfindlich stören und somit zu einem Verlust einiger Funktionen führen. Dieser Umstand ist von klinischer Relevanz.

1.2.1 Epidemiologie

Studien haben gezeigt, dass Knorpelschäden eine höhere Inzidenz aufweisen, als lange Zeit angenommen. Curl et al. beispielsweise haben 1997 eine Studie veröffentlicht, in der sie retrospektiv 31 516 Kniearthroskopien untersucht haben³⁶. In 63 % der Fälle (19 827) haben sie Knorpelopathologien gefunden. Ähnliche Werte beschrieben auch Hjelle et al.³⁷, bei denen sich bei 61 % von 1000 Arthroskopien Knorpelopathologien feststellen ließen. Bei der Studie von Arøen et al.³⁸ waren 66 % von 993 Knien betroffen. Wie diese Arbeiten veranschaulichen, lagen demnach jeweils bei beinahe zwei Drittel der durchgeführten Arthroskopien bereits Knorpelschäden vor. Auch der Anteil einzelner fokaler Knorpeldefekte lag mit 19 % (Hjelle et al.) und 20 % (Arøen et al.) hoch. Diese Zahlen untermauern, dass Knorpeldefekte in ihrer Häufigkeit lange Zeit unterschätzt wurden. Nicht jeder Knorpelschaden muss symptomatisch sein. Deshalb wissen Patienten oftmals gar nicht, dass sie davon betroffen sind. Meist werden die Schäden zufällig erst Jahre später bei Untersuchungen entdeckt. Umso relevanter ist es, sich mit diesem Thema auseinanderzusetzen und die Auswirkungen von Knorpelschäden auf den restlichen Gelenkknorpel zu erforschen.

1.2.2 Ätiologie

An dieser Stelle muss geklärt werden, wie das Knorpelgewebe geschädigt wird. Die Ätiologie von Knorpelschäden kann vielfältig sein. Unter anderem werden vaskuläre, immunologische und metabolische Ursachen diskutiert³⁹. Häufig ist die Genese jedoch traumatischer Art, zum Beispiel aufgrund von Stoß- oder Torsionsbelastungen. Auch direkte stumpfe Traumata können zu Knorpelschäden führen. Nicht selten sind Risse im Knorpel die Folge davon. Häufig ist den Patienten allerdings kein ursächliches Trauma rememberlich. Das ist verständlich, wenn bedacht wird, dass die einwirkende Kraft nicht hoch sein muss. Selbst kleine repetitive Traumen sind häufig schon ausreichend, das Knorpelgewebe dauerhaft zu schädigen²¹. Dies liegt an der beschriebenen komplexen Struktur des Knorpelgewebes. Durch Schläge oder repetitive Belastungen können Mikroschäden entstehen, die von Funktionsstörungen der Knorpelzellen bis hin zum Zelltod führen können. Auch wenn der Knorpel äußerlich unversehrt erscheinen mag,

kann es als Folge zu seiner Erweichung kommen, da durch die Zellen weniger Proteoglykane synthetisiert werden¹⁸. Imai et al. haben in einer 1991 veröffentlichten Studie⁴⁰ auch einen Zusammenhang zwischen Knorpelschäden und Knieinstabilitäten untersucht. Sie vermuten, dass auch durch Scherbelastungen im Kniegelenk Knorpelschäden entstehen können. Solch ausgeprägte Scherbelastungen können insbesondere während des Sports auftreten und eventuell durch bestehende Knieinstabilitäten noch verstärkt werden.

1.2.3 Folgen

Geschwollene Knie und Schmerzen sowie mechanische und funktionelle Einschränkungen sind nur einige der Beschwerden, unter denen manche Patienten leiden¹. Heir et al. haben versucht, diese Folgen mithilfe des KOOS (*Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score*) zu objektivieren⁴¹. Das Ergebnis war, dass Patienten mit fokalen Knorpelschäden ihre subjektive Lebensqualität beinahe im selben Ausmaß reduziert sahen wie Patienten mit Arthrose und bereits geplantem Gelenkersatz. Patienten mit isoliertem Kreuzbandriss hingegen gaben im Vergleich eine signifikant höhere Lebensqualität an (vgl. Abb. 4). Es darf folglich nicht unterschätzt werden, in welchem Maß ein fokaler Knorpelschaden die Lebensqualität eines Patienten reduzieren kann und wie stark manche Patienten darunter leiden.

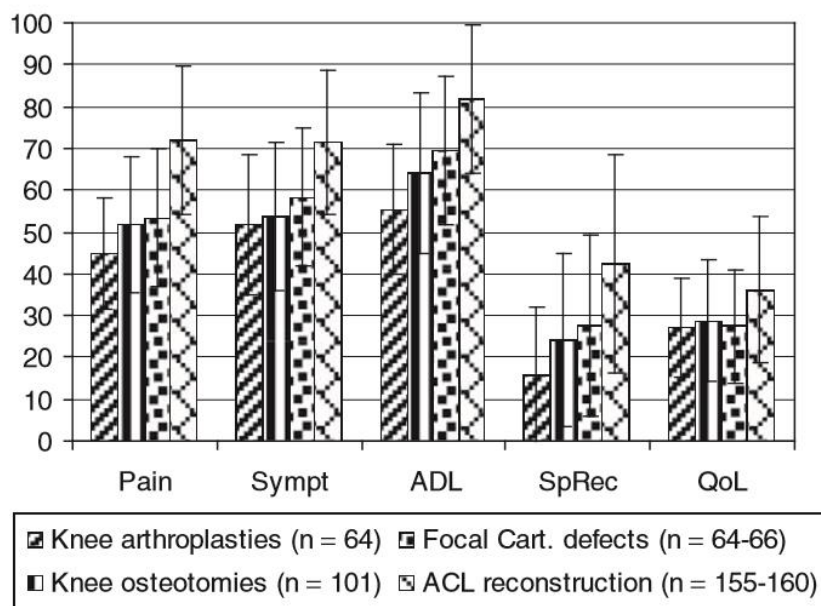


Abbildung 4: Subskalen für den KOOS für die Patientenkategorien. ADL, *activities of daily living*; SpRec, *sports and recreational function*; QoL, *knee-related quality of life* (aus Heir et al., 2010)⁴¹

Des Weiteren gehen Forscher davon aus, dass ein unbehandelter fokaler Knorpelschaden zu einer frühzeitigen Arthrose führen kann^{18,21}. Insbesondere partielle Knorpelschäden, die den subchondralen Knochen nicht erreichen, haben eine schlechte intrinsische Heilungstendenz, ein Sachverhalt, der bereits im Jahre 1743 von William Hunter beschrieben wurde⁴². Bei einer manifesten Arthrose bleibt als letzte Therapieoption allerdings meist nur der künstliche Gelenkersatz. Bis dahin haben die betroffenen Patienten oftmals einen langen Leidensweg hinter sich. Häufig wurden verschiedene Operationen oder Arthroskopien durchgeführt in der Hoffnung, die durch die Arthrose verursachten Beschwerden und Schmerzen zu lindern, bevor eine Gelenkprothese eingebaut wurde. Auch konservative Behandlungsmethoden werden oft jahrelang begleitend angewandt, sei es in Form von Analgetika, orthopädischen Hilfsmitteln oder Physiotherapie und anderen Rehabilitationsmaßnahmen. Dieses Vorgehen ist mit hohen Kosten für das Gesundheitssystem verbunden. Eindrücklich sind die Zahlen einer Studie von Merx et al.⁴³ (vgl. Abb. 5). Mithilfe der Krankheitskostenrechnung des Statistischen Bundesamtes haben die Autoren die durch Arthrose verursachte ökonomische Belastung in Deutschland für das Jahr 2002 dargestellt.

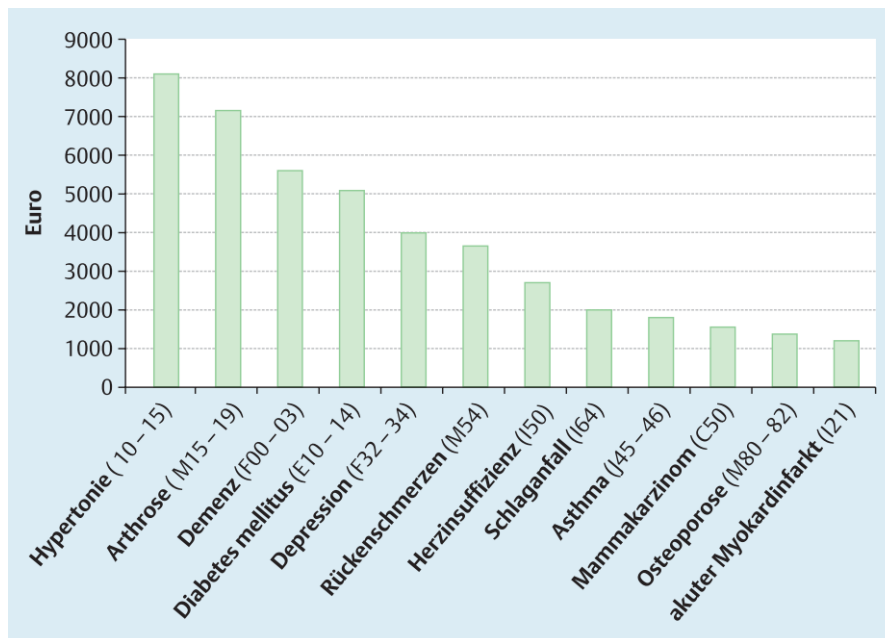


Abbildung 5: Direkte Krankheitskosten einzelner Diagnosen 2002 (in Millionen EUR) (aus Merx et al., 2007)⁴³

Allein die direkten durch Arthrose entstandenen Krankheitskosten beliefen sich auf 7,2 Milliarden Euro. Das entspricht 3,2 % aller direkten Kosten des deutschen

Gesundheitswesens. Unter direkte Kosten fallen dabei alle Ausgaben, die unmittelbar mit der medizinischen Versorgung zusammenhängen. Damit lag Arthrose hinsichtlich der direkten Krankheitskosten auf dem zweiten Platz aller Diagnosen. Lediglich Hypertonie verursachte im Jahr 2002 höhere direkte Krankheitskosten. Hinzu kommen die indirekten Krankheitskosten. Sie entsprechen im Prinzip den volkswirtschaftlichen Verlusten, die durch die Krankheit entstanden sind, zum Beispiel durch Arbeitsunfähigkeit oder Invalidität. Je nach Rechnung ergibt dies weitere Kosten (Produktionsausfallkosten) von ca. 3–4,5 Milliarden Euro. Umso verständlicher ist es, dass Ärzte und Wissenschaftler heutzutage darum bemüht sind, Pathologien, die zur Arthrose führen können, frühzeitig zu behandeln. Dazu gehören auch Knorpeldefekte, die eine nicht unerhebliche Anzahl der sekundären Arthrosen verursachen. Zu diesem Zweck werden neue Methoden erforscht, die den nativen Knorpel bei Schäden adäquat und langfristig ersetzen sollen.

1.3 Aktuelle Therapiekonzepte von Knorpelschäden

Dieses Kapitel soll einen Überblick über Therapiekonzepte bei Knorpelschäden geben. Je nach Ausmaß des Knorpeldefekts und den Vorlieben des Operators werden unterschiedliche Therapien eingesetzt. Zahlreiche Biomaterialien sind mittlerweile auf dem Markt und in klinischer Erprobung. Auch die Mikrofrakturierung hat noch ihren Stellenwert in der modernen Knorpeltherapie. Jede Therapiemöglichkeit hat dabei ihre Vor- und Nachteile. Feste Regeln, wann welches Verfahren eingesetzt werden soll, existieren nach wie vor nicht. Trotz jahrzehntelanger Forschung und Erfahrung ist die Suche nach dem *Holy Grail* der Knorpeltherapie demnach noch nicht beendet⁴⁴.

1.3.1 Knochenmark stimulierende Techniken

Einige Therapietechniken verfolgen den Ansatz, durch Eröffnung des subchondralen Knochens Stammzellen aus dem Knochenmark zu mobilisieren. Diese Methode gehört zwar zu den ältesten, aber dennoch zu den am häufigsten eingesetzten Techniken zur Bildung von neuem Knorpelgewebe¹⁸. Durch Penetration des subchondralen Knochens kommt es zur Ruptur subchondraler Gefäße und zur Ausbildung eines Fibrinklumpens auf der Oberfläche des chondralen Defekts. In diesen Thrombus können Knochenmarkstammzellen einwandern, proliferieren und sich zu chondrozytenähnlichen

Zellen differenzieren. Auf diese Weise bildet sich ein Knorpelreparaturgewebe³. Dieses Grundprinzip haben die folgenden Methoden gemeinsam.

Pridie-Bohrung

Bereits 1959 hat Pridie eine Methode vorgestellt, wie bei arthrotischen Kniegelenken die Bildung einer neuen Knorpelschicht stimuliert werden kann⁴⁵. Wie bei den anderen knochenmarkstimulierenden Techniken wird dies durch eine Penetration des subchondralen Knochens erreicht. Pridie empfahl dabei eine Anbohrung des subchondralen Knochens im Knorpeldefekt bis in den gut durchbluteten spongiösen Knochen, um eine Knorpelneubildung zu erreichen.

Spongialisierung

Eine 20 Jahre später von Ficat beschriebene Technik geht noch einen Schritt weiter⁴⁶. Bei der Spongialisierung wird der Knorpeldefekt samt der kompletten darunterliegenden subchondralen Platte entfernt, sodass der spongiöse Knochen frei liegt und es zur Ausbildung eines Fibrinklumpens kommen kann.

Mikrofrakturierung

Eine heutzutage nach wie vor häufig verwandte Methode der knochenmarkstimulierenden Verfahren ist die Mikrofrakturierung. Dieser von Steadman 1997 veröffentlichte Ansatz ähnelt im Grundprinzip der Pridie-Bohrung⁴⁷. Der wesentliche Unterschied ist jedoch, dass die Löcher im subchondralen Knochen nicht gebohrt, sondern mithilfe einer Ahle geschaffen werden (vgl. Abb. 6). Dadurch entsteht keine Bohrritze, was von einigen Autoren als positiv angesehen wird¹⁸.

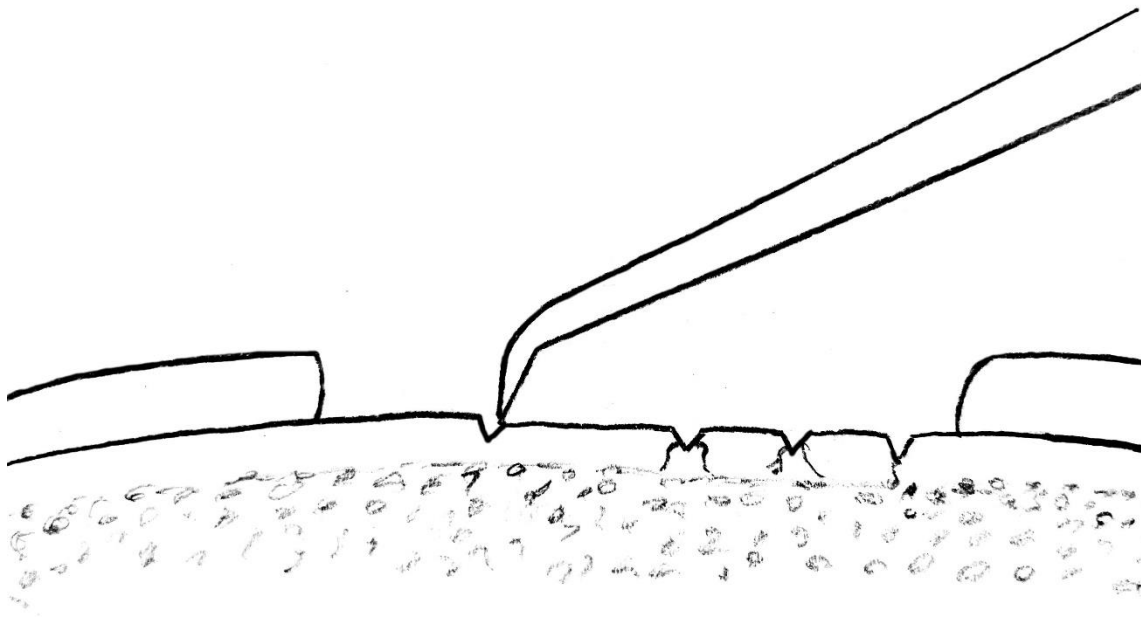


Abbildung 6: Prinzip der Mikrofrakturierung (nach Erggelet, 2016)⁴⁸

Limitation

Es besteht allerdings eine wesentliche Limitation, die alle knochenmarkstimulierenden Verfahren gemeinsam haben. Das Reparaturgewebe, das nach Einwandern der Knochenmarkstammzellen entsteht, entspricht am ehesten Faserknorpel, der im Vergleich zum originalen hyalinen Knorpel als funktionell minderwertiger zu betrachten ist^{3,49,50}.

1.3.2 Autologe Knorpel-Knochen-Transplantation

Eine Methode, bei der der Knorpeldefekt durch echten hyalinen Knorpel ersetzt werden kann, ist die autologe Knorpel-Knochen-Transplantation. Hierzu werden aus weniger belasteten Arealen des Kniegelenks Knorpel-Knochen-Zylinder entnommen und in die präparierte Defektstelle, häufig in *Press-Fit*-Verankerung, eingebracht⁵¹. Größe und Anordnung der Zylinder können dabei bei den Techniken variieren. So beschreiben Matsusue 1993⁵² und Hangody 1997⁵³ beispielsweise die Verwendung mehrerer kleiner Zylinder im Sinne einer Mosaikplastik, während Imhoff 1999 ein *Paper* über den Einsatz von Mega-OATS (*Osteochondral Autologous Transfer System*) veröffentlichte, mit denen die Deckung größerer Knorpeldefekte möglich ist⁵⁴. Trotz des Vorteils des qualitativ hochwertigen hyalinen Knorpels weist allerdings auch die autologe Knorpel-Knochen-Transplantation Limitationen auf. So besteht durch die Entnahme der Zylinder,

die ohnehin quantitativ begrenzt ist, auch immer eine mögliche Morbidität im Spenderbereich³. Bei der Verwendung multipler Zylinder kann es neben Fusionsstörungen auch zu einer Minderversorgung der zentralen Knorpel-Knochen-Transplantate kommen⁵¹.

1.3.3 Autologe Chondrozytentransplantation

Die autologe Chondrozytentransplantation (ACT) wurde erstmals von Peterson 1984⁵⁵ beschrieben und in weiteren Tierstudien untersucht⁵⁶. Erste Ergebnisse wurden 1994 von Brittberg veröffentlicht⁵⁷. Die ACT stellt das erste zellbasierte Therapieprinzip bei Knorpelschäden dar und bildet somit die Grundlage des modernen Tissue Engineerings. Zunächst wird aus einer wenig belasteten Zone ein kleines Knorpelstück entnommen und in ein Labor geschickt, daraufhin werden die Chondrozyten enzymatisch herausgelöst. Nach ein paar Wochen Zellvermehrung wird die Zellsuspension anschließend unter einen auf den Knorpeldefekt genähten Periostlappen gespritzt^{18,39}. Da diese *klassische* Methode allerdings mit Problemen wie beispielsweise einer Hypertrophie des Periostlappens oder einer Knorpelkalzifikation im Defektareal einhergehen kann, gab es Ansätze, bei denen der Periostlappen durch eine porcine Kollagenmembran ersetzt wurde. Dieses Vorgehen wird auch als zweite Generation der ACT bezeichnet⁵¹ und bildet zusammen mit der ersten Generation die Gruppe der *traditionellen* ACT⁵⁸. Ein weiteres Problem, das aber auch bei dieser Technik bestehen blieb, war der phänotypische Verlust der transplantierten Chondrozyten. Dies versuchte man durch die Entwicklung der matrixgekoppelten Chondrozytentransplantationen (dritte Generation der ACT) zu verhindern⁵¹. Die Matrix ist ein dreidimensionales Gerüst, auf das die Chondrozyten verteilt werden. Diese Methode hat nicht nur den Vorteil, dass die Chondrozyten vor dem Verlust ihres Phänotyps bewahrt werden und so einen hyalinähnlicheren Knorpel bilden sollen⁵⁰. Auch lässt sich die Matrix besser im Defekt fixieren und eine gleichmäßigere Zellverteilung erreichen. Verschiedene resorbierbare Stoffe werden dabei als Matrix eingesetzt. Dazu gehören beispielsweise Kollagene tierischen Ursprungs, Hyaluronan und bestimmte Polymere³. Hinsichtlich der Effizienz scheint der Einsatz einer Matrix verglichen mit der ersten Generation der ACT allerdings keinen Unterschied zu zeigen⁵⁹. Nichtsdestotrotz scheinen die Weiterentwicklungen insbesondere aufgrund der geringeren Begleitmorbiditäten vielversprechende Therapiealternativen zu sein⁶⁰.

1.3.4 Tissue Engineering

Wie an den Weiterentwicklungen der klassischen ACT gesehen werden kann, ist der Übergang ins moderne Tissue Engineering fließend. Es ist kaum möglich, jedes neue Produkt oder jeden neuen Therapieansatz systematisch einer Gruppe zuzuordnen. Unter Tissue Engineering wird prinzipiell ein interdisziplinäres Feld verstanden, das Technik und Biowissenschaften zur Entwicklung biologischer Gewebe miteinander verbindet. Die Anfänge des Tissue Engineerings nach heutiger Definition lassen sich in den Zeitraum von Ende der 1980er bis Anfang der 90er Jahre einordnen. Eine vielbeachtete Arbeit zum Thema Tissue Engineering wurde 1993 von Langer und Vacanti publiziert⁶¹. Darin wird beschrieben, dass bei der Schaffung neuen Gewebes vor allem drei Hauptkomponenten entscheidend sind: isolierte Zellen, gewebeinduzierende Substanzen (wie zum Beispiel Wachstumsfaktoren) und Matrizen, in oder auf die die Zellen gegeben werden können. Die Matrix soll dabei als dreidimensionales Gerüst dienen, in dem sich die Zellen organisieren und formieren können^{62,63}. Manche Autoren erweitern diese Kriterien um ein viertes. Auch eine geeignete mechanische Umgebung scheint entscheidend für erfolgreiches Tissueengineering zu sein⁶⁴. Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die aktuell eingesetzten Ressourcen der einzelnen Hauptkomponenten gegeben werden.

Zellen

Zwei Zellpopulationen werden heutzutage vor allem eingesetzt: Chondrozyten und mesenchymale Stammzellen⁶⁵. Chondrozyten sind eine beliebte Zellart und haben bereits ihren Weg aus dem experimentellen Einsatz in die klinische Praxis gefunden⁶⁶. Allerdings existieren nach wie vor Probleme. Zum einen ist die Isolierung schwierig, und für eine ausreichende Menge an Chondrozyten ist eine *In-vitro*-Expansion notwendig. Zum anderen besteht das angesprochene Problem, dass Chondrozyten *in vitro* leicht ihren Phänotyp verlieren⁶⁷. Des Weiteren haben Chondrozyten, die von älteren Patienten gewonnen wurden, eine geringere Fähigkeit, Knorpel zu regenerieren, als Chondrozyten von jüngeren Patienten²⁷. Mesenchymale Stammzellen stellen deshalb eine vielversprechende Alternative dar. Sie weisen eine hohe *In-vitro*-Expansionskapazität auf, und ihre Gewinnung ist aus einer Vielzahl verschiedener Gewebe möglich⁶⁷. Dazu gehören beispielsweise Knochenmark, Fettgewebe, Synovialmembran, Skelettmuskel und Haut. Selbst aus dem peripheren Blut können mesenchymale Stammzellen gewonnen werden^{68,69}. Beliebt sind vor allem die Knochenmarkstammzellen, da sie leicht zu

gewinnen sowie multipotent sind und die Fähigkeit besitzen, hyalinen Knorpel zu produzieren⁶⁵.

Matrizes

Matrizes sind im Tissue Engineering als dreidimensionales Grundgerüst von Relevanz. Sie dienen in erster Linie als Zellträger und sollen den Zellen durch eine optimale Umgebung das Anhaften, Proliferieren und Differenzieren erleichtern⁶⁵. Dabei sollen sie optimalerweise die natürliche Knorpelmatrix nachahmen, im Defektareal die gestörte Knorpelfunktion wiederherstellen und biokompatibel sein^{62,70}. Je nach Grundsubstanz lassen sich Matrizen in zwei große Gruppen aufteilen: biologische Matrizen und synthetische^{65,71,72}. Zwei gebräuchliche biologische Matrizen sind Kollagen und Hyaluronsäure, die zugleich auch wesentliche Bestandteile des natürlichen Knorpelgewebes sind⁷⁰. Insbesondere Kollagen Typ I wird aufgrund seines ubiquitären Vorkommens häufig eingesetzt⁷³. Auch aus zahlreichen weiteren Materialien wie Fibrinkleber, Alginat, Agarose oder Chitosan werden biologische Matrizes hergestellt⁷⁴. Als Grundlage synthetischer Matrizes kommen vor allem Polymilchsäure, Polyglykolsäure und Polyethylenglykol zum Einsatz⁷⁵.

Bioreaktoren und Wachstumsfaktoren

Heutzutage ist nicht nur die Wahl der Zellen und der Matrizes beim Tissue Engineering von Bedeutung. Auch werden teilweise Wachstumsfaktoren, Bioreaktoren und biophysiologische Stimuli eingesetzt. Erstere beispielsweise helfen bei der Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen zu Chondrozyten. Bei der Verwendung von Chondrozyten schützen sie diese zudem vor dem Verlust ihres Phänotyps⁶⁵. Zum Einsatz kommen unter anderem Wachstumsfaktoren aus der TGF- β - und der IGF-Familie⁶⁴. Verschiedene biophysiologische Stimuli sollen ebenfalls zur Differenzierung und Proliferation von Chondrozyten und zur adäquaten Bildung von neuem Knorpelersatzgewebe beitragen. So hat sich beispielsweise gezeigt, dass ein niedriger Sauerstoffpartialdruck zur Redifferenzierung von differenzierten Chondrozyten führen kann⁷⁶. Ebenfalls wird der Einfluss von mechanischen Stimuli auf Tissue-Engineering-Produkte untersucht. Da natives Knorpelgewebe unter physiologischen Bedingungen verschiedenen mechanischen Belastungen ausgesetzt ist, wird angenommen, dass mechanische Stimuli auch relevant bei der Organisation des künstlichen Knorpelgewebes sind⁶⁷.

Aktuelle Entwicklungen

Zahlreiche Studien beschäftigen sich mit den einzelnen Komponenten des Tissue Engineerings und vergleichen diese miteinander. Dennoch herrscht nach wie vor Uneinigkeit über den besten Ansatz beim Tissue Engineering. Es deutet sich aktuell jedoch ein Trend an, denn zwei Entwicklungen sind vermehrt zu beobachten. Zum einen wird zunehmend darüber diskutiert, ob zusätzlich zugefügte Zellen überhaupt notwendig sind oder ob zellfreie Matrices allein nicht ausreichend sind und ein ähnlich gutes Ergebnis erzielen können⁵⁸. Die Verwendung zellfreier *scaffolds* hat den entscheidenden Vorteil, dass sie niedrigere Zulassungsanforderungen erfüllen müssen, was mit reduzierten Entwicklungskosten einhergeht⁵⁰. Zum anderen rücken *One-Step*-Verfahren verstärkt in den Fokus des Interesses⁷⁷. Die Gründe dafür liegen auf der Hand. Es ist nicht notwendig, zunächst gesundes Knorpelgewebe von den Patienten zu entnehmen und die Chondrozyten wochenlang im Labor zu proliferieren. Dies senkt die Kosten und zudem auch die Belastung für den Patienten. Noch wesentlicher ist die Tatsache, dass durch die Reduktion auf eine einzige Operation das Risiko verschiedener Komplikationen wie Infektionen gesenkt werden kann⁷⁷.

1.4 Fragestellung und Hypothese der Studie

Drei Fragestellungen sollen im Wesentlichen mit der vorliegenden Dissertation beantwortet werden:

1. Wie stark schadet ein Knorpelschaden dem gegenüberliegenden Knorpel?
2. Unterscheidet sich der Schaden je nach Testmedium?
3. Kann ChondroFiller den Schaden minimieren?

Der Autor dieser Arbeit vermutet, dass ein Knorpelschaden auch dem gegenüberliegenden Knorpel einen relevanten Schaden zufügt. Des Weiteren geht er davon aus, dass der Schaden bei den in NaCl durchgeführten Versuchen höher ausfallen wird als bei denen in Hyaluronsäure. Auch erwartet der Autor eine Minimierung des Knorpelschadens durch den Einsatz von ChondroFiller.

2 Material und Methodik

In diesem Kapitel wird zunächst das Studiendesign vorgestellt (Kapitel 2.1). Anschließend wird die Herstellung der porcinen Knochen-Knorpel-Zylinder beschrieben (Kapitel 2.2), gefolgt von der Präparation des medialen Tibiaplateaus, welches als Reibepartner dient (Kapitel 2.3). Ein zentraler Bestandteil der Arbeit ist die biomechanische Testung am Reibeprüfstand, dessen Aufbau und Funktionsweise in Kapitel 2.4 erläutert werden. In Kapitel 2.5 wird die Herstellung der histologischen Präparate detailliert dargestellt, einschließlich Einbettung, Schnittenanfertigung, Schleif- und Polierprozesse sowie der Färbung der Präparate. Abschließend wird in Kapitel 2.6 die histologische Beurteilung der Präparate anhand der Schadenstabelle beschrieben.

2.1 Studiendesign

Zur Klärung der Fragestellungen wurden an einem Reibeprüfstand unterschiedliche Tests durchgeführt. Zentrales Element waren dabei Knochen-Knorpel-Zylinder, die aus porcinen Kniegelenken gewonnen wurden. Diese wurden unbearbeitet als bewegliche Reibekomponente in den Prüfstand installiert. Nach den Reiberversuchen wurden aus den Knorpel-Knochen-Zylindern histologische Präparate hergestellt, und der mikroskopische Schaden wurde bestimmt. Als starrer Reibepartner für die Knorpel-Knochen-Zylinder fungierte ein porcines Tibiaplateau, das je nach Versuchsprotokoll entweder als Kontrollgruppe ebenfalls unverändert gelassen (Knorpel gegen Knorpel) oder vor Testung bearbeitet wurde, damit der Einfluss verschiedener Oberflächen auf den gegenüberliegenden Knorpel im Reibeprüfstand untersucht werden konnte. Dazu gehörte, dass entweder der gesamte Knorpel entfernt (Knochen gegen Knorpel), ein Knorpelschaden gesetzt (Knorpeldefekt gegen Knorpel) oder ein gesetzter Knorpelschaden zusätzlich mit ChondroFiller (CF) ausgefüllt wurde (Knorpeldefekt mit CF gegen Knorpel). Zwei weitere Parameter, die abgesehen von der Knorpelbeschaffenheit variiert wurden, sind das Testmedium (Hyaluronsäure oder NaCl) und die Laufzeit. Jede Versuchsreihe wurde in einer ein- und einer sechsständigen Version durchgeführt. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die durchgeführten Versuchsanordnungen:

<i>Versuchsanordnung</i>	<i>Abkürzung</i>
Knorpel gegen Knochen in NaCl für 1 Stunde	<i>C-B NaCl 1 h</i>
Knorpel gegen Knochen in NaCl für 6 Stunden	<i>C-B NaCl 6 h</i>
Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl für 1 Stunde	<i>C-CD NaCl 1 h</i>
Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl für 6 Stunden	<i>C-CD NaCl 6 h</i>
Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl für 1 Stunde	<i>C-CD CF NaCl 1 h</i>
Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl für 6 Stunden	<i>C-CD CF NaCl 6 h</i>
Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure für 1 Stunde	<i>C-C Hyaluronsäure 1 h</i>
Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure für 6 Stunden	<i>C-C Hyaluronsäure 6 h</i>
Knorpel gegen Knorpeldefekt in Hyaluronsäure für 1 Stunde	<i>C-CD Hyaluronsäure 1 h</i>
Knorpel gegen Knorpeldefekt in Hyaluronsäure für 6 Stunden	<i>C-CD Hyaluronsäure 6 h</i>

Tabelle 1: Liste der durchgeführten Versuche samt dazugehörigen Abkürzungen

Jede Versuchsreihe wurde dreimal mit verschiedenen Knochen-Knorpel-Zylindern durchgeführt ($n = 3$), und von jedem wurden anschließend zwei histologische Präparate hergestellt und histologisch befundet. Abbildung 7 gibt einen Überblick über die einzelnen Arbeitsschritte, die in den folgenden Abschnitten ausgeführt sind.

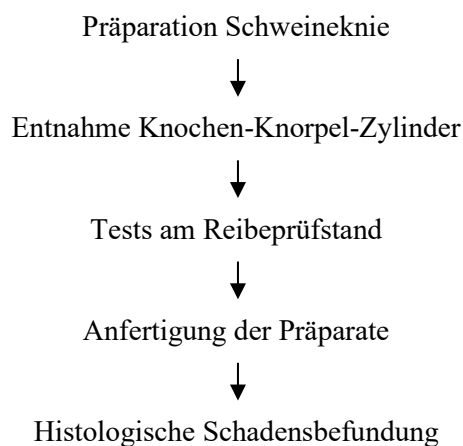


Abbildung 7: Schema der Arbeitsschritte

Die Herstellung und Prüfung der Knorpel-Knochen-Zylinder erfolgten durch Herrn Peng Li gemeinsam mit Mitarbeitern der Anatomie der LMU München. Die anschließende

Anfertigung der Präparate, die histologische Schadensbefundung sowie die Auswertung und Beurteilung der Ergebnisse erfolgten durch den Autor dieser Studie.

2.2 Gewinnung der Knochen-Knorpel-Zylinder

2.2.1 Präparation der Schweineknie

Als Untersuchungsmaterial für die Tests am Reibprüfstand wurden porcine Knochen-Knorpel-Zylinder von weißen deutschen Hausschweinen eingesetzt. Der Vorteil bei der Verwendung porciner Knie anstelle von humanen liegt insbesondere in der leichteren Beschaffung begründet. Menschliche Kadaverknie sind häufig kostspielig und mengenmäßig limitiert. Schweineknie hingegen können unbegrenzt und kostenfrei vom Schlachthof bezogen werden. Insgesamt wurden hierfür 30 Schweineknie benötigt, die unmittelbar nach dem Schlachtvorgang vom Schlachthof (Firma Wilhelm März Fleischgroßhandel, München) abgeholt wurden. Die Schweine waren allesamt Jungtiere mit einem durchschnittlichen Alter von fünf bis sieben Monaten und einem Gewicht von jeweils ca. 80 kg ($\pm 8,5$ kg). Zur Haltbarmachung wurden die Knie nach der Schlachtung bei $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren⁷⁸. Erst unmittelbar vor der jeweiligen Präparation wurden die Knie über Nacht bei Raumtemperatur wieder aufgetaut. Bevor die Knochen-Knorpel-Zylinder entnommen werden konnten, mussten die porcinen Kniegelenke zunächst präpariert werden. Abbildung 8 gibt einen Überblick über die einzelnen Präparationsschritte.



Abbildung 8: Übersicht über die Präparationsschritte (aus Diermeier, 2018)⁷⁹

Zunächst wurden die Muskulaturreste entfernt, die bei der Schlachtung am Knochen verblieben sind (Abb. 8, 1). Anschließend erfolgte die Eröffnung der Kniegelenkkapsel durch einen Schnitt entlang des lateralen Patellarandes (Abb. 8, 2). Die Patellarsehne wurde bis zu ihrem tibialen Ansatz verfolgt und dort abgesetzt. Anschließend konnte die ventrale Kapsel samt Hoffa'schem Fettkörper entfernt werden (Abb. 8, 3). Ein erster Blick auf die Femurkondylen und das ventrale Tibiaplateau ermöglichte den Ausschluss bereits makroskopisch sichtbarer Knorpelschäden. Die Präparation wurde an den Kollateralbändern fortgesetzt, die ebenfalls ansatznah abgesetzt wurden (Abb. 8, 4). Damit die Kapsel weiter eröffnet werden konnte, erfolgte beidseits ein Schnitt entlang des Gelenkspalts oberhalb der *Menisci* nach dorsal. Die zum Vorschein kommende

Arteria poplitea wurde mitsamt dem umgebenden Bindegewebe entfernt. Auch das hintere Kreuzband wurde anschließend tibianah durchtrennt (Abb. 8, 5). Nach Präparation der Außenränder der *Menisci* wurde das Kniegelenk in eine maximale Flexionsstellung gebracht. Diese Position erlaubte einen guten Blick auf das vordere Kreuzband und dessen Insertion an der lateralen Wand der *Fossa intercondylaris*, an der es danach durchtrennt wurde (Abb. 8, 6). Zuletzt wurden die *Menisci* entfernt. Dazu wurde zunächst das dorsale Band des Außenmeniskus am femoralen Ansatz abgesetzt und anschließend der komplette Meniskus. Anschließend wurde auch der mediale Meniskus vom Tibiaplateau entfernt. Bei freiliegenden Knorpelflächen beider Gelenkpartner konnten die Knorpel-Knochen-Zylinder gewonnen werden (vgl. Abb. 9).

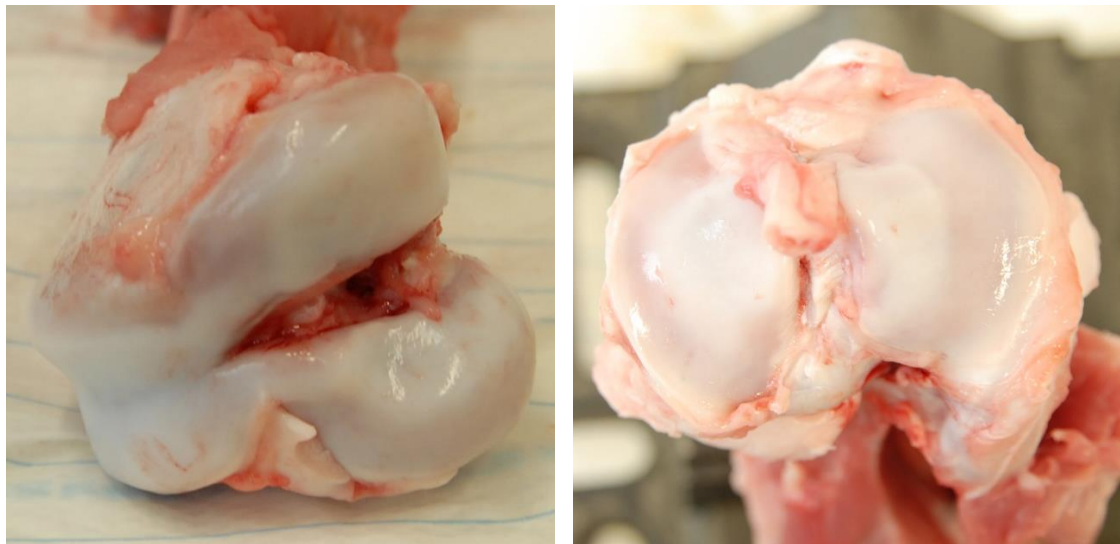


Abbildung 9: Blick auf die Femurkondylen (li.) und das Tibiaplateau (re.) eines porcinen Kniegelenks (aus Diermeier, 2018)⁷⁹

2.2.2 Entnahme der Knochen-Knorpel-Zylinder

Die Entnahme der Knorpel-Knochen-Zylinder erfolgte mithilfe des *Osteochondral Autograft Transfer System* (OATS) der Firma Arthrex (Florida, USA; vgl. Abb. 10). Das Entnahmeset ist in verschiedenen Größen erhältlich, je nachdem, welchen Durchmesser der entnommene Knorpel-Knochen-Zylinder besitzen soll. Für diese Arbeit wurde für die Zylinder ein Durchmesser von 10 mm gewählt. Die Höhe betrug 10–12 mm. Ein Set besteht aus je einem Spender- und Empfängerhohlmeißel (*Donor* und *Recipient*) und weiteren Instrumenten, die für Entnahme und Einbringung der Zylinder nützlich sind, zum Beispiel einem Kernextruder und einem Stopfer.



Abbildung 10: OATS-Entnahmesystem der Firma Arthrex (aus Diermeier, 2018)⁷⁹

Mithilfe des Spenderhohlmeißels wurde der Knorpel-Knochen-Zylinder entnommen. Zunächst wurde der Stempel im Hohlmeißel komplett nach vorn geschoben, sodass er über dessen scharfen Rand hinaussteht. Dieses Vorgehen vermindert das Risiko ungewollter Knorpelschädigungen bei der Positionierung. Der Stempel wurde senkrecht auf den Knorpel aufgesetzt und der Hohlmeißel anschließend in das weiche Knorpelgewebe gedrückt. Dies gewährleistete eine erste Fixierung des Meißels und verhinderte ein Verrutschen während der darauffolgenden Hammerschläge. Anschließend wurde der Spenderhohlmeißel bis zu der angegebenen 10-mm-Markierung in den subchondralen Knochen eingeschlagen. Zur Ablösung des Zylinders vom restlichen Knochengewebe wurde eine kurze schnelle Rotationsbewegung durchgeführt. Unter langsamem Drehen wurde der Hohlmeißel samt Knorpel-Knochen-Zylinder anschließend wieder aus dem Gewebe gezogen. Mithilfe eines Stabes, der von oben in den Hohlmeißel eingeführt wurde, konnte der soeben gewonnene Zylinder herausgedrückt werden. Abbildung 11 zeigt einen gewonnenen Knorpel-Knochen-Zylinder.



Abbildung 11: Mediales Tibiaplateau mit gesetztem 6-mm Defekt (links) und gewonnener Knorpel-Knochen-Zylinder mit 10 mm Durchmesser (rechts)

Auf Abbildung 11 ist zudem ein mediales Tibiaplateau mit gesetztem Knorpeldefekt (6 mm) zu sehen, das als starrer Reibepartner eingesetzt wurde. Als Entnahmestelle für die Knorpel-Knochen-Zylinder wurde die Mitte des medialen Femurkondylus gewählt. Die Entnahme der Knorpel-Knochen-Präparate erfolgte generell aus dem medialen Kniekompartiment, da fokale Knorpelschäden dort häufiger sind als im lateralen^{36,37} (vgl. Abb.12). Das mediale Tibiaplateau wurde je nach Versuchsanordnung weiterbearbeitet.

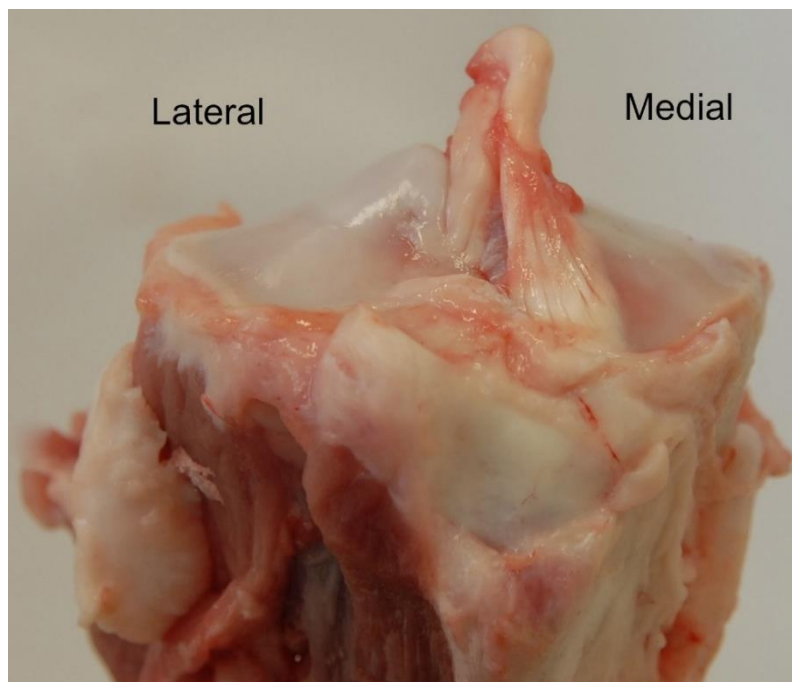


Abbildung 12: Vergleich des medialen und lateralen Tibiaplateaus eines porcinen Kniegelenks (aus Diermeier, 2018)⁷⁹

2.3 Weiterverarbeitung des medialen Tibiaplateaus

2.3.1 Setzung des Knorpeldefekts

Für einige Versuchsanordnungen war es zunächst notwendig, am medialen Tibiaplateau einen standardisierten Knorpeldefekt zu setzen. Als Defektdurchmesser wurden 6 mm festgelegt. Zudem sollte der Knorpeldefekt die komplette Knorpeldicke umfassen. Für eine gute Reproduzierbarkeit wurde hierfür ebenfalls der Spenderhohlmeißel (6 mm) des OATS der Firma Arthrex (Florida, USA) verwendet (vgl. Abb. 6). Dieser wurde bis zum Knorpel-Knochen-Übergang eingebracht und nur der Knorpel entfernt. Sollten Knorpelreste im Bereich des gesetzten Defekts verblieben sein, so wurden sie mithilfe eines scharfen Löffels abgekratzt, sodass im gesamten Defektareal der subchondrale Knochen sichtbar war (vgl. Abb. 13).

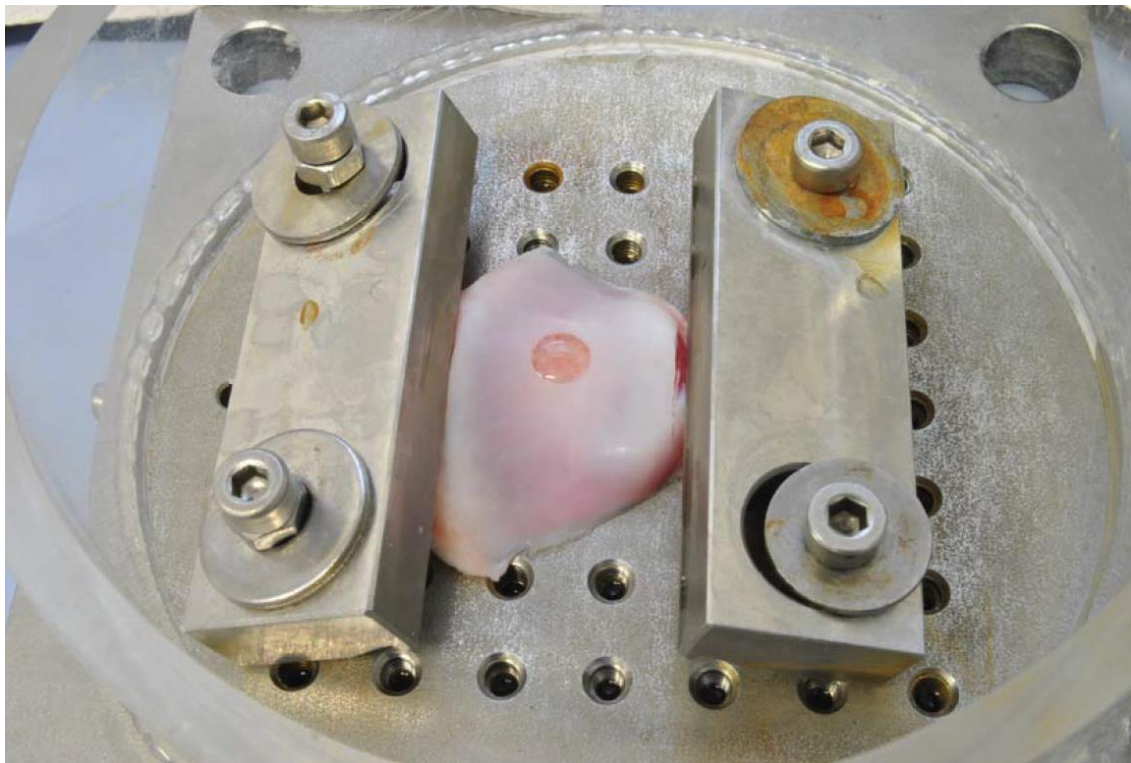


Abbildung 13: Eingespanntes mediales Tibiaplateau mit standardisiertem Knorpeldefekt mit CF

2.3.2 Füllung mit ChondroFiller

ChondroFiller (CF) ist ein Produkt der Firma Amedrix GmbH (Esslingen, Deutschland) und wird als formstabiles Gel (ChondroFiller^{gel}) oder in flüssiger Form (ChondroFiller^{liquid}) angeboten. Es ist ein zellfreies Kollagenimplantat, das aus Kollagen Typ I besteht und zur Einwanderung von Knorpel- und Stammzellen führen soll. ChondroFiller^{gel} ist in verschiedenen Durchmessern und Höhen erhältlich, beliebig zuzuschneiden und eignet sich laut Hersteller so zum Einsatz für alle gängigen Defektgrößen. Geliefert wird es in tiefgefrorenem Zustand und wird mittels Fibrinkleber im Defekt fixiert. ChondroFiller^{liquid} wird als Zweikammerspritze geliefert. Nach Injektion in die Defektzone entsteht innerhalb weniger Minuten eine formstabile Matrix, die dem Produkt ChondroFiller^{gel} entspricht. Aufgrund der leichteren Handhabung wurde dieses zur Auffüllung der Knorpeldefekte eingesetzt. Normalerweise kann ChondroFiller^{liquid} arthroskopisch in den Knorpeldefekt im Kniegelenk eingebracht werden. In diesem Fall lag der Defekt jedoch ohnehin frei.

2.4 Reibepprüfstand

Die Tests wurden im Reibepprüfstand des biomechanischen Labors der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie des Klinikums rechts der Isar in München durchgeführt. Der Reibepprüfstand ermöglicht das Testen zweier Proben gegeneinander bei einstellbarer Kraft und Reibelänge und wurde eigens zur Durchführung zyklischer Dauerbelastungen entwickelt. Die erste Versuchsreihe, die am Reibepprüfstand erfolgte, untersuchte den Einfluss von Meniskusnähten auf den gegenüberliegenden Knochen⁹.

2.4.1 Aufbau

Der Reibepprüfstand besteht aus mehreren Bestandteilen (vgl. Abb. 14):



Abbildung 14: Aufbau des Reibprüfstands; 1) Motor und Getriebe, 2) Drehachse, 3) Achslagerung, 4) Exzenter, 5) Auffanggefäß, 6) fixierte Probe, 7) bewegliche Probe, 8) Zugfeder, 9) Kraftsensor, 10) Kraftanzeige, 11) Einstellung Wegamplitude, 12) Drehzahl, 13) Zyklenzähler

Ein Elektromotor (1) fungiert als Getriebe und führt Rotationsbewegungen durch. Diese werden mithilfe eines Excenters (4) in Translationsbewegungen umgewandelt. Durch Änderungen der Position des Excenters lässt sich die Reibelänge der Proben variieren (zwischen 2 mm und 20 mm). Zwei entsprechende Vorrichtungen ermöglichen die Installation der Proben in den Reibprüfstand. Eine davon befindet sich starr in der Grundplatte und bleibt auch während der Testung fixiert (6). Hierbei handelt es sich um zwei Metallbacken, in die die Probe eingeklemmt werden kann. Die andere Probe kann oberhalb davon mithilfe eines Metallrings an einen beweglichen Metallschlitten befestigt werden (7). Dieser führt während des Tests die Translationsbewegungen durch. Die bewegliche Probe reibt folglich zyklisch auf der fixierten Probe. Mithilfe einer Feder kann zudem ein axialer Druck auf die Proben gegeben werden (8). Durch ein Rad lässt sich die Spannung der Feder verstellen und somit der applizierte Druck variieren. Umgeben ist die Grundplatte von einem Auffanggefäß (5). Dieses erlaubt je nach Versuchsaufbau das

Füllen der Testkammer mit verschiedenen Flüssigkeiten, sodass die Tests in unterschiedlichen Medien durchgeführt werden können. In dieser Arbeit waren das entweder Hyaluronsäure oder NaCl. Über einen Ablasskanal können die Medien jederzeit gewechselt werden. Zudem sind im Reibprüfstand zwei Sensoren integriert, die die Ist-Werte während des Tests registrieren. Ein Sensor misst dabei die Drehzahl, der andere die aktuell applizierte Kraft. Die gemessenen Werte werden auf digitale Anzeigen übertragen. Eine weitere digitale Anzeige zeigt die aktuelle Zyklenzahl.

2.4.2 Funktionsweise und Testablauf

Vor Teststart wurden zunächst die Proben in den Prüfstand installiert. Das bearbeitete Tibiaplateau (zum Beispiel mit Knorpelschaden) wurde zwischen den Metallbacken der Grundplatte geklemmt (vgl. Abb. 13, S. 26). Die Knorpel-Knochen-Zylinder fungierten hingegen als bewegliche Reibepartner (vgl. Abb. 15). Dazu wurden sie zunächst in den Metallring geklemmt und anschließend durch diesen an den Metallschlitten geschraubt.

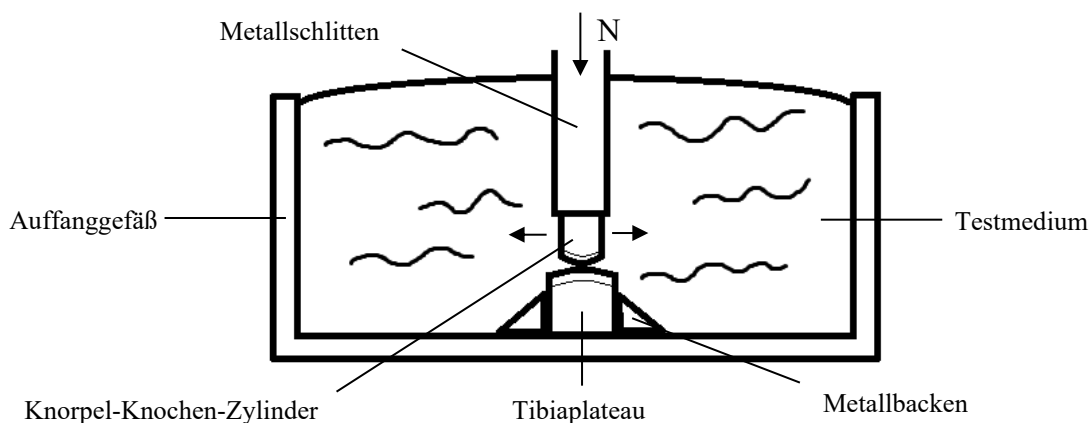


Abbildung 15: Schemazeichnung der in den Prüfstand installierten Zylindern

Anschließend mussten die gewünschten Testparameter eingestellt werden. Für diese Arbeit wurden in Anlehnung an die Studie von Venjakob et al.⁹ folgende Parameter gewählt:

- Prüflast: 33 N
- Reibelänge: 10 mm
- Zyklusfrequenz: 1 Hz
- Zyklenzahl: 3600 oder 21600

Die Prüflast wurde in der Venjakob-Studie abhängig von dem Schweinegewicht, der Gelenkoberfläche eines Schweinekniees sowie dem Durchmesser der Knorpel-Knochen-Zylinder (10 mm) kalkuliert und mit 33 N berechnet. Dadurch ergab sich eine Stressrate von 0,42 MPa. Da die Schweine in dieser Arbeit ein ähnliches Gewicht aufwiesen, wurde für die Versuche ebenfalls eine Prüflast von 33 N verwendet. Auch die Testdauer wurde gleich gewählt (eine oder sechs Stunden). Bei einer Zyklusfrequenz von 1 Hz (adaptiert an normales Gehen) war folglich eine Zyklenzahl von 3600 für die einstündigen bzw. eine Zyklenzahl von 21 600 für die sechsstündigen Versuchsreihen notwendig. Die Reibelänge betrug 10 mm. Vor Teststart wurden nochmals alle Parameter kontrolliert, und die richtige Installation der Reibepartner wurde überprüft. Anschließend wurde je nach Versuchsaufbau das Auffanggefäß mit künstlicher Gelenkflüssigkeit oder NaCl gefüllt.

Nach Starten einer Versuchsreihe lief der Reibeprüfstand ohne Unterbrechung für die jeweilige Testdauer. Der Reibeprüfstand ist so konzipiert, dass er sich nach der eingestellten Zyklenzahl automatisch abschaltet. Während eines Testlaufs wurde in regelmäßigen Abständen die korrekte Funktionsweise des Prüfstands kontrolliert. Die getesteten Proben wurden anschließend in Methylmethacrylat (MMA) fixiert, wie im folgenden Abschnitt erläutert.

2.5 Herstellung der histologischen Präparate

Die Weiterverarbeitung der Knochen-Knorpel-Zylinder erfolgte in einem Labor der anatomischen Anstalt der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dort wurden alle folgenden Schritte von der Einbettung in Methylmethacrylat bis hin zur mikroskopischen Befundung der Präparate durchgeführt.

2.5.1 Einbettung in Methylmethacrylat

Bevor von den Knorpel-Knochen-Zylindern 100 µm dicke Schnitte hergestellt wurden, erfolgte zunächst eine Einbettung der Proben in ein Methylmethacrylatgemisch (MMA). Dieses Vorgehen ermöglichte eine Fixierung der Proben und erleichterte gleichzeitig die Herstellung histologischer Schnitte, da die Proben schneidfähiger gemacht wurden. Als Einbettungsprotokoll wurde die *Münchner Vorschrift Standard* für Knochen verwendet (siehe Tabelle 2) und an die Probengröße angepasst.

<i>Einlegmedium</i>	<i>Dauer</i>
50 % Ethanol	1 Tag
70 % Ethanol	3 Tage
80 % Ethanol	3 Tage
90 % Ethanol	3 Tage
100 % Ethanol	3 Tage
100 % Ethanol	3 Tage
Xylol	3 Tage
Xylol	3 Tage
Methanol	3 Tage
Methanol	3 Tage
MMA pur	3 Tage
MMA pur	3 Tage
MMA pur	3 Tage
Methylmethacrylatgemisch	3 Tage in Kühlschrank

Tabelle 2: Münchner Vorschrift Standard für Einbettung von Knochen

Der gesamte Einbettungsvorgang erforderte mehrere einzelne Schritte und erstreckte sich über einen Zeitraum von einigen Wochen. Zunächst wurden die Proben für zwei Stunden unter fließendes Wasser gegeben, damit kristalline Niederschläge des Fixationsmediums in den fertigen Blöcken vermieden wurde. Anschließend erfolgte die Entwässerung der Knochen-Knorpel-Zylinder in einer aufsteigenden Alkoholreihe in Glasgefäßen. Dieser Schritt ist für die Einbettung nötig, da MMA nicht mit Wasser mischbar ist⁸⁰. Nach dem Entwässerungsvorgang wurden die Proben mithilfe von Xylol entfettet, ehe sie in pures Methylmethacrylat (Merck 800590) gegeben wurden. Ein Methylmethacrylatgemisch ist eine klare Flüssigkeit und wird unter anderem zur Herstellung von Acrylglas verwendet. Damit die eingebettete Probe beim Schneidevorgang nicht splittet, wird deshalb das pure Methylmethacrylat durch ein MMA-Gemisch (vgl. Tabelle 3) ausgetauscht.

<i>MMA-Gemisch bestehend aus:</i>	<i>Funktion</i>
1000 ml Methylmethacrylat (Merck 800590)	Einbettungsmedium
250 ml Nonylphenyl-polyethylenglycol-acetat (Fluka 74332)	Weichmacher
35 g Benzoylperoxid (Merck 801641)	Katalysator

Tabelle 3: Zusammensetzung des MMA-Gemischs

Das eingesetzte Nonylphenyl-polyethylenglycol-acetat dient dabei als eine Art Weichmacher, der den MMA-Block schneidfähig macht. Benzoylperoxid wird als Katalysator für die anschließende Polymerisation benötigt. Dazu wurden die Proben mit dem Methylmethacrylatgemisch in einem Glasgefäß bei 22 °C zum Polymerisieren in einen Wärmeschrank gegeben. Nach Aushärtung der Blöcke wurde das Glas vorsichtig abgeschlagen, und es konnte mit der Anfertigung der Schnitte begonnen werden (vgl. Abb. 16).



Abbildung 16: In MMA-Gemisch eingebetteter Knochen-Knorpel-Zylinder

2.5.2 Anfertigung der Schnitte

Von den in MMA-eingebetteten Proben wurden anschließend mithilfe eines Sägemikrotoms (SP 1600, Leica, Nussloch, Deutschland) ca. 200 µm dicke Schnitte hergestellt. Das Sägemikrotom ist eine Innenlochsäge mit Diamantschneideblatt (300 µm Dicke), bei dem sowohl Schnittdicke als auch Probenvorschubgeschwindigkeit einstellbar sind (vgl. Abb. 18, rechts). Das Präparat wurde mit Sekundenkleber (Cyanolit

201, Bürklin, Oberhaching) auf einen Messingblock geklebt, der über eine Schiene in der Lochmitte des Sägeblattes befestigt werden kann. Eine kontinuierliche Kühlung mit Wasser minimiert zudem mögliche Hitzeschädigungen des Präparats durch den Schneidevorgang (vgl. Abb. 18, rechts, S. 35). Auf diese Weise wurden aus der Mitte des Knorpel-Knochen-Zylinders sechs Schnitte angefertigt. Lediglich die beiden mittleren wurden weiterbearbeitet (vgl. Abb. 17). Vier Schnitte wurden als Reserve in einem Präparatbuch einsortiert und aufbewahrt.

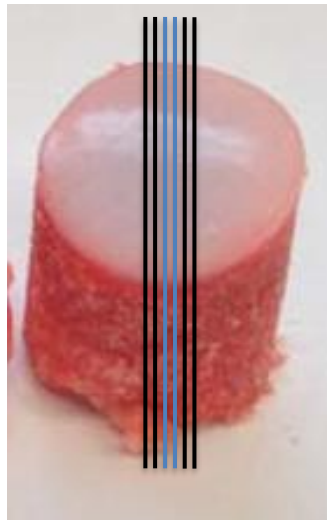


Abbildung 17: Knochen-Knorpel-Zylinder mit eingezeichnetem Schema der Entnahmestellen der Schnitte. Lediglich die beiden mittleren (blau) wurden weiterverarbeitet. Die äußeren vier (schwarz) sind Reserve.

Große MMA-Blöcke, die sich nicht auf den Messingblock kleben ließen, wurden zuvor mithilfe einer Bandsäge (FK23, Bizerba, Balingen) auf die gewünschte Größe getrimmt (vgl. Abb. 18, links).

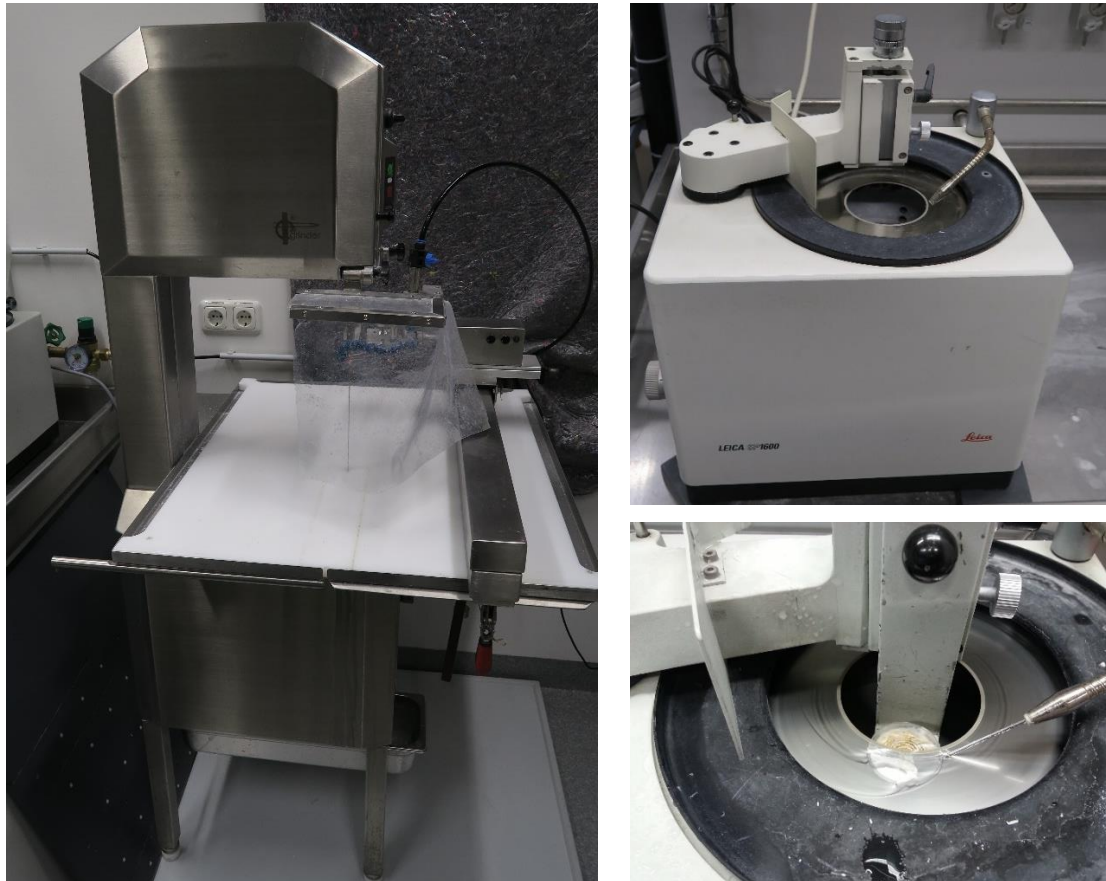


Abbildung 18: li.: Bandsäge FK23 Bizerba; re.: Sägemikrotom SP1600 ohne (oben) und mit Probe (unten)

Unmittelbar nach dem Schneiden mit dem Sägemikrotom erfolgte mithilfe eines digitalen Mikrometers (*Digimatic Micrometer*, Mitutoyo, Kawasaki, Japan) eine exakte Messung und Dokumentation der Schnittdicke. Die Dicke wurde dabei immer in der Präparatmitte gemessen. Anschließend wurden die Präparate zwischen zwei beschwerten Glasplatten für ungefähr eine Woche getrocknet, sodass eine Wellenbildung vermieden wurde.

Die getrockneten Schnitte wurden mithilfe von Sekundenkleber (Cyanolit 201, Bürklin, Oberhaching) auf durchsichtige Objektträger geklebt, beschriftet und für 15 Minuten zwischen zwei Teflon- und zwei Metallplatten in einen Schraubstock eingespannt. Beim Kleben war es relevant, Luftblasen zwischen Präparat und Objektträger zu vermeiden, damit die spätere Befundung unter dem Mikroskop nicht erschwert wird. Sowohl die Objektträgerdicke als auch die Gesamtdicke von Präparat, Kleber und Objektträger wurden dokumentiert.

2.5.3 Schleifen und Polieren der Präparate

Mithilfe dieser Werte ließ sich beim darauffolgenden Schleifvorgang das erforderliche Abtragungsausmaß errechnen. Angestrebt war eine Präparatdicke von ca. 100 µm. Zum Schleifen wurde der Objektträger samt aufgeklebtem Präparat durch einen Vakuumsog an der Probenführung der Schleifmaschine (Mikro-Schleifsystem 400 CS, Exakt, Norderstedt) befestigt (vgl. Abb. 19). Das Schleifpapier (Schleifscheiben Discs P 1200, Hermes, Hamburg-Lurup) wurde auf den befeuchteten Schleifteller gelegt und alleinig durch Kapillarkräfte fixiert. Zusätzliches Gewicht ermöglichte das Herablassen der Probenführung auf den Schleifteller. Nach Eingabe der gewünschten Abtragungsdicke an der Steuerungseinheit und Anstellen der Wasserzufuhr wurde der Schleifvorgang gestartet. Dabei wurde die Probe auf dem drehenden Schleifteller in linearer Bewegung von einer Seite zur anderen gefahren. Nach Erreichen der gewünschten Abtragung stoppte die Maschine selbstständig. Es erfolgten eine neue Messung und Dokumentation der Präparatdicke. Der Schleifvorgang wurde so oft wiederholt, bis die gewünschte Dicke von etwa 100 µm erreicht wurde und das Präparat glatt und von Kleberresten befreit war.

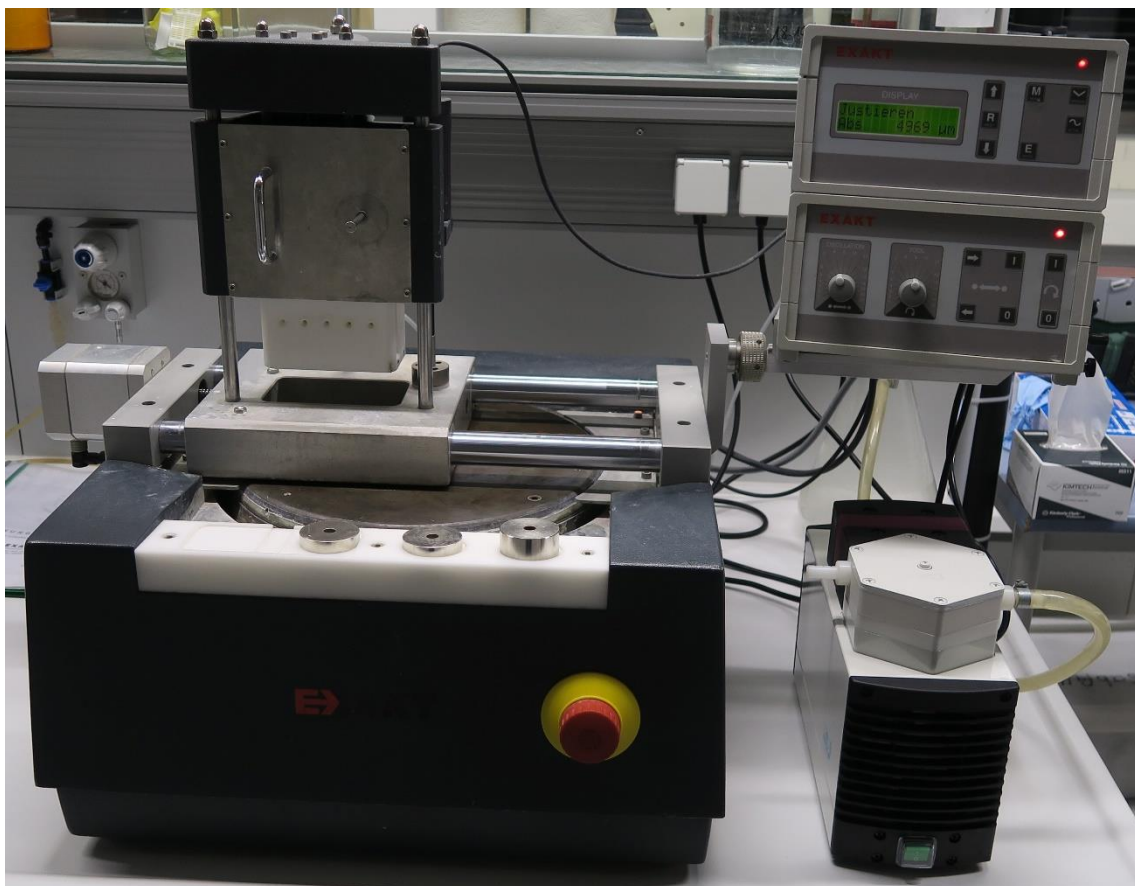


Abbildung 19: Mikro-Schleifsystem Exakt 400 CS

Nach erfolgreichem Schleifen folgte das Polieren der Präparate für 20 Minuten, damit eventuelle Kratzspuren beseitigt wurden. Für den Poliervorgang wurde dieselbe Maschine verwendet. Lediglich das Schleifpapier wurde gegen ein Polierpapier (Hermes P 4000, Hamburg-Lurup) ausgetauscht. Nach dem Polieren erfolgte eine erste mikroskopische Betrachtung der Nativpräparate, sodass vor der Färbung eine gute Qualität der Proben sichergestellt wurde. Auch makroskopisch sollte der Schnitt glasklar sein und keine Kleberreste aufweisen. Die Präparate, bei denen das Polieren im Gerät nicht ausreichend war und nach wie vor starke Kratzer sichtbar waren, wurden anschließend mithilfe von Diamantpulver zusätzlich von Hand poliert.

2.5.4 Färbung der Präparate

Als Färbemethode wurde eine Giemsa-Eosin-Färbung gewählt, da sich hier die einzelnen Bestandteile des Knochen- und Knorpelgewebes besonders gut zeigen und abgrenzen lassen. Typischerweise erscheint bei dieser Methode mineralisiertes Gewebe rosa, Kollagen und Osteoid blassblau und Knorpel rot-violett (vgl. Tabelle 4).

<i>Gewebe</i>	<i>Farbton</i>
Mineralisiertes Gewebe	Rosa
Kollagen	Blassblau
Osteoid	Blassblau
Knorpel	Rot-violett

Tabelle 4: Färbergebnis bei Giemsa-Eosin-Färbung

Auch Blut- und Knorpelzellen werden angefärbt, einzelne Faseranordnungen innerhalb der Knorpelschicht sind allerdings nicht differenzierbar. Lediglich die oberste Schicht des Knorpels, die Tangentialfaserschicht, lässt sich bei dieser Färbemethode durch das Vorhandensein länglich-ovaler Zellen erkennen (vgl. Abb. 20).

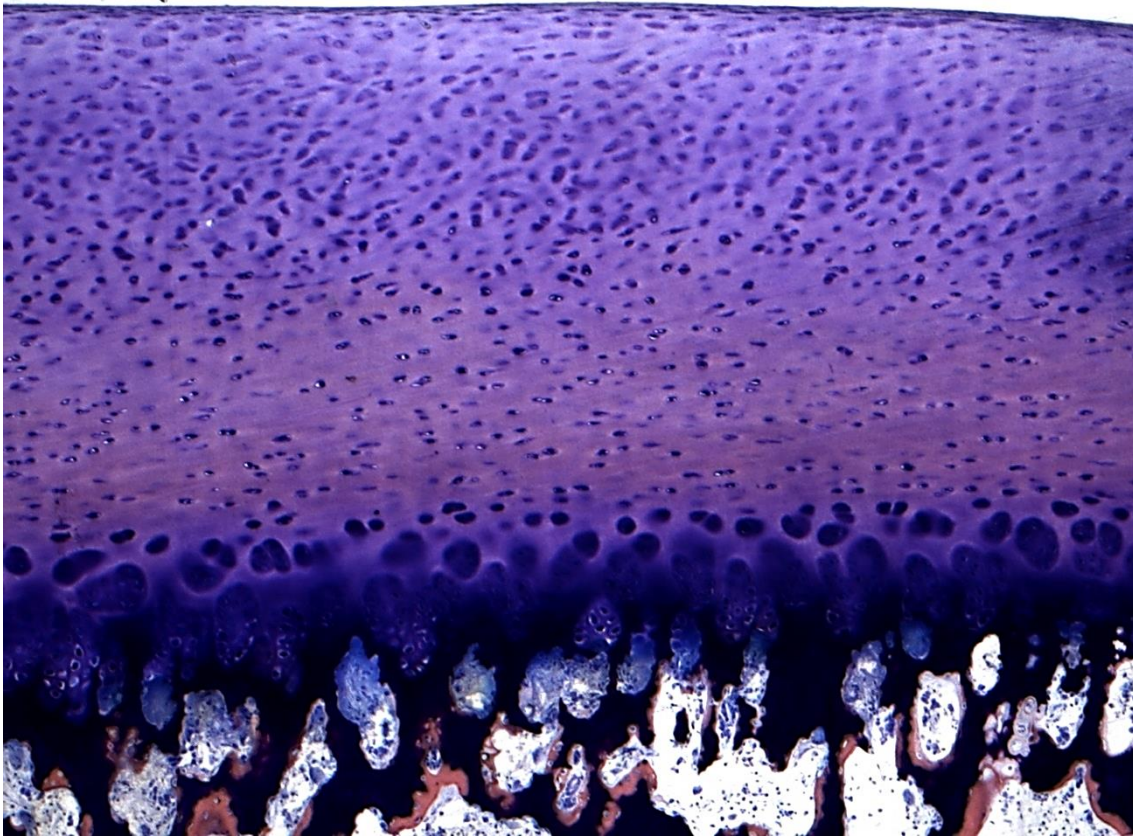


Abbildung 20: Histologisches Präparat mit sichtbarem Knorpel- und Knochengewebe in Giemsa-Eosin-Färbung

Die Präparate wurden auf eine Färbebank gelegt und zunächst für 15 Minuten mit 0,1-prozentiger Ameisensäure angeätzt, damit sie für die Färbemittel empfänglicher wurden. Nach Abschütten und Abtupfen der Ameisensäure erfolgte der erste Färbeschritt mit einer Giemsa-Lösung (Sigma Aldrich, St. Louis, USA). Diese wurde zunächst im Wärmeschrank auf 60 °C erhitzt und mit einer Pipette gleichmäßig auf die Präparate aufgetragen. Anschließend wurde die Färbebank samt angefärbten Schnitten mit einem Deckel verschlossen und für 30 Minuten bei 60 °C in eine feuchte Kammer gestellt. Nach Abschluss der 30 Minuten wurden die Objektträger kurz in 0,1-prozentige Essigsäure getaucht, sodass die überschüssigen Farbreste auf den Präparaten entfernt wurden. Für den nächsten Färbeschritt wurde zunächst eine 0,1-prozentige Eosin-Lösung hergestellt. Als Ansatz wurden 2 ml Eosin mit 18 ml destilliertem Wasser vorab verdünnt, und ein Tropfen hundertprozentiger Eisessig wurde hinzugefügt. Mit dieser Eosin-Lösung wurden die Schnitte weitere vier Minuten gefärbt und anschließend mit destilliertem Wasser abgespült. Bei zu starker Färbung bestand die Möglichkeit, die Probe kurz in 90-

prozentigem Ethanol zu differenzieren. Die fertigen Präparate wurden in einen Objektträgerkasten einsortiert und für die abschließende Befundung aufbewahrt.

2.6 Histologische Beurteilung der Präparate

Die Beurteilung der gefärbten Präparate erfolgte mithilfe eines Auflichtmikroskops (Axiophot, Zeiss, Oberkochen; vgl. Abb. 21). Dabei handelt es sich um ein Forschungsmikroskop der Firma Zeiss, das mit einem sechsfachen Objektivrevolver ausgestattet ist, bestehend aus Plan-Neofluar-Objektiven (2,5x, 5x, 10x, 20x, 40x, 100x). Des Weiteren ermöglicht das Axiophot verschiedene Kontrastverfahren, unter anderem Hellfeld, Phasenkontrast, Polarisations- und Fluoreszenzmikroskopie. Durch eine integrierte Kamera (AxioCam, Zeiss, Oberkochen) und ein Programm (AxioVision, Zeiss, Oberkochen) ist es möglich, die Präparate in Echtzeit auf dem Computer anzusehen und bei Bedarf histologische Bilder aufzunehmen und zu speichern. Diverse Programmtools erlauben zudem eine Bearbeitung oder Auswertung der Präparatbilder. Auf diese Weise konnte unter anderem die Knorpeldicke durch eine integrierte Messfunktion gemessen werden.



Abbildung 21: Auflichtmikroskop Axiophot der Firma Zeiss mit integrierter Kamera (AxioCam)

Die Präparate wurden von zwei Personen (A. Pieringer und S. Milz) unabhängig voneinander zu verschiedenen Zeiten verblindet beurteilt. Dazu wurden die Präparate zufällig gezogen, und die histologische Befundung wurde notiert. Erst danach erfolgte die Zuordnung der histologischen Befundung zur Präparatnummer. Ein Fokus lag dabei auf der Quantifizierung des Knorpelschadens. Diese erfolgte mithilfe einer Schadenstabelle, die bereits in vorherigen Studien zum Einsatz kam^{9,10,81}. Je nach Ausmaß der Schädigung wurden die Werte 0–5 vergeben. Sie richten sich maßgeblich danach, welche Knorpelzonen betroffen sind (vgl. Abb. 22 und Tabelle 5).

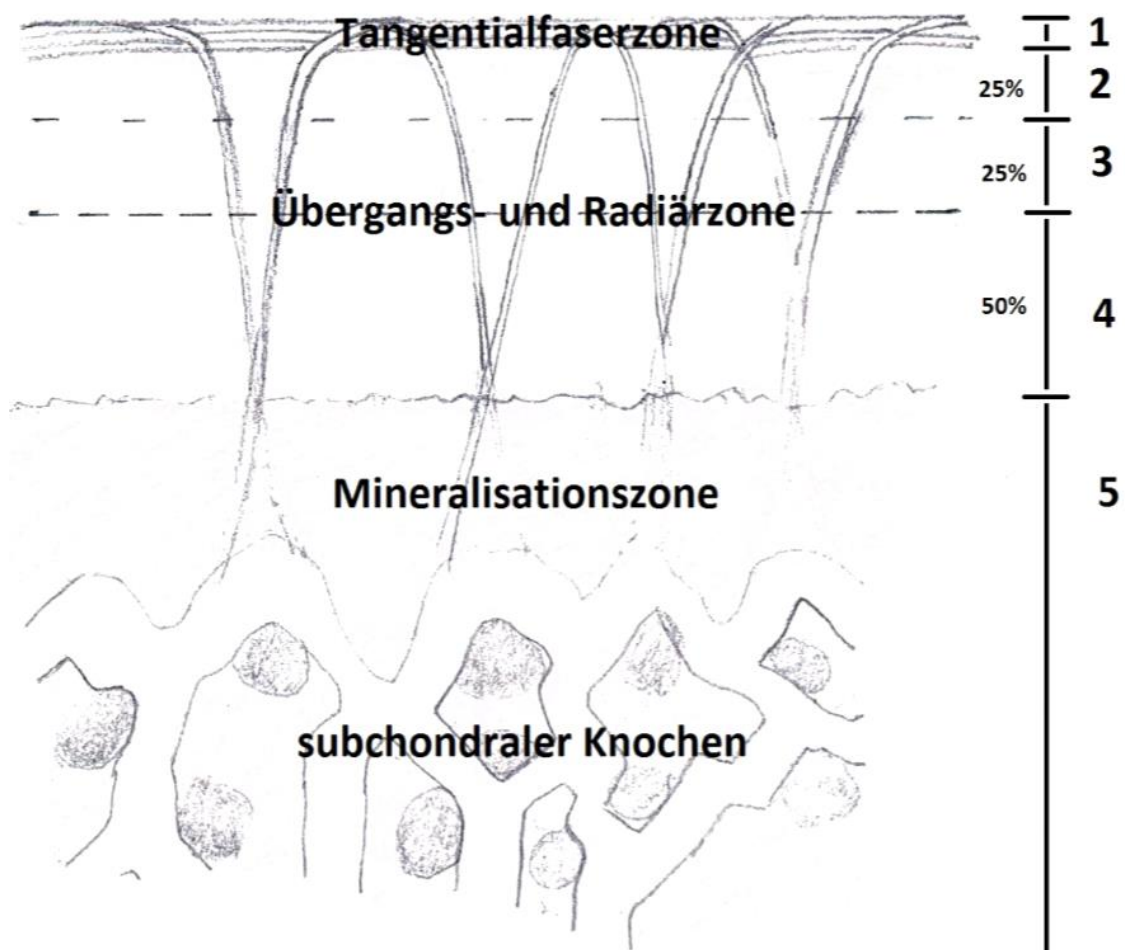


Abbildung 22: Schadenstabelle zur Beurteilung der histologischen Präparate (nach Glaser et al., 2002 und Milz et al., 1994)^{82,83}

<i>Schadenswert</i>	<i>Erklärung</i>
0	Kein Schaden erkennbar
1	Schaden in Tangentialfaserzone
2	Schaden bis zu 25 % der Übergangs- und Radiärzone
3	Schaden bis zu 50 % der Übergangs- und Radiärzone
4	Schaden bis zu 100 % der Übergangs- und Radiärzone
5	Schaden bis mindestens in Mineralisationszone

Tabelle 5: Erklärung zu den Werten der Schadenstabelle

Für die Wertevergabe wurde stets die Stelle mit dem größten Knorpelschaden innerhalb eines Präparats herangezogen. Sonstige Auffälligkeiten im Präparat wurden ebenfalls notiert. Alle Ergebnisse wurden anschließend sortiert nach Versuchsgruppen in eine Excel-Tabelle eingetragen, und der Schadendurchschnittswert jeder Gruppe wurde errechnet. Das folgende Kapitel zeigt die ermittelten Ergebnisse.

3 Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse aus der mikroskopischen Befundung gezeigt. Abbildung 23 liefert zunächst einen Überblick über die Häufigkeit der zugewiesenen Schadenswerte ohne Gruppenaufteilung.

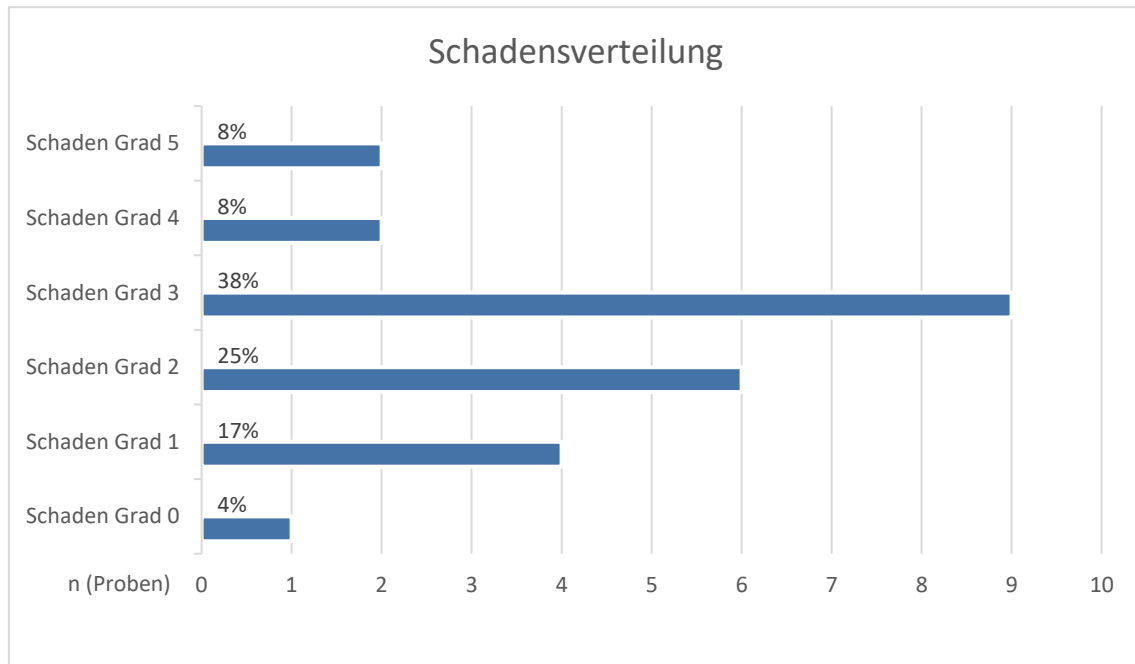


Abbildung 23: Balkendiagramm zur Verteilung des Knorpelschadens der Knochen-Knorpel-Zylinder, die einheitlich bewertet wurden. Jeweils Angabe der absoluten Werte (x-Achse) und in Prozent (über Balken). n (gesamt) = 24

Es wird ersichtlich, dass der Großteil der Präparate deutliche Knorpelschäden zeigte. Über ein Drittel der Präparate wies einen Schaden Grad 3 auf und beinahe zwei Drittel der Präparate einen Schaden Grad 2 oder Grad 3. Kein Knorpelschaden, mild ausgeprägte Knorpelschäden (0 oder 1) sowie extreme Knorpelschäden (4 oder 5) kamen indes seltener vor.

In Abbildung 23 sind allerdings nur 24 der insgesamt 30 Proben aufgeführt. Das liegt daran, dass sechs Proben durch die Befunder hinsichtlich des Knorpelschadens unterschiedlich beurteilt wurden. In diesen Fällen wurde den Proben der Mittelwert der beiden Schadenswerte zugewiesen. Die Werte hierfür können Abbildung 24 entnommen werden.

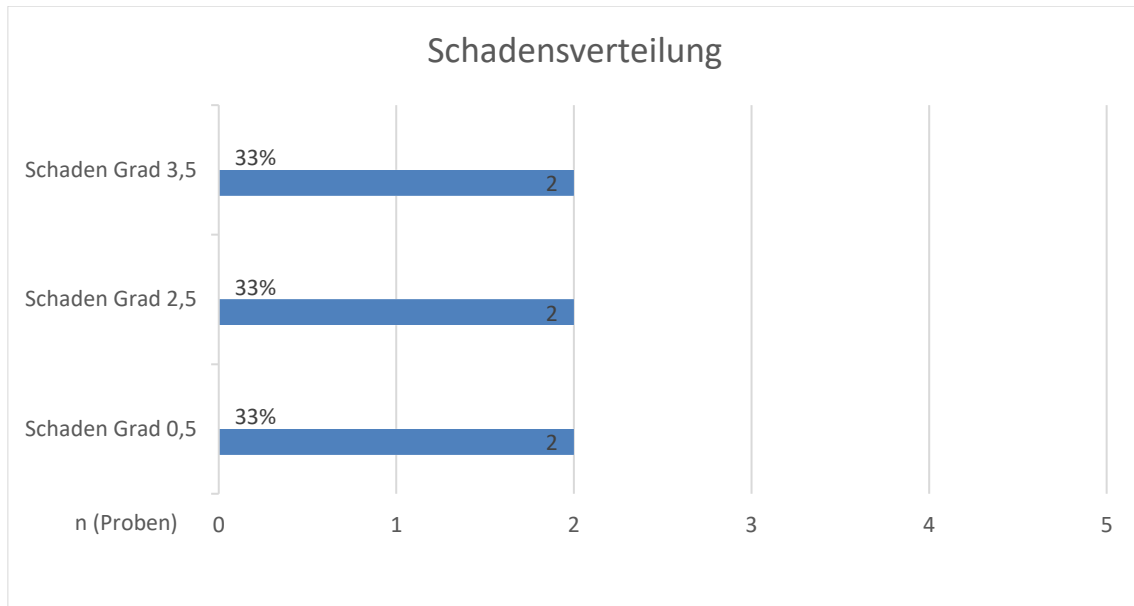


Abbildung 24: Balkendiagramm zur Verteilung des Knorpelschadens der Knochen-Knorpel-Zylinder, die von den Befundern unterschiedlich bewertet wurden. Jeweils Angabe der absoluten Werte (x-Achse) und in Prozent (über Balken). n (gesamt) = 6

In den folgenden Abschnitten sind die Ergebnisse der histologischen Befundung gruppenweise aufgeführt. Die Schadenswerte sind in Tabellen angegeben, sowohl einzeln für die Befunder (P = Pieringer, M = Milz) als auch als Durchschnittswert. Dabei ist pro Knochen-Knorpel-Zylinder nur *ein* Wert angeben, obwohl jeweils beide angefertigten Schnitte histologisch beurteilt wurden. Dieser Schritt dient der Übersichtlichkeit, da beiden Präparaten einer Probe trotz verblindeter Befundung jeweils derselbe Schadenswert zugeteilt wurde und eine separate Angabe der Werte somit überflüssig ist. Im Anschluss an eine Tabelle ist jeweils beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders der entsprechenden Gruppe gezeigt. Sollten die Proben spezielle Auffälligkeiten aufgewiesen haben, wird das ebenfalls im Abbildungstext des Präparats erwähnt.

3.1 Knorpel gegen Knorpel in NaCl

Wie eingangs erwähnt, wurde die Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpel in NaCl* nicht durchgeführt, da die Ergebnisse bereits aus einer anderen Arbeit bekannt sind¹⁰. Der Vollständigkeit halber werden hier die Ergebnisse ebenfalls aufgeführt (vgl. Tabelle 6). Abbildung 25 zeigt beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders aus dieser Arbeit.

<i>Versuchsreihe</i>		<i>Schadenswert</i>
<i>CC NaCl 24 h</i>	Probe 1	0
	Probe 2	0
	Probe 3	0
<i>CC NaCl 48 h</i>	Probe 1	0
	Probe 2	0
	Probe 3	0
<i>CC NaCl 72 h</i>	Probe 1	0
	Probe 2	0
	Probe 3	0
<i>Gesamt</i>		0

Tabelle 6: Schadenswerte der Versuchsreihen C-C NaCl¹⁰

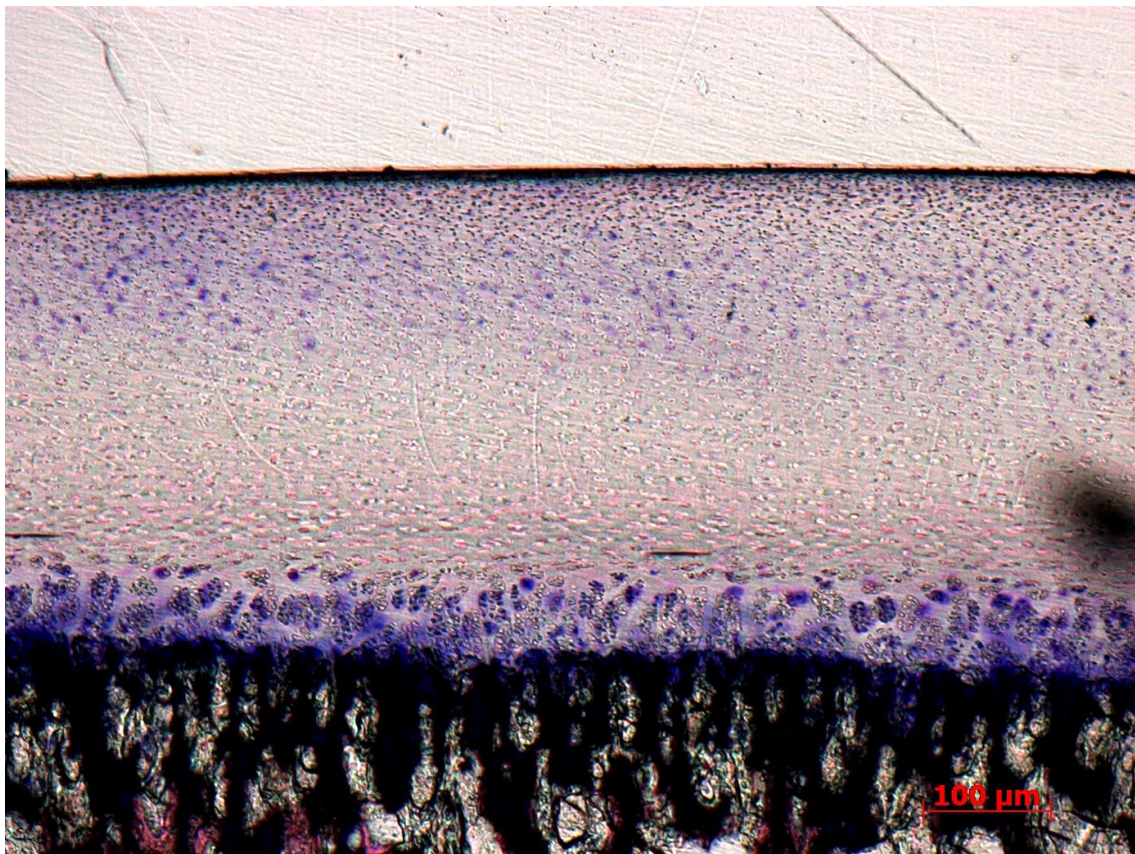


Abbildung 25: Versuchsgruppe 1, ‚Knorpel auf Knorpel‘: tibialer Knorpel in NaCl für 24 h, ohne Schaden, Zylinder 1183-2 bei fünffacher Vergrößerung (aus Diermeier, 2018)⁷⁹

3.2 Knorpel gegen Knochen in NaCl

Die Ergebnisse der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knochen in NaCl* sind in Tabelle 7 für die einstündige Laufzeit und in Tabelle 8 für die sechsstündige Laufzeit dargestellt. Im Anschluss an eine Tabelle ist jeweils beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders der entsprechenden Gruppe gezeigt. Tabelle 9 gibt einen Überblick über den Gesamtschaden der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knochen in NaCl*.

Ergebnisse der einstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-B NaCl 1 h</i>			
Probe 1	4	3	3,5
Probe 2	4	3	3,5
Probe 3	4	4	4
<i>Gesamt</i>			3,67

Tabelle 7: Schadenswerte der Versuchsreihe C-B NaCl 1 h

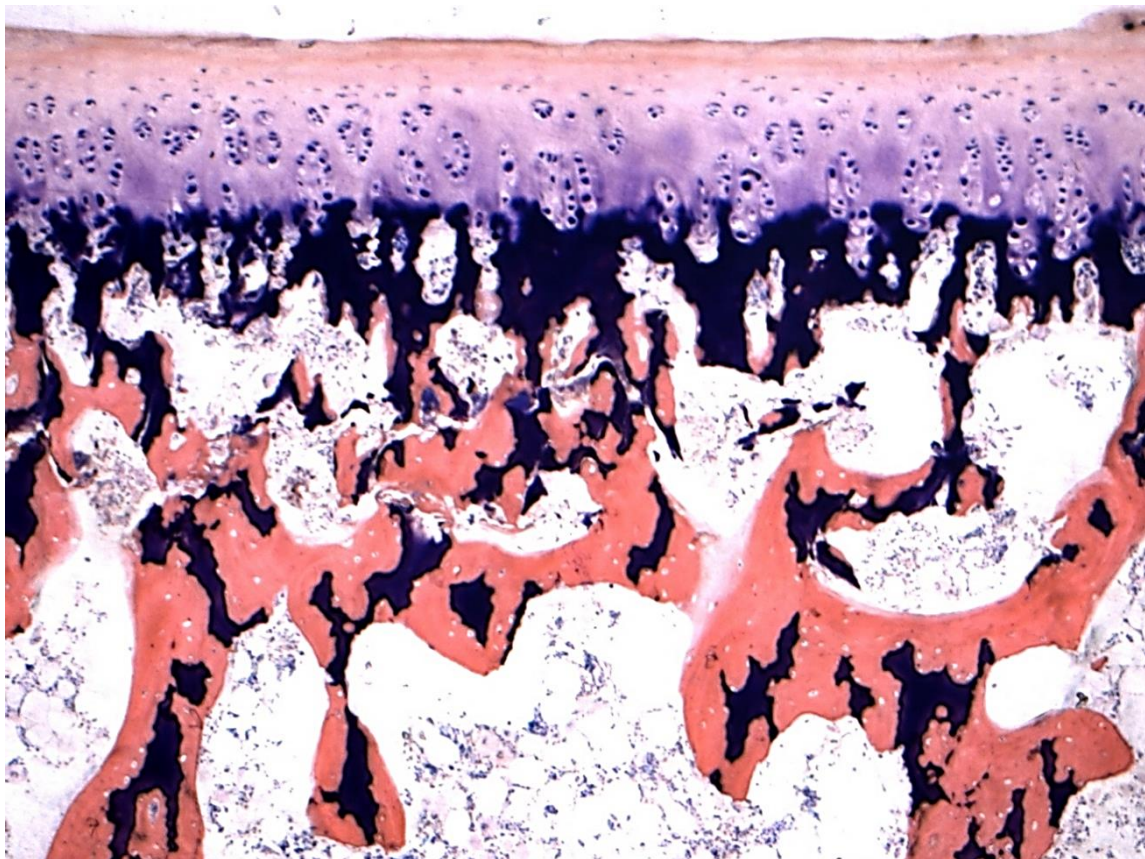


Abbildung 26: Probe 3 *C-B NaCl 1 h*, Histologie

Ergebnisse der sechsstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
<i>C-B NaCl 6 h</i>	Pieringer	Milz	Durchschnitt
Probe 1	3	3	3
Probe 2	4	4	4
Probe 3	3	3	3
<i>Gesamt</i>			3,33

Tabelle 8: Schadenswerte der Versuchsreihe C-B NaCl 6 h

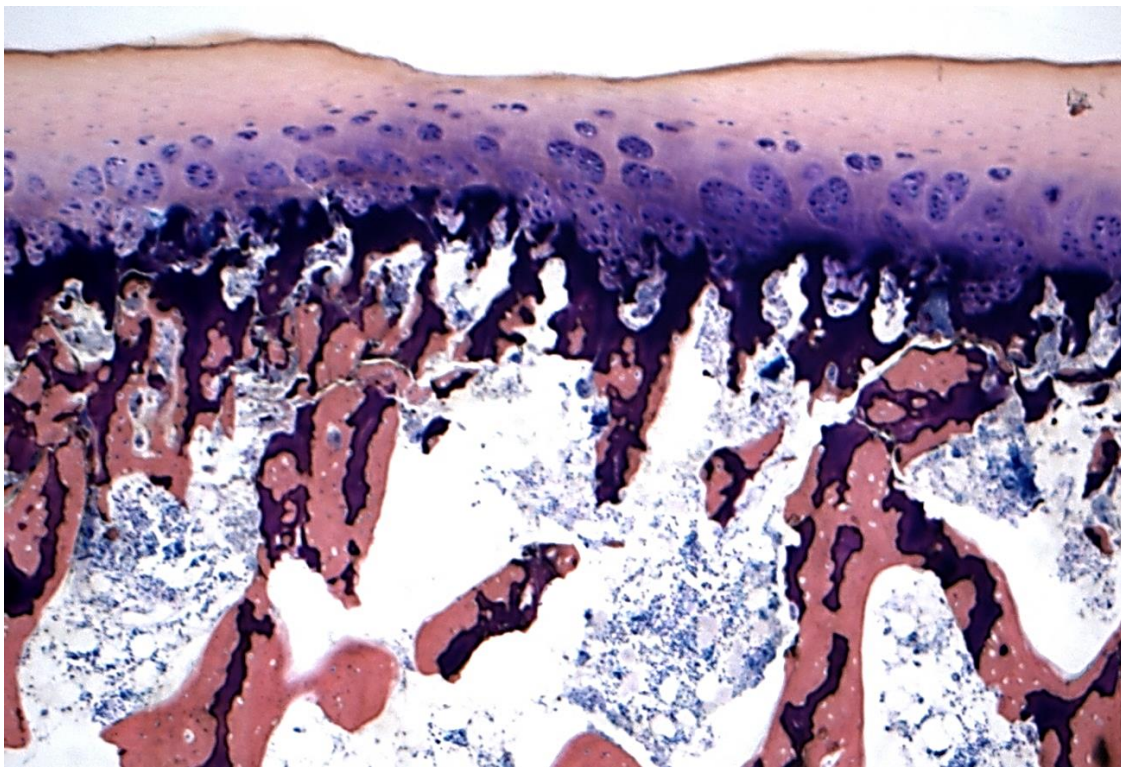


Abbildung 27: Probe 2 der Versuchsreihe C-B NaCl 6 h, Histologie

Gesamtschaden der Versuchsreihe Knorpel gegen Knochen in NaCl

Versuchsreihe C-B NaCl	Schadenswert
C-B NaCl 1 h	3,67
C-B NaCl 6 h	3,33
<i>Gesamt</i>	3,5

Tabelle 9: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-B NaCl

3.3 Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl

Die Ergebnisse der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl* sind in Tabelle 10 für die einstündige Laufzeit und in Tabelle 11 für die sechsstündige Laufzeit dargestellt. Im Anschluss an eine Tabelle ist jeweils beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders der entsprechenden Gruppe gezeigt. Tabelle 12 gibt einen Überblick über den Gesamtschaden der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl*.

Ergebnisse der einstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-CD NaCl 1 h</i>			
Probe 1	2	2	2
Probe 2	3	3	3
Probe 3	2	3	2,5
<i>Gesamt</i>			2,5

Tabelle 10: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD NaCl 1 h

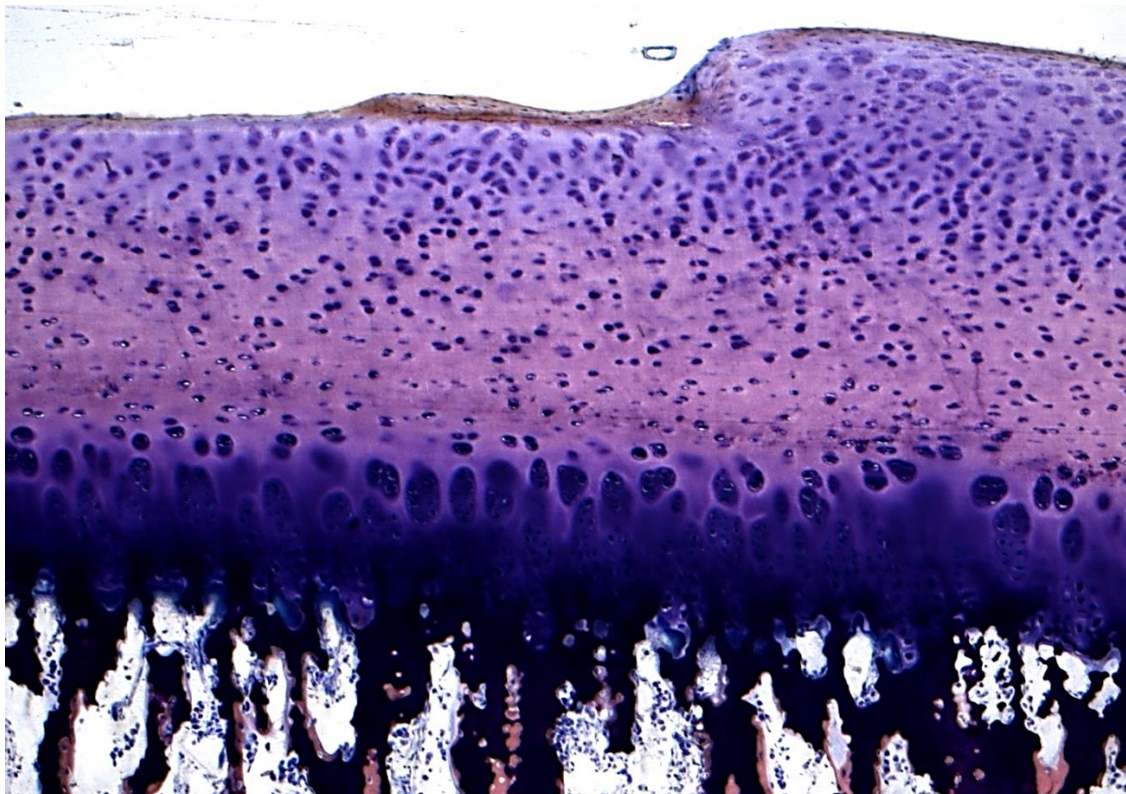


Abbildung 28: Probe 3 der Versuchsreihe *C-CD NaCl 1 h*, Histologie

Ergebnisse der sechsstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-CD NaCl 6 h</i>			
Probe 1	3	3	3
Probe 2	3	3	3
Probe 3	2	2	2
<i>Gesamt</i>			2,67

Tabelle 11: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD NaCl 6 h



Abbildung 29: Probe 2 der Versuchsreihe C-CD NaCl 6 h, Histologie

Gesamtschaden des Versuchs Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl

Versuchsreihe C-CD NaCl	Schadenswert
C-CD NaCl 1 h	2,5
C-CD NaCl 6 h	2,67
<i>Gesamt</i>	2,58

Tabelle 12: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-CD NaCl

3.4 Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl

Die Ergebnisse der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl* sind in Tabelle 13 für die einstündige Laufzeit und in Tabelle 14 für die sechsstündige Laufzeit dargestellt. Im Anschluss an eine Tabelle ist jeweils beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders der entsprechenden Gruppe gezeigt. Tabelle 15 gibt einen Überblick über den Gesamtschaden der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl*.

Ergebnisse der einstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-CD CF NaCl 1 h</i>			
Probe 1	3	3	3
Probe 2	3	3	3
Probe 3	2	2	2
<i>Gesamt</i>			2,67

Tabelle 13: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD CF NaCl 1 h

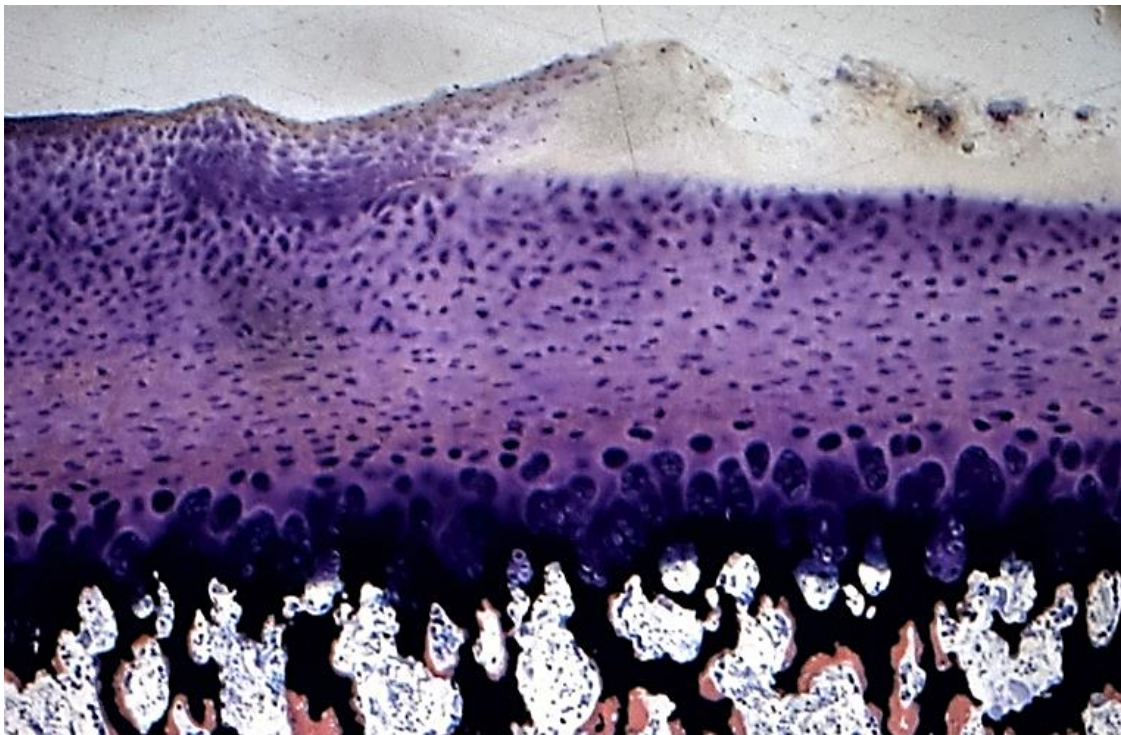


Abbildung 30: Probe 3 der Versuchsreihe C-CD CF NaCl 1 h, Histologie

Ergebnisse der sechsstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-CD CF NaCl 6 h</i>			
Probe 1	2	2	2
Probe 2	3	2	2,5
Probe 3	3	3	3
<i>Gesamt</i>			2,5

Tabelle 14: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD CF NaCl 6 h

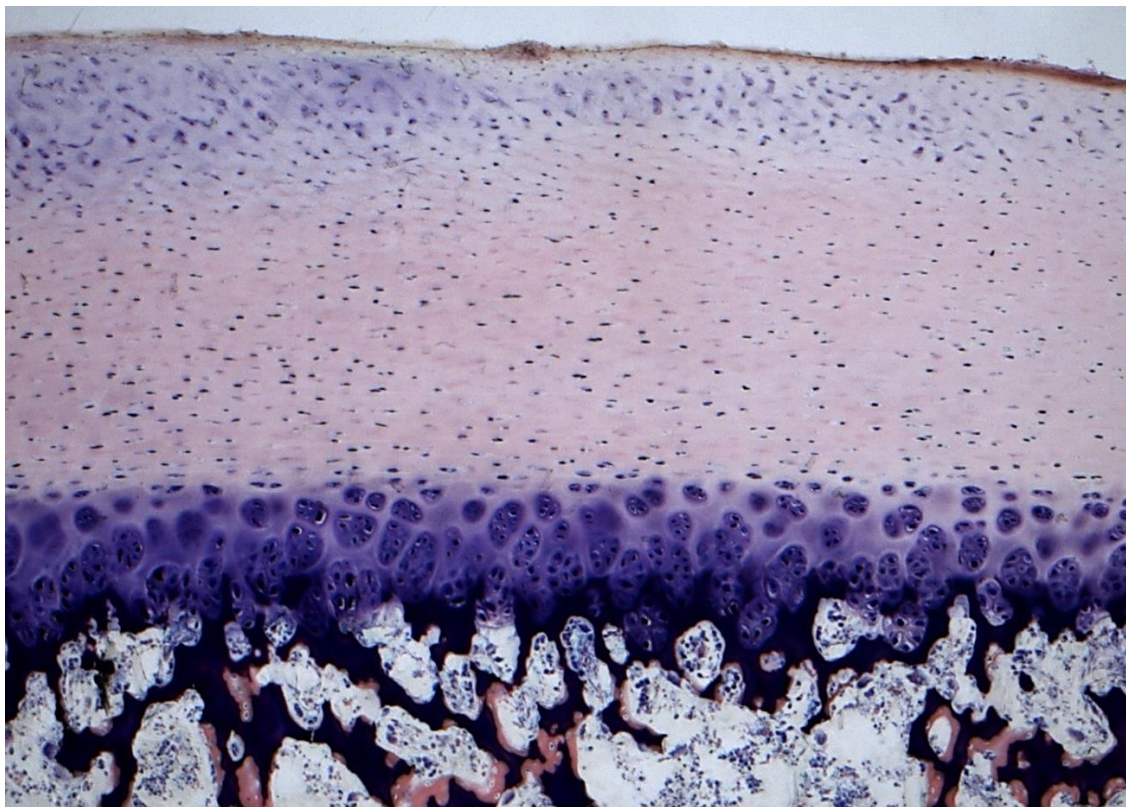


Abbildung 31: Probe 1 der Versuchsreihe C-CD CF NaCl 6 h, Histologie

Gesamtschaden des Versuchs Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF in NaCl

Versuchsreihe C-CD CF NaCl	Schadenswert
C-CD CF NaCl 1 h	2,67
C-CD CF NaCl 6 h	2,5
<i>Gesamt</i>	2,58

Tabelle 15: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-CD CF NaCl

3.5 Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure

Die Ergebnisse der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure* sind in Tabelle 16 für die einstündige Laufzeit und in Tabelle 17 für die sechsstündige Laufzeit dargestellt. Im Anschluss an eine Tabelle ist jeweils beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders der entsprechenden Gruppe gezeigt. Tabelle 18 gibt einen Überblick über den Gesamtschaden der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure*.

Ergebnisse der einstündigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-C</i>			
<i>Hyaluronsäure 1 h</i>			
Probe 1	0	0	0
Probe 2	1	1	1
Probe 3	1	1	1
<i>Gesamt</i>			<i>0,67</i>

Tabelle 16: Schadenswerte der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure 1 h

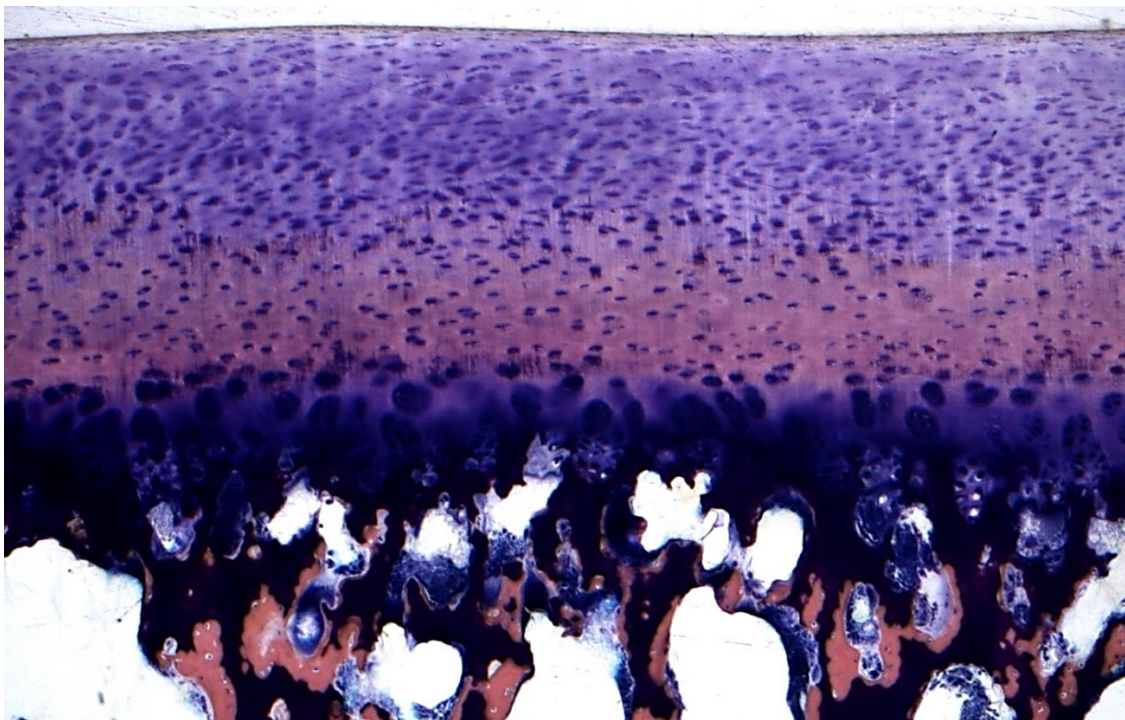


Abbildung 32: Probe 1 der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure 1 h, Histologie

Ergebnisse der sechsständigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-C Hyaluronsäure 6 h</i>			
Probe 1	1	0	0,5
Probe 2	1	1	1
Probe 3	3	3	3
<i>Gesamt</i>			<i>1,5</i>

Tabelle 17: Schadenswerte der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure 6 h

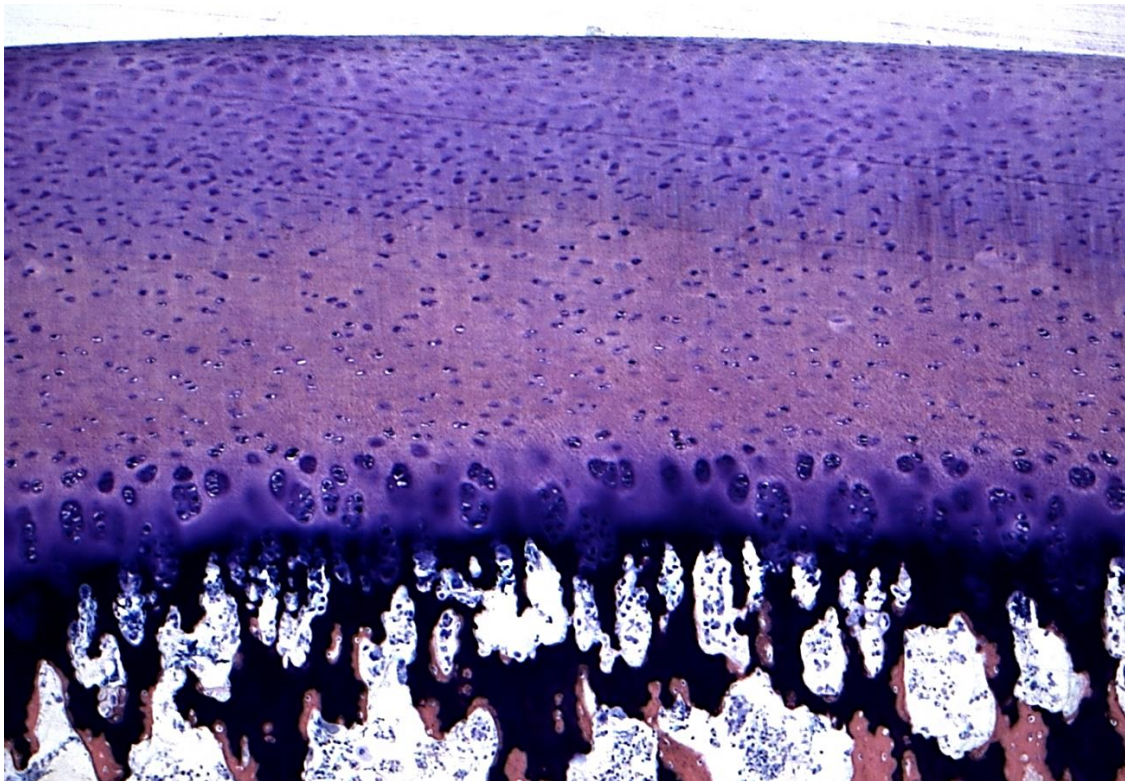


Abbildung 33: Probe 1 der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure 6 h, Histologie

Gesamtschaden des Versuchs Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure

Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure	Schadenswert
C-C Hyaluronsäure 1 h	0,67
C-C Hyaluronsäure 6 h	1,5
<i>Gesamt</i>	<i>1,08</i>

Tabelle 18: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-C Hyaluronsäure

3.6 Knorpel gegen Knorpelschaden in Hyaluronsäure

Die Ergebnisse der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpelschaden in Hyaluronsäure* sind in Tabelle 19 für die einstündige Laufzeit und in Tabelle 20 für die sechsstündige Laufzeit dargestellt. Im Anschluss an eine Tabelle ist jeweils beispielhaft das histologische Bild eines Knochen-Knorpel-Zylinders der entsprechenden Gruppe gezeigt. Tabelle 21 gibt einen Überblick über den Gesamtschaden der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpelschaden in Hyaluronsäure*.

Ergebnisse der einstündigen Laufzeit

Versuchsreihe		Schadenswert		
<i>C-CD</i>	<i>Hyaluronsäure</i>	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>1 h</i>				
Probe 1		2	2	2
Probe 2		0	1	0,5
Probe 3		2	2	2
<i>Gesamt</i>				<i>1,5</i>

Tabelle 19: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure 1 h

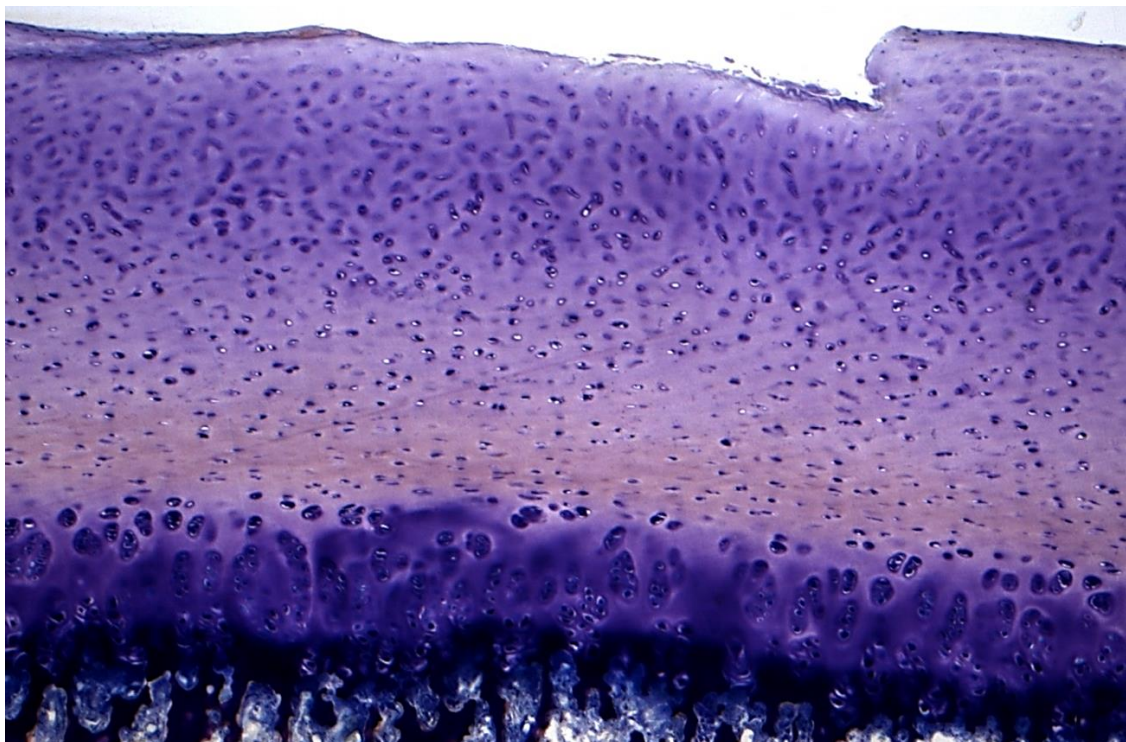


Abbildung 34: Probe 1 der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure 1 h, Histologie

Ergebnisse der sechsständigen Laufzeit

Versuchsreihe	Schadenswert		
	Pieringer	Milz	Durchschnitt
<i>C-CD Hyaluronsäure 6 h</i>			
Probe 1	1	1	1
Probe 2	5	5	5
Probe 3	5	5	5
<i>Gesamt</i>			3,67

Tabelle 20: Schadenswerte der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure 6 h

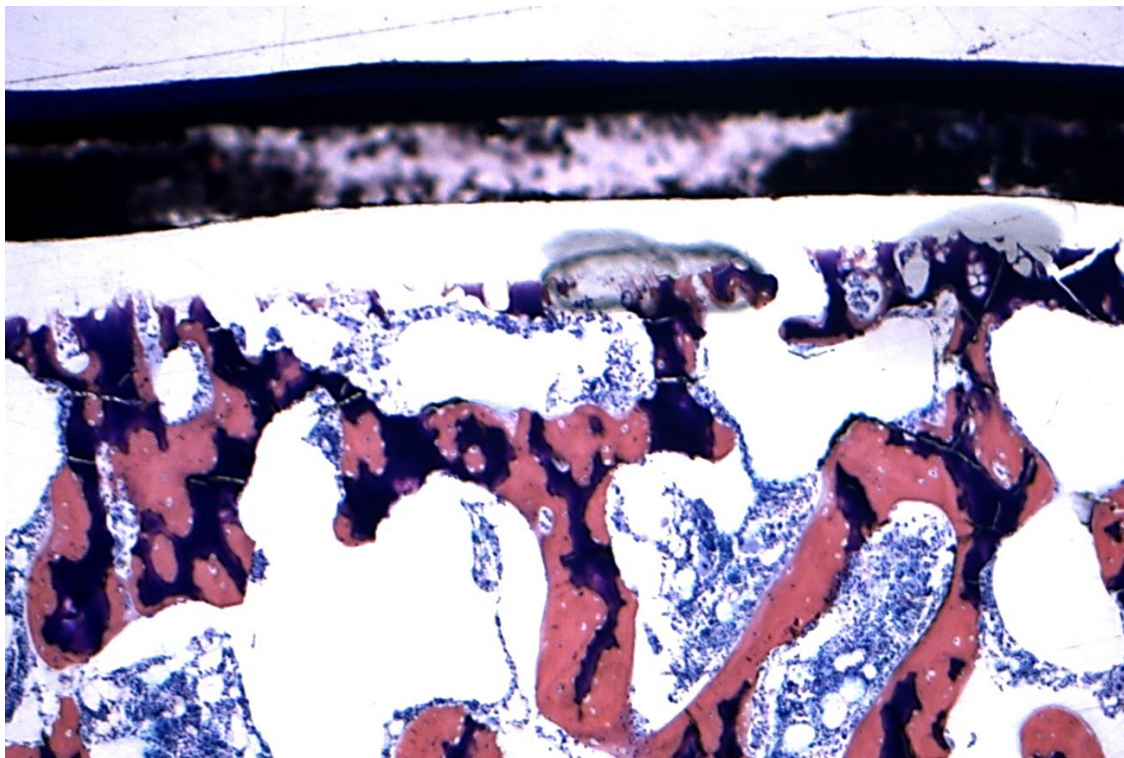


Abbildung 35: Probe 2 der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure 6 h, Histologie

Gesamtschaden des Versuchs Knorpel gegen Knorpeldefekt in Hyaluronsäure

Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure	Schadenswert
C-CD Hyaluronsäure 1 h	1,5
C-CD Hyaluronsäure 6 h	3,67
<i>Gesamt</i>	2,58

Tabelle 21: Gesamtschadenswert der Versuchsreihe C-CD Hyaluronsäure

3.7 Weitere Auffälligkeiten

3.7.1 Tidemarkschäden

Eine Auffälligkeit, die sich in manchen Präparaten neben dem oberflächlichen Knorpelschaden gezeigt hat, sind Tidemarkschäden. Als *Tidemark* wird die Verbindungszone von kalzifizierten zu nichtkalzifizierten Knorpel unmittelbar vor dem Übergang in den subchondralen Knochen bezeichnet. Auf mögliche Ursachen wird im Diskussionsteil eingegangen. Der Vollständigkeit halber werden hier aber bereits histologische Ausschnitte der betroffenen Präparate gezeigt. Teilweise lagen die Tidemarkschäden lokalisiert vor. Meist waren jedoch multiple Schäden über den gesamten Querschnitt des Zylinders zu sehen. Folgende Proben waren davon betroffen:

- Probe 3 der Versuchsreihe *C-C Hyaluronsäure 6 h* (vgl. Abb. 36)
- Proben 2 und 3 der Versuchsreihe *C-CD Hyaluronsäure 6 h* (vgl. Abb. 37 und Abb. 38)
- Probe 1 der Versuchsreihe *C-CD CF NaCl 1 h* (vgl. Abb. 39)

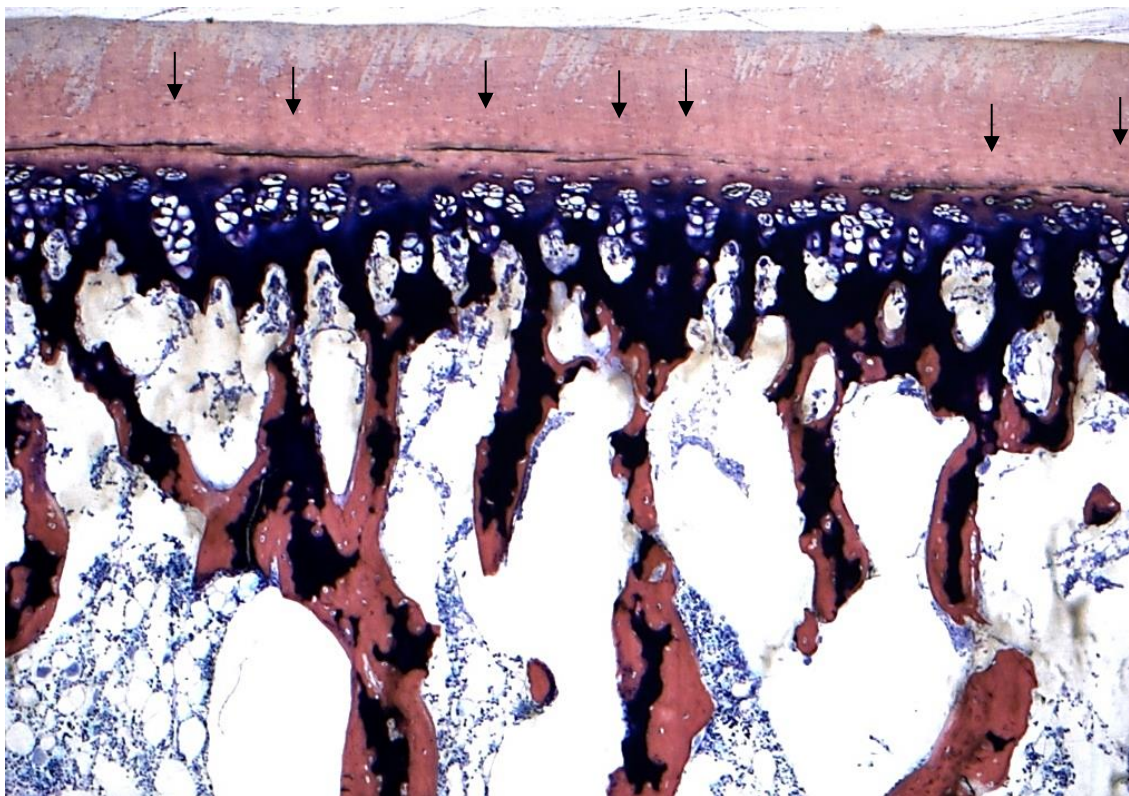


Abbildung 36: Probe 3 der Versuchsreihe *C-C Hyaluronsäure 6 h* mit multiplen Tidemarkschäden (siehe Pfeile)

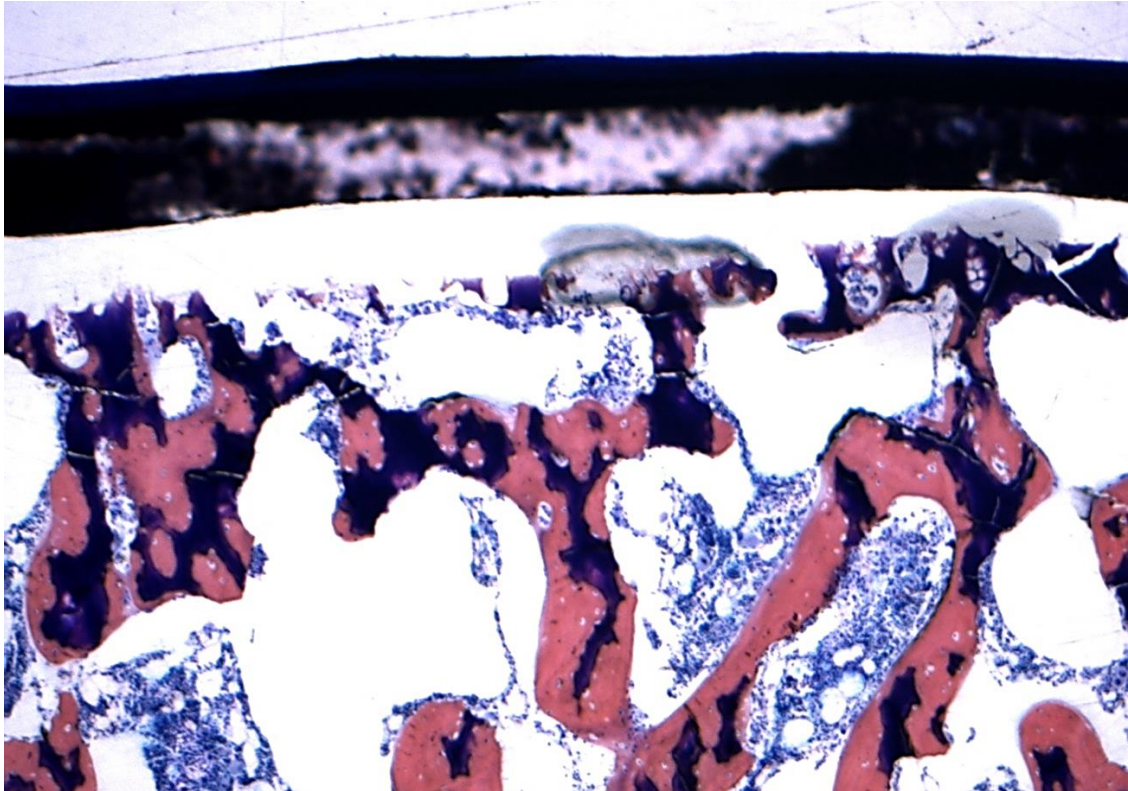


Abbildung 37: Probe 2 der Versuchsreihe *C-CD Hyaluronsäure 6 h* mit massiven Knorpelschäden und Ablösung des Knorpels im Bereich des Knochen-Knorpel-Überganges und der Tidemark, Histologie

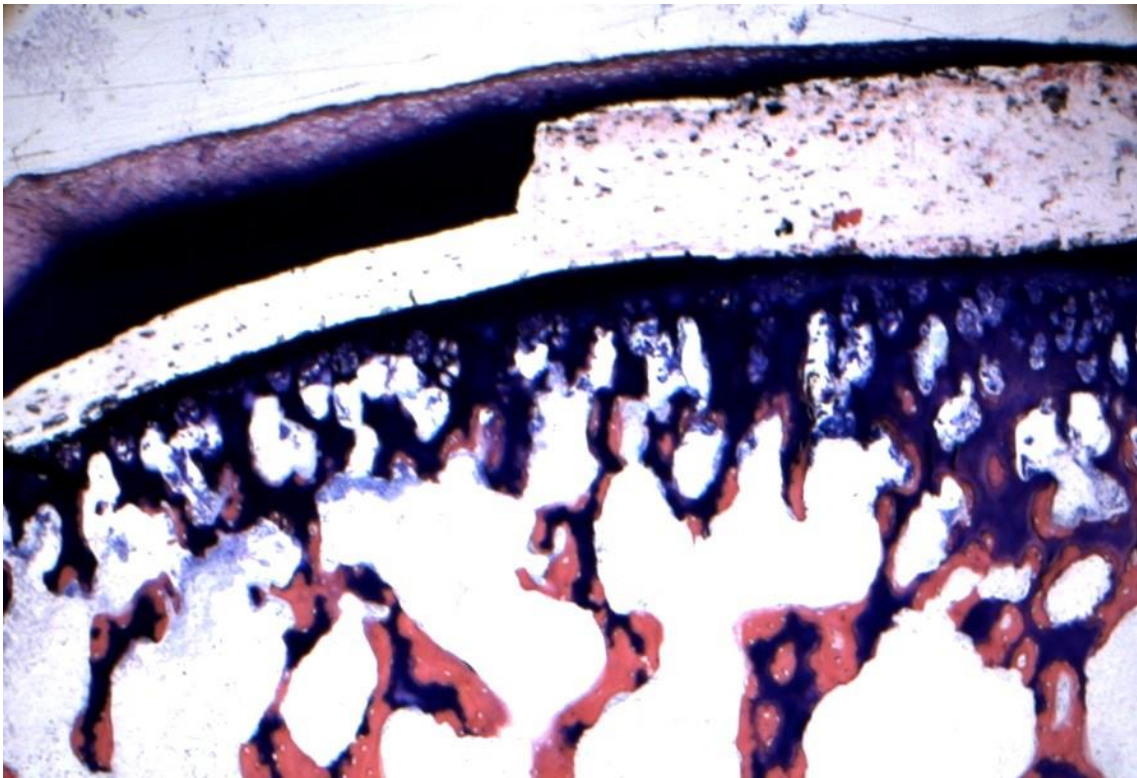


Abbildung 38: Probe 3 der Versuchsreihe *C-CD Hyaluronsäure 6 h* mit massiven Knorpelschäden und Ablösung des Knorpels im Bereich des Knochen-Knorpel-Überganges und der Tidemark, Histologie

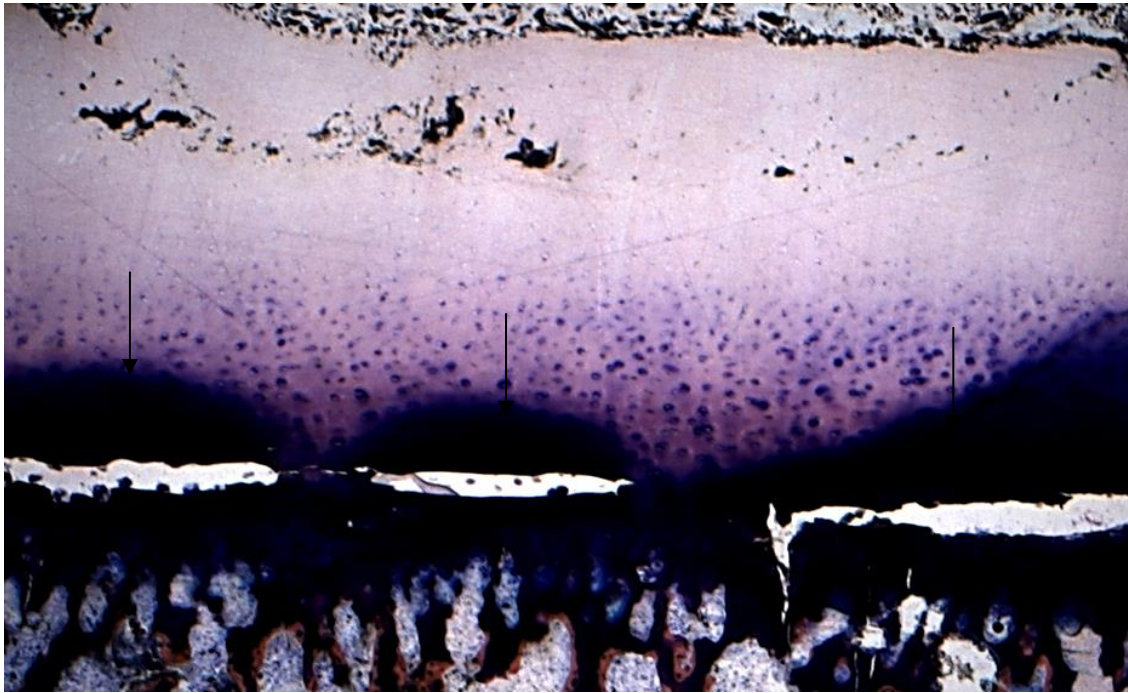


Abbildung 39: Probe 1 der Versuchsreihe *C-CD CF NaCl 1 h* mit klaffenden Tidemarkschäden (s. Pfeile)

3.7.2 Gefäßanschnitte

In einigen Präparaten lassen sich Gefäßanschnitte finden. Beispiele hierfür sind auf den folgenden histologischen Bildern gezeigt (vgl. Abb. 40–43). Diese deuten auf ein relativ junges Alter der Schweine hin.

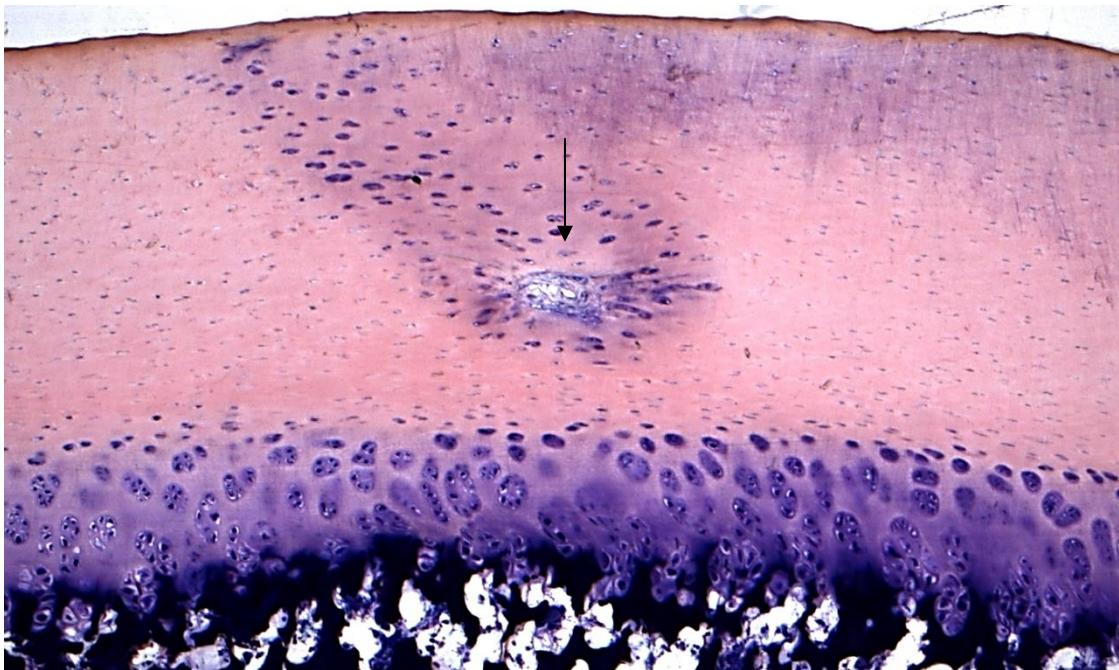


Abbildung 40: Histologisches Bild Nr. 1 eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil)

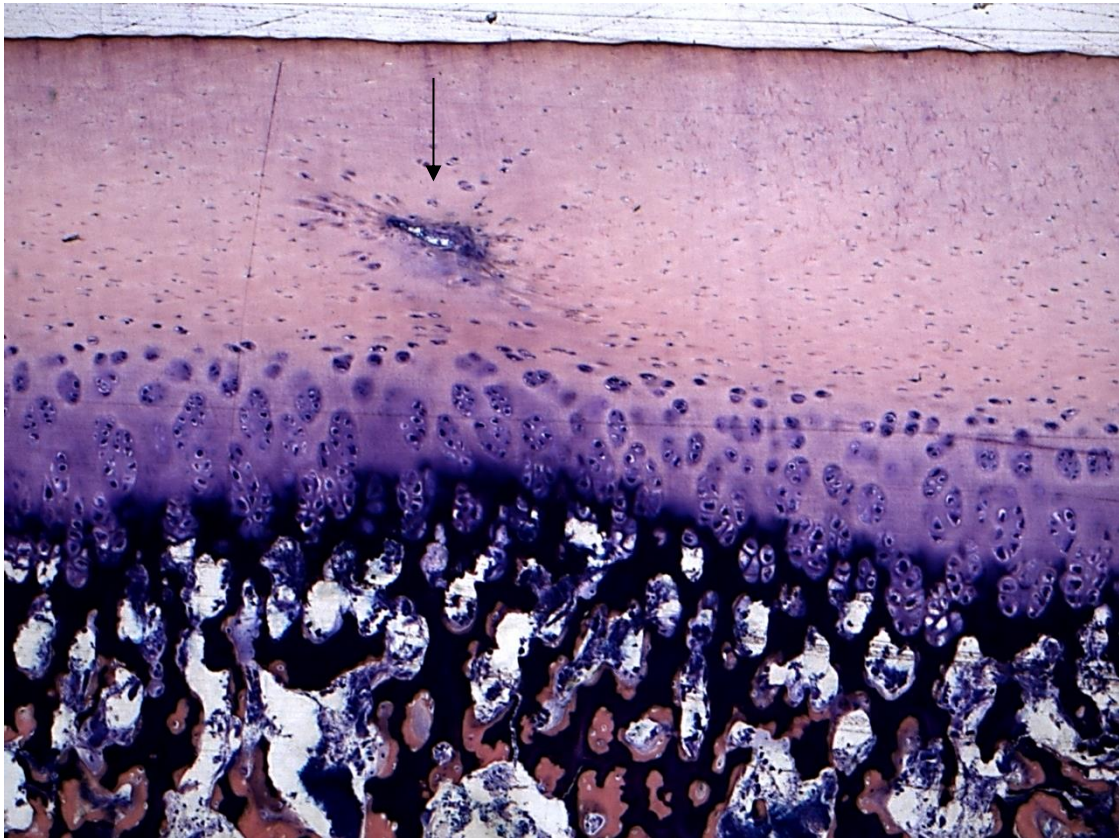


Abbildung 41: Histologisches Bild Nr. 2 eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil)



Abbildung 42: Histologisches Bild Nr. 3 eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil) und vermutlich zerstörtem Gefäß (*)

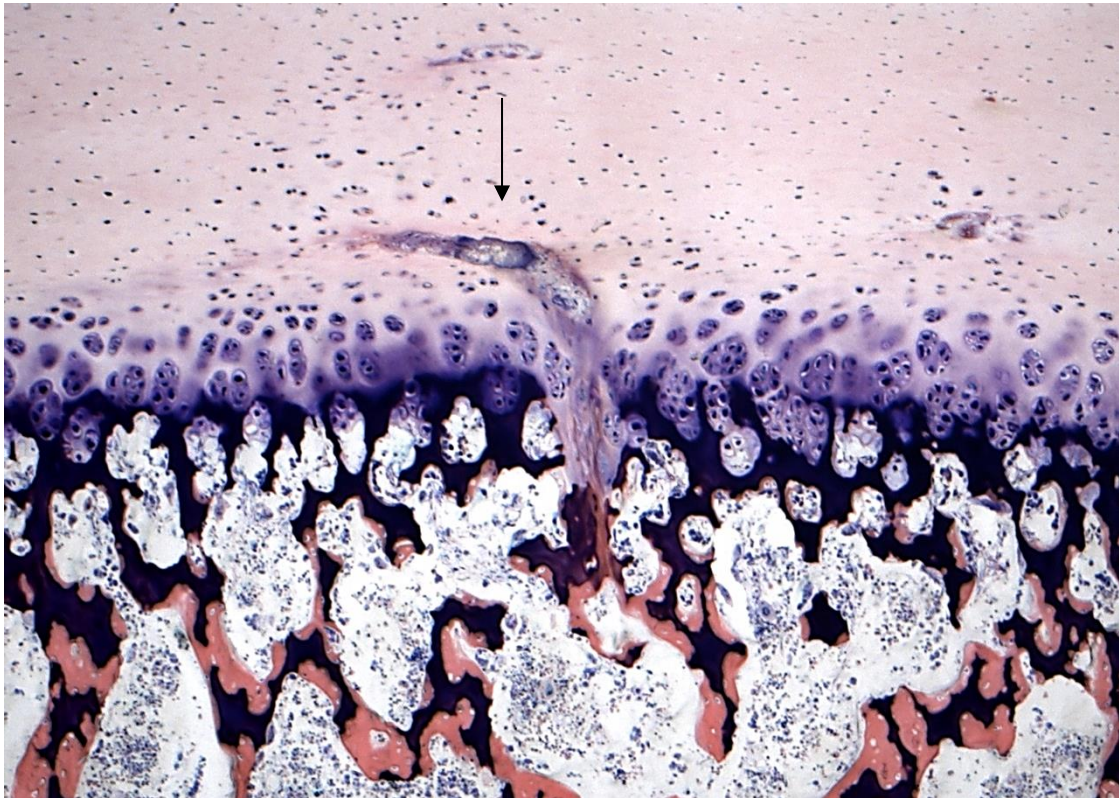


Abbildung 43: Histologisches Bild eines porcinen Gelenkknorpels mit Gefäßanschnitt (Pfeil)

3 Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Arbeit kritisch reflektiert und in den wissenschaftlichen Kontext eingeordnet. Zunächst erfolgt eine Diskussion der eigenen Ergebnisse (Kapitel 4.1), wobei unter anderem der Einfluss der unterschiedlichen Testmedien sowie der Vergleich verschiedener Laufzeiten analysiert werden. Anschließend werden die Limitationen und methodischen Einschränkungen der Studie thematisiert (Kapitel 4.2). Darauf aufbauend folgt ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit bereits publizierten Studien (Kapitel 4.3), um die Relevanz und Einordnung der gewonnenen Erkenntnisse zu verdeutlichen. Abschließend wird ein Ausblick auf zukünftige Forschungsansätze gegeben, insbesondere im Hinblick auf eine Testung neuer Biomaterialien im Reibepfstand (Kapitel 4.4).

4.1 Diskussion der eigenen Ergebnisse

Wie erwähnt, wurden die Ergebnisse der Versuchsanordnung *Knorpel gegen Knorpel in NaCl* aus einer anderen Arbeit entnommen, die ebenfalls in der Abteilung und Poliklinik für Sportorthopädie des Klinikum rechts der Isar durchgeführt wurde¹⁰. Sowohl Herkunft und Präparation der Schweineknie als auch die Entnahme und Installation der Knorpelzylinder in den Reibepfstand erfolgten nach exakt denselben Prinzipien. Auch der axiale Druck wurde gleich gewählt. Weil es dort in den Kurzzeitversuchen bis zu sechs Stunden zu keinen Schäden kam, wurden jeweils drei Knorpelzylinder zudem für 24, 48 und 72 Stunden getestet. Selbst bei einer Laufzeit von 72 Stunden ließ sich histologisch keinerlei Schaden quantifizieren.

4.1.1 Ausreißer

Bevor die Ergebnisse der Versuchsgruppen miteinander verglichen werden, sollen zunächst die Schadenswerte innerhalb einer Gruppe betrachtet werden. Jede Versuchsreihe wurde mit drei Proben durchgeführt. Demnach bestehen je drei Knorpelzylinder, die im Reibepfstand den gleichen Belastungen ausgesetzt wurden. Folglich sollte der Schaden dieser drei Zylinder ähnlich sein. Bei der Sichtung der Werte innerhalb einer Gruppe unterscheidet sich häufig ein Wert von den beiden anderen. Das

ist nicht weiter verwunderlich, wenn bedacht wird, dass jeder Knorpelzylinder von einem anderen Schwein entnommen wurde. Wie bei Menschen existieren auch bei Schweinen anatomische Normvarianten. So kann sich teilweise die Knorpeldicke der verschiedenen Präparate unterscheiden. Des Weiteren ist die Beurteilung des Knorpelschadens nach der Schadenstabelle nicht immer eindeutig möglich (vgl. Abschnitt *Limitationen und Einschränkungen*). Geringe Schadensunterschiede von einem Punktwert waren daher zu erwarten und sind nachvollziehbar. Zwei Versuchsreihen haben allerdings Abweichungen in ihren Schadenswerten von über einem Punktwert (vgl. *C-C Hyaluronsäure 6 h* und *C-CD Hyaluronsäure 6 h*). Nun stellt sich die Frage nach der Ursache dafür. Auffällig sind zwei Tatsachen:

1. Beide Gruppen wurden für sechs Stunden in Hyaluronsäure durchgeführt.
2. In den Proben mit den schlechteren Werten innerhalb der Gruppe (Probe 3 in *C-C Hyaluronsäure 6 h*; Proben 2 und 3 in *C-CD Hyaluronsäure 6 h*) zeigten sich jeweils Tidemarkschäden.

Inwiefern diese beiden Auffälligkeiten zu den schlechteren Werten verglichen mit den anderen Proben der Versuchsreihe beigetragen haben könnten, wird in den folgenden Abschnitten näher ausgeführt.

4.1.2 Vergleich der Testmedien

Es bietet sich an, sich zunächst die Ergebnisse der beiden Testmedien im Vergleich anzusehen (Hyaluronsäure *versus* NaCl). Dabei werden die Laufzeiten vorerst außer Acht gelassen und lediglich die Gesamtwerte der einzelnen Gruppen betrachtet.

Vergleich der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpel

Ein Blick auf die Ergebnisse der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpel* in Hyaluronsäure und NaCl zeigt, dass die Tests in Hyaluronsäure geringfügig schlechter abschneiden (vgl. Tabelle 22). Mit einem Gesamtwert von 1,08 liegen sie über dem Wert von 0 in NaCl, der – wie vorhin erwähnt – aus einer anderen Arbeit bekannt ist¹⁰. Das ist in doppelter Hinsicht unerwartet. Es ist bemerkenswert, dass es in dem Test *Knorpel gegen Knorpel* überhaupt zu Schäden kam. Dass aber der Schaden zudem in der Hyaluronsäure-Gruppe auftrat und nicht bei der Verwendung von NaCl, ist noch erstaunlicher.

<i>Versuchsreihe</i>	<i>Gesamtschadenswert</i>
C-C Hyaluronsäure	1,08
C-C NaCl	0

Tabelle 22: Vergleich der Gesamtschadenswerte der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpel zwischen den beiden Testmedien Hyaluronsäure und NaCl

Wird allerdings nicht nur der Gesamtwert betrachtet, sondern auch die Einzelwerte der Proben, dann wird ersichtlich, weshalb es zu dem Ergebnis kam. Die dritte Probe der Gruppe *C-C Hyaluronsäure 6 h* ist einer der erwähnten *Ausreißer*. Mit einem Wert von 3 liegt er unterhalb der Werte der beiden anderen Proben dieser Gruppe und verschlechtert den Gesamtwert. Ohne diesen Wert verbessert sich der Gesamtwert der Gruppe *Knorpel gegen Knorpel* auf 0,6 und relativiert das schlechtere Abschneiden der Versuche in Hyaluronsäure gegenüber den Versuchen in NaCl. Zur Erinnerung sei erwähnt, ein Schadenswert von 1 bedeutet, dass es zu einem Schaden innerhalb der Tangentialfaserzone kam. Histologisch ist allerdings kaum abzugrenzen, ob die Tangentialfaserzone komplett intakt ist oder nicht. Es lässt sich höchstens eine leichte Auffaserung der Oberfläche erkennen (vgl. Abb. 44).

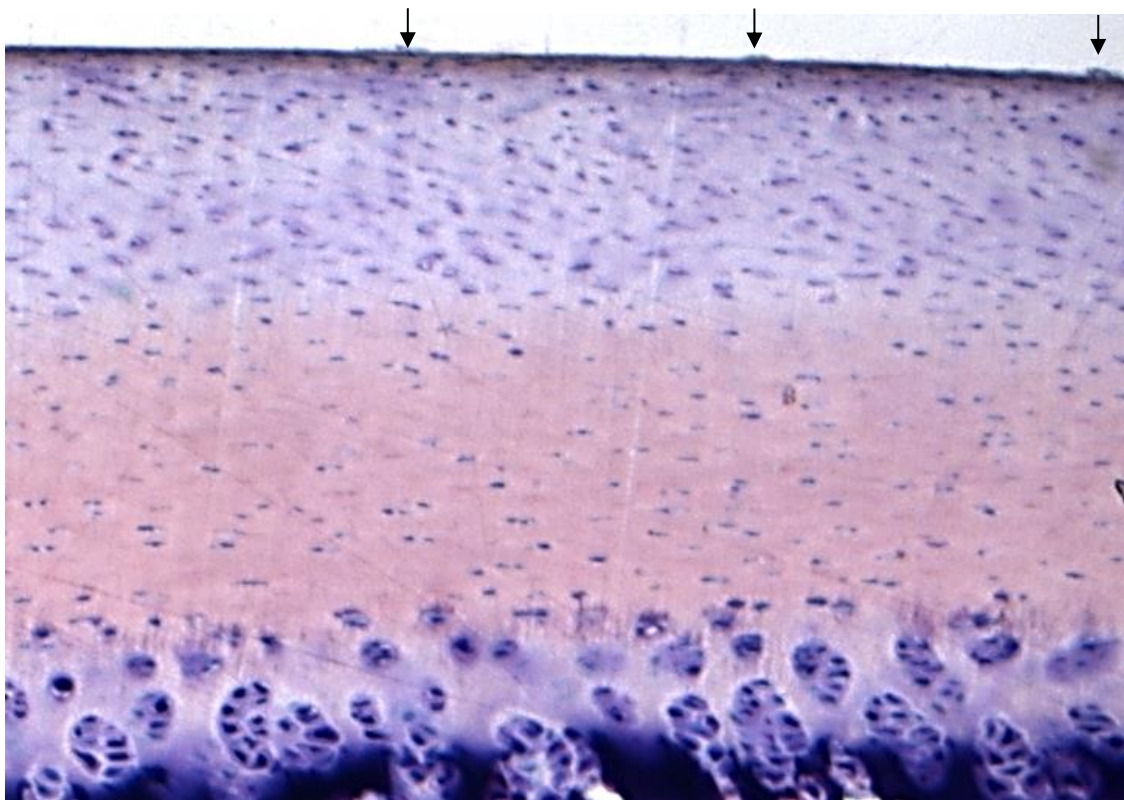


Abbildung 44: Auffaserung der Knorpeloberfläche im Sinne eines Schadens Grad 1 der Schadenstabelle

Somit ist die Bedeutung des Unterschieds zwischen dem Wert 0 (für NaCl) und 0,6 (für Hyaluronsäure) gering. Eine mögliche Ursache für den schlechteren Wert der Probe 3 wird im Abschnitt *Tidemarschäden* diskutiert.

Vergleich der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpeldefekt

Auch in der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt* fallen beim Vergleich der Ergebnisse von NaCl mit Hyaluronsäure keine Unterschiede auf, wenn lediglich die Gesamtwerte miteinander verglichen werden. Es liegt in beiden Fällen ein Wert von 2,58 vor (vgl. Tabelle 23).

<i>Versuchsreihe</i>	<i>Gesamtschadenswert</i>
C-CD Hyaluronsäure	2,58
C-CD NaCl	2,58

Tabelle 23: Vergleich der Gesamtschadenswerte der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpeldefekt zwischen den beiden Testmedien Hyaluronsäure und NaCl

Das erweckt den Eindruck, dass die Testmedien nicht nur bei den Versuchen *Knorpel gegen Knorpel*, sondern auch bei den Versuchsreihen *Knorpel gegen Knorpeldefekt* keinen Unterschied zeigten. Dieser Eindruck ändert sich allerdings schlagartig, wenn man die Ergebnisse zusätzlich nach den Laufzeiten unterteilt betrachtet.

4.1.3 Vergleich der Laufzeiten

Beim Vergleich der Ergebnisse der unterschiedlichen Laufzeiten miteinander fällt ein Aspekt umgehend auf. Während die Testdauern bei den in NaCl durchgeführten Untersuchungen anscheinend keinen Einfluss auf den Schaden haben, sieht das für die Versuche in Hyaluronsäure anders aus. Hier existieren zum Teil deutliche Unterschiede zwischen den Werten. Die alleinige Beachtung des Gesamtwertes für die Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt*, die bei beiden Testmedien einen Wert von 2,58 zeigt, ist daher irreführend. Bei separater Betrachtung der Laufzeiten wird ersichtlich, dass einem Schadenswert von 1,5 in der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt in Hyaluronsäure* im einstündigen Test ein Wert von 3,67 gegenübersteht, wenn dieser Test auf sechs Stunden ausgedehnt wird (vgl. Tabelle 24). In keiner der drei Versuchsreihen, die in NaCl durchgeführt wurden, lässt sich ein derartiger Sprung finden.

<i>Versuchsreihe</i>			<i>Schadenswert</i>	<i>vs.</i>	<i>Versuchsreihe</i>		<i>Schadenswert</i>
C-CD	Hyaluronsäure	1,5			C-CD NaCl 1 h	2,5	
1 h							
C-CD	Hyaluronsäure	3,67			C-CD NaCl 6 h	2,67	
6 h							

Tabelle 24: Vergleich der Versuchsreihe Knorpel gegen Knorpeldefekt nach Laufzeit und Testmedium

Dass der Schaden bei längeren Laufzeiten zunimmt, war zu erwarten. Der Knorpel ist der Belastung im Reibepfandstand einer längeren Zeit ausgesetzt, was naturgemäß zu einem stärkeren Verschleiß führen kann. Jedoch kann auch eine Zunahme des Reibungskoeffizienten mit steigender Versuchsdauer von Bedeutung gewesen sein. Forster und Fisher haben 1996 eine Arbeit veröffentlicht, in der sie den Einfluss der Belastungszeit auf den Reibungskoeffizienten von hyalinem Gelenkknorpel untersucht haben⁸⁴. Hierzu wurden Knorpel-Knochen-Zylinder aus Femurkondylen von Rindern entnommen, und der Reibungskoeffizient wurde nach unterschiedlich langer statischer Belastung gemessen. Wie in Abbildung 45 zu sehen, steigt der Reibungskoeffizient sowohl für die Tests in NaCl als auch für die Tests in Synovialflüssigkeit mit zunehmender Belastungsdauer an.

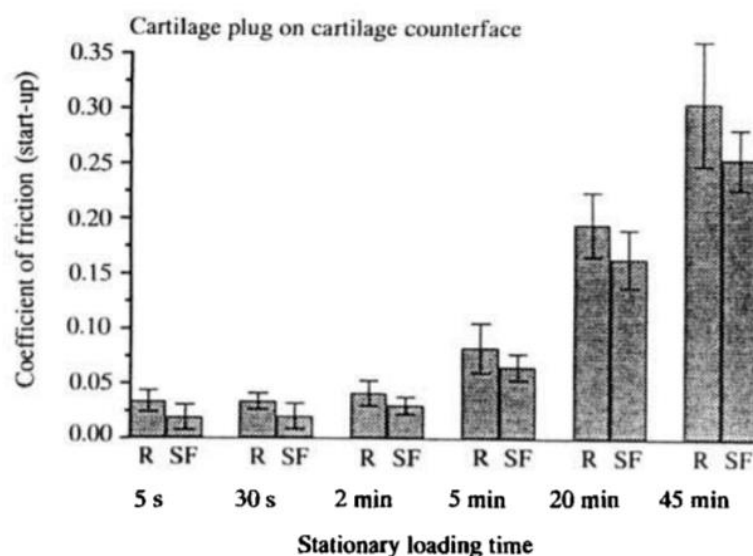


Abbildung 45: Reibungskoeffizienten für Knorpel gegen Knorpel gemessen nach 5 s, 30 s, 2 min, 5 min, 20 min und 45 min nach statischer Belastung in NaCl (R) und Synovialflüssigkeit (SF) (aus Forster et al., 1996)⁸⁴

Dieser Umstand kann eine weitere Ursache für die stärkeren Knorpelschäden bei längeren Laufzeiten sein. Interessanterweise reduzierte Synovialflüssigkeit verglichen mit NaCl in der Arbeit von Forster und Fisher den Reibungskoeffizienten für alle Belastungszeiten. Das war jedoch nur bei den Tests Knorpel gegen Knorpel der Fall. Kein Unterschied zeigte sich hingegen bei den Versuchen Knorpel gegen Metall, ein Befund, der im Gegensatz zu dieser Arbeit steht, bei der die Schäden bei den Versuchen in Hyaluronsäure höher waren als in Kochsalzlösung. Allerdings wurde bei Forster und Fisher natürliche Synovialflüssigkeit (aus den Sprunggelenken von Rindern gewonnen) verwendet, während in dieser Arbeit auf Hyaluronsäure (Synvisc, Sanofi, Paris, Frankreich) zurückgegriffen wurde. Wieso es bei der Verwendung von Hyaluronsäure verglichen mit NaCl bei den sechsstündigen Versuchen zu einer solchen Zunahme der Knorpelschädigung kam, während die Schäden bei den einstündigen Versuchen im Vergleich milder ausfielen, lässt sich allein durch diese Arbeit nicht klären. Es zeigte sich zwar auch in der Arbeit von Diermeier et al.¹⁰ bei *einem* Knorpel-Knochen-Zylinder in Hyaluronsäure ein stärkerer Knorpelschaden verglichen mit den Versuchen in NaCl. Dies wurde jedoch auf das jüngere Alter des Versuchstiers zurückgeführt.

4.1.4 Vergleich der Gruppen in NaCl

Auch der direkte Vergleich einzelner Gruppen untereinander legt weitere interessante Ergebnisse offen. Tabelle 25 gibt eine Übersicht über die Gesamtschadenswerte der in NaCl durchgeführten Versuchsreihen.

<i>Versuchsreihe</i>	<i>Gesamtschadenswert</i>
C-C NaCl	0
C-B NaCl	3,5
C-CD NaCl	2,58
C-CD CF NaCl	2,58

Tabelle 25: Vergleich der Gesamtschadenswerte der Versuchsreihen in NaCl

Der Gesamtschadenswert der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpel in NaCl* stammt dabei, wie erwähnt, aus einer anderen Arbeit¹⁰. Da sich dort bis zu einer Laufzeit von 72 Stunden keine Knorpelschäden zeigten, kann folglich davon ausgegangen werden, dass diese ebenfalls weder bei einer noch bei sechs Stunden vorhanden waren. Ein

unbeschädigter Knorpel scheint demnach den im Versuch applizierten axialen Druck standhalten zu können, ohne dabei Schaden zu nehmen. Wird hingegen die Knorpelschicht eines der Reibepartner (Versuch *Knorpel auf Knochen in NaCl*) entfernt, dann kommt es bereits nach einer Stunde zu deutlichen Knorpelschäden des korrespondierenden Knorpels, die teilweise bis in die Radiärzone reichen. Das war zu erwarten, wenn die Oberflächenbeschaffenheit des Knochens mit der des Knorpels verglichen wird. Dass eine Verlängerung der Laufzeit auf sechs Stunden keinen weiteren Schaden bewirkt, ist eher erstaunlich.

Interessanter sind aber die Ergebnisse der Gruppen, bei denen ein Knorpeldefekt gesetzt wurde. Vermutet wurde, dass ein Knorpeldefekt eine leichte Schädigung am Knorpel des Reibepartners zur Folge haben würde. Bei den Ergebnissen des Versuchs *Knorpel gegen Knorpeldefekt in NaCl* wird allerdings deutlich, dass der verursachte Schaden sogar ausgeprägter als erwartet ist. Mit einem Gesamtschadenswert von 2,58 liegt der Knorpelschaden zwar um beinahe einen ganzen Punktwert niedriger als in der Gruppe *Knorpel gegen Knochen* (Wert 3,5), aber selbst ein fokaler Knorpelschaden war folglich bereits ausreichend, teilweise bis zu 50 % des gegenüberliegenden Knorpels zu zerstören. Diese Knorpelschädigung wird bereits umfassende Auswirkungen auf die Integrität des verbleibenden Knorpelgewebes haben. Mehrere Studien haben gezeigt, dass es im Bereich des Defektrands zu einer signifikanten Zunahme der Zug- und Druckbelastung kommen kann, woraus wiederum weitere Gewebeschäden folgen können^{7,83,85-89}. Verschiedene Studien legen zudem nahe, dass fokale Knorpeldefekte sogar das Risiko für die Entwicklung einer Arthrose erhöhen⁹⁰⁻⁹³.

Der Autor dieser Arbeit geht davon aus, dass in den durchgeführten Tests die Kante am Rand des Knorpelschadens zur Schädigung des gegenüberliegenden Knorpels geführt hat. Ein Knorpeldefekt scheint sich nämlich nicht nur negativ auf die biomechanischen Eigenschaften des umgebenden Knorpels auszuwirken, sondern erhöht auch die Belastung und Verformung des gegenüberliegenden Knorpels^{85,86}. Zudem scheint auch die Morphologie des Knorpeldefekts von Relevanz zu sein. So konnten Yanke et al.⁹⁴ zeigen, dass Defekte mit einer sehr vertikalen Defektkante (wie in dieser Arbeit) eine stärkere Verformung des gegenüberliegenden Knorpels verursachen als Knorpeldefekte mit einer eher abgeschrägten Defektkante. Auch der Knorpelschaden von Patienten beinhaltet gerade bei den traumatischen Schäden häufig vergleichbare Kanteneffekte. Durch die Ablösung von Knorpelflakes entsteht ein scharfer Übergang zwischen intaktem und fehlendem Knorpel. Dieser Bereich trifft dann auf den Gelenkpartner. Daher ist diese

Kantenbelastung ein realistisches klinisches Szenario. Dieses gilt weniger für die degenerativen Schäden.

Eine entscheidende Fragestellung der Arbeit war zudem zu klären, ob sich durch Biomaterialien (in diesem Fall ChondroFiller) der gegenüberliegende Knorpel schützen lässt. Die Idee dahinter war folgende: Durch das Ausfüllen des Knorpeldefektes mit dem Biomaterial sollten die Kanten am Rand des Defektes beseitigt werden. Gleichzeitig sollte sich die Kongruenz der Reibepartner wieder verbessern und dadurch optimalerweise die Schädigung des gegenüberliegenden Knorpels verringern (vgl. Abb. 46).

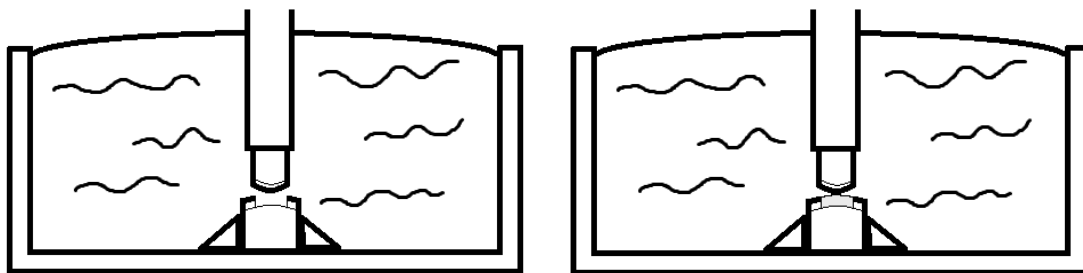


Abbildung 46: Schema von Knorpelzylinder im Reibepfandstand ohne (li.) und mit (re.) ChondroFiller

Bisher existieren nur vereinzelte Arbeiten zu den ChondroFiller-Produkten. Erste Studien zeigen für das ChondroFiller^{liquid} aber bereits positive Resultate. In einer retrospektiven Studie von Breil-Wirth et al. von 2016 gaben die Patienten einen durchschnittlichen IKDC-Score von 75 nach ca. sieben Monaten nach Behandlung eines fokalen Knorpeldefektes mit ChondroFiller^{liquid} an⁹⁵. Die Arbeit von Schneider legt ähnliche Ergebnisse dar⁹⁶. Auch hier haben sich nach zwölf Monaten IKDC-Scores von durchschnittlich 72,1 gezeigt (präoperativ 43,3). Zudem wurde mittels Magnetresonanztomographie (MRT) nach vier Wochen und zwölf Monaten die Integrität des eingebrachten ChondroFiller^{liquid} beurteilt und der MOCART-Score bestimmt. Hierbei zeigten sich nach zwölf Monaten gute Werte von durchschnittlich 81,6 bei optisch stets gedecktem Knorpeldefekt. Zum Vergleich liegen MOCART-Scores von 75 für Mikrofrakturierung und 75,5 für MACT aus einer Arbeit von Welsch et al. vor⁹⁷.

Sowohl gute radiologische als auch gute klinische Ergebnisse veranschaulichte eine prospektive Studie von Mazek et al. 2021⁹⁸. Hierzu wurden 26 Patienten mit femoroazetabulärem Impingement und begleitenden Knorpelschäden im Rahmen einer Hüftarthroskopie mit ChondroFiller behandelt. Die postoperative MRT-Bildgebung zeigte eine signifikante Verbesserung der Knorpelheilung, und 17 von 21 Patienten wiesen bei einer Nachbeobachtungszeit von zwölf bis sechzig Monaten gute bis

exzellente klinische Ergebnisse auf. Patienten mit vorbestehender Osteoarthritis (Tönnis 2–3) erzielten jedoch schlechtere Resultate. Klinisch liegen bisher demnach gute Ergebnisse für das ChondroFiller^{liquid} vor.

In der vorliegenden *In-vitro*-Studie hat das getestete Biomaterial jedoch nicht den gewünschten Effekt gehabt und konnte den Schaden am gegenüberliegenden Knorpel nicht mindern. Ob mit oder ohne ChondroFiller, der Schaden lag bei beiden Versuchsreihen bei einem Wert von 2,58. Es stellt sich die Frage, welche Gründe es dafür geben könnte, dass trotz Verwendung des Biomaterials im Versuch der Knorpelschaden nicht gemindert wird.

Die plausibelste Erklärung für die fehlende Minderung des Knorpelschadens am korrespondierenden Gelenkpartner durch das ChondroFiller in dieser Arbeit ist, dass es seine Wirkung nicht auf Dauer entfalten konnte. Vermutlich hat die Primärstabilität des Biomaterials nicht ausgereicht, der Dauerbelastung im Reibepfandstand zu widerstehen. Durch den axialen Druck und die Reibung scheint das Biomaterial bereits nach einigen Durchgängen zerstört worden zu sein. Als Folge reibt der Knorpeldefekt wieder gegen den gegenüberliegenden Knorpel und schädigt diesen, ähnlich wie bei den Versuchsreihen ohne Verwendung des ChondroFiller.

Es ist zu prüfen, ob der gewählte axiale Druck zu hoch gewesen ist. Wie erwähnt, wurde dieser aufgrund von Berechnungen anhand des Gewichts der Schweine in der Pilotstudie bewusst auf 33 Newton eingestellt. Dies entspricht einer Belastung, der ein Kniegelenk bei einem Schwein im Stand ausgesetzt ist. Umgerechnet sind das in etwa 0,42 MPa. Prinzipiell ist diese Belastung als eher gering zu werten. In einem Tiermodell von Spahn et al. kam es erst bei Werten von > 5 MPa zu dauerhaften Verformungen des hyalinen Knorpels und ab ca. 26 MPa zu einem Bruch desselben⁹⁹. Bis 5 MPa zeigten sich lediglich elastische, reversible Verformungen des Knorpels. Allerdings ist das Biomaterial im Klinikalltag postoperativ einer Vollbelastung meist noch nicht ausgesetzt. Nachbehandlungsschemata sehen nicht umsonst häufig zunächst eine sechswöchige Teil- oder Entlastungsphase vor. In dieser Zeit soll dem Implantat die Möglichkeit gegeben werden, einzuwachsen und sich neu zu formieren. Es wäre deshalb vermutlich zielführender gewesen, die Höhe des axialen Drucks neu zu berechnen und der Teilbelastung anzupassen. Allerdings war die gewählte Belastung für die Versuchsreihen ohne ChondroFiller, das heißt für *Knorpel gegen Knorpel* und *Knorpel gegen Knorpelschaden*, angebracht. In diesen Szenarien ist keine Reduktion des axialen Drucks notwendig, denn hier herrschen *in vivo* beim Gehen, Laufen oder sogar Springen höhere

Belastungen. Genau dies war das Problem. Ein niedrigerer Druck wäre lediglich für die Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt mit CF* angebracht gewesen, was aber Vergleiche zwischen den einzelnen Versuchsanordnungen verunmöglicht hätte. Nichtsdestotrotz sollte für zukünftige Untersuchungen ein niedrigerer axialer Druck gewählt werden, damit das Biomaterial nicht sofort zerstört wird. Mit einer Kraft, die in etwa der postoperativ einwirkenden entspricht, könnte gestartet werden. Dieser sollte das Biomaterial auf jeden Fall standhalten. Ansonsten würde es auch bei klinischer Anwendung bereits nach kurzer Zeit zerstört werden. Da aber bei einer solch niedrigen Belastung auch Knorpelschäden vermutlich keinen umfassenden Schaden verursachen würden, müsste stattdessen die Laufzeit des Reibversuchs erhöht werden. Ansonsten beständen für die Versuchsreihen mit dem ChondroFiller keine Vergleichsmöglichkeiten. Erst wenn bei der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpelschaden* der gegenüberliegende Knorpel geschädigt wird, kann durch das Biomaterial ein möglicher positiver Einfluss nachgewiesen werden. Sobald demnach in Vorversuchen die Kraft und Dauer so gewählt wurde, dass der Knorpeldefekt Schaden verursacht, das Biomaterial dem Druck allerdings standhalten kann, kann mit der Versuchsreihe in größerer Probenzahl gestartet werden. Dadurch könnte in Zukunft vermieden werden, dass Knorpelschaden und Knorpelschaden mit ChondroFiller die gleichen Ergebnisse liefern, nur weil das Biomaterial bereits zu Beginn zerstört wird.

4.1.5 Tidemarkschäden

Bei den Schnitten zweier Knorpelzylinderpräparate waren horizontale Risse auf Höhe der Tidemark zu sehen, und bei zwei weiteren schien der Knorpel in diesem Areal komplett abgelöst. Als *Tidemark* wird die Verbindungszone von kalzifizierten zu nichtkalzifizierten Knorpel unmittelbar vor dem Übergang in den subchondralen Knochen bezeichnet, die ultrastrukturell einem Fibrillenband entspricht (vgl. Abb. 47)¹⁷. Histologisch erscheint sie als schmale, wellige, hämatoxylinphile Linie¹⁰⁰. Bedingt durch den plötzlichen Wechsel der mechanischen Gewebeeigenschaften herrschen in der Übergangszone zwischen Knorpel und Knochen bei Gelenkbelastung häufig hohe Scherkräfte³¹, und es hat sich gezeigt, dass diese Zone am anfälligsten gegenüber mechanischem Stress ist¹⁰¹.

Die Tidemark stellt deshalb eine Art Anbindungsmechanismus dar. Sie soll verhindern, dass die Kollagenfibrillen in der nichtkalzifizierten Zone aus ihrer Verankerung in der kalzifizierten Zone gerissen werden¹⁷.

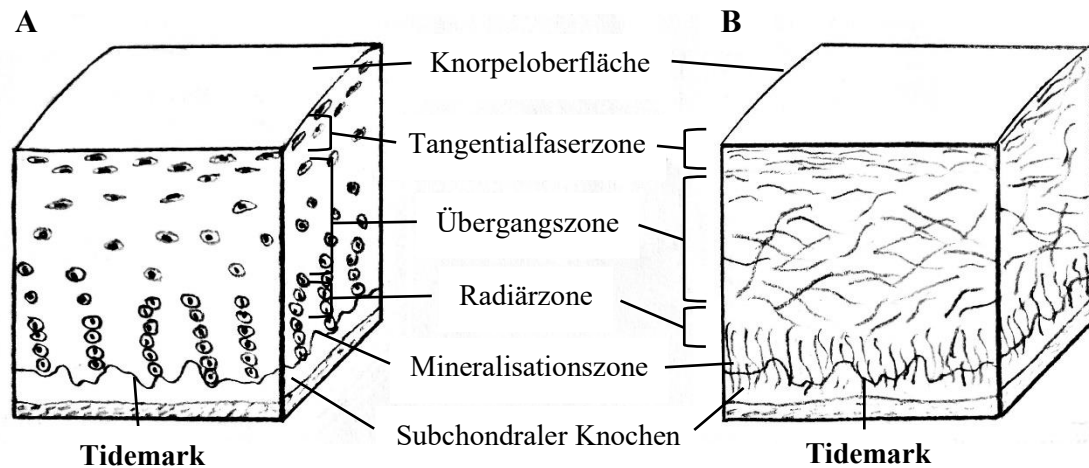


Abbildung 47: Schemazeichnung der zonalen Gliederung von Gelenkknorpel mit sichtbare Tidemark: A. Strukturelle Organisation der Chondrozyten; B. Strukturelle Organisation der Kollagenfasern. (nach Buckwalter et al., 1994)³²

Die wesentliche Frage ist, wie es in den vorliegenden Präparaten zu den Tidemarkschäden kam. Das lässt sich nicht eindeutig beantworten. Prinzipiell bestehen aber zwei Möglichkeiten: Entweder die Schäden waren vor der Schlachtung im Schweineknie vorhanden oder die Tidemarkschäden entstanden erst danach bei der Präparation der Knie oder den Reibeversuchen.

Zunächst soll die Möglichkeit betrachtet werden, dass die Schäden vor Schlachtung vorlagen. Tatsächlich existiert eine Studie über syrische Goldhamster, in der Knorpelrisse auf Höhe der Tidemark entdeckt wurden¹⁰². Allerdings waren dort nur ältere Hamster betroffen, wohingegen in dieser Studie junge Schweine untersucht wurden. Landells hat sich in einer Arbeit von 1957 die Veränderungen im menschlichen Gelenkknorpel nach einem mechanischen Trauma angesehen¹⁰³. Dazu untersuchte er den Knorpel drei Tage bis zehn Jahre nach Trauma histologisch und bemerkte, dass beinahe alle transversalen Knorpelfrakturen im Bereich der Tidemark verliefen.

Auch bei Guinea-Schweinen¹⁰⁴, Ratten¹⁰⁵ und Mäusen¹⁰⁶ wurden bereits Knorpelrisse auf Höhe der Tidemark beschrieben. Vor allem exzessiver tangentialer Stress kann demnach die Kollagenfasern in der Tidemarkzone schädigen, was sekundär zu fokalen

Knorpelschäden führen kann. Auch wenn die Tidemarkschäden in diesen Arbeiten meist bei Tieren mit Arthrose gefunden wurden, ist es dennoch vorstellbar, dass die Tidemarkschäden vor Schlachtung vorhanden waren.

Die andere Möglichkeit wäre allerdings, dass es erst bei bzw. durch die Entnahme der Knochen-Knorpel-Zylinder zu den Schäden in der Tidemark kam. Wie erwähnt, wurden die Zylinder mithilfe des OATS-Systems gewonnen. Nach Einschlagen des Spenderhohlmeißels muss der Zylinder an der Basis vom restlichen Knochengewebe abgesetzt werden. Dies geschieht durch eine schnelle Rotationsbewegung. Es ist vorstellbar, dass diese ruckartige Bewegung an dem ohnehin mechanisch empfindlichen Übergang zwischen Knochen- und Knorpelgewebe zu einer Scherbelastung führt und auf diese Weise Schädigungen verursacht. Verstärkt werden könnte dies durch die unterschiedliche Wandbeschaffenheit von Knochen und Knorpel. Aufgrund seiner Struktur und Oberflächenbeschaffenheit weist Knochen eine höhere Reibung auf als Knorpel. Durch diese erhöhte Reibung zwischen Knochen und Spenderhohlmeißel verglichen mit der Reibung zwischen Knorpel und Hohlmeißel könnte sich der knöcherne Anteil des Knochen-Knorpel-Zylinders eventuell schneller mit dem Hohlmeißel mitdrehen als der knorpelige Anteil. Die Suche im Internet hinsichtlich Literatur zu Schädigungen des Zylinders während dessen Entnahme liefert allerdings keine Treffer. Bislang bleibt dieser Ansatz lediglich eine These, der in weiteren Versuchen nachgegangen werden müsste.

Auch vorstellbar ist, dass die Schäden während des Reibversuchs entstanden sind. Dass es hierbei zu Scherbelastungen am Knorpel-Knochen-Übergang kommen kann, ist verständlich. Interessant ist allerdings die Frage der Ursache-Wirkungs-Beziehung, der Kausalität, insbesondere in Hinblick auf die Tidemarkschäden in den sechsstündigen Versuchsreihen *Knorpel gegen Knorpel in Hyaluronsäure* und *Knorpel gegen Knorpelschaden in Hyaluronsäure*, in der sich auch die erwähnten *Ausreißer* befinden. Hierbei bestehen zwei Möglichkeiten. Es kann sein, dass die Tidemarkschäden in diesen Präparaten erst während des Reibversuchs entstanden sind. Es ist jedoch auch möglich, dass die Tidemarkschäden bereits vorhanden waren und die Schädigungen des Knorpels während der Tests bedingt haben. Angenommen, letzteres trifft zu, dann hätten die Tidemarkschäden im Vorfeld durch die Störung der Knorpelarchitektur die Stabilität des Knorpels herabgesetzt. Das würde erklären, wieso es insbesondere bei den Proben 2 und 3 der Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpelschaden in Hyaluronsäure 6 h* zu einer so

massiven Schädigung des Knorpels kam, insbesondere im Gegensatz zu Probe 1 dieser Gruppe, die einen milderen Knorpelschaden aufweist.

4.2 Limitationen und Einschränkungen

4.2.1 Geringe Probenzahlen und fehlende Statistik

Als zentrale Limitation dieser Arbeit ist die geringe Probenzahl pro Gruppe zu nennen. Zwar wurden insgesamt 30 Knochen-Knorpel-Zylinder am Reibepfand stand getestet und von jedem dieser Zylinder zwei Schnitte angefertigt, sodass letztendlich 60 Präparate mikroskopisch beurteilt wurden. Durch die hohe Anzahl verschiedener Versuchsgruppen blieben jedoch pro Gruppe nur drei Zylinder übrig ($n = 3$). Für statistische Tests ist diese Zahl zu niedrig, da für signifikante Ergebnisse mehr Proben benötigt werden. Deshalb können die Ergebnisse dieser Arbeit lediglich als ein Wegweiser verstanden werden, die zeigen, welche der Versuchsreihen am ehesten relevante Ergebnisse verspricht. Diese Arbeit liefert Ideen für zahlreiche Fragestellungen, die in Zukunft untersucht werden könnten. Dazu empfiehlt es sich, sich auf eine Fragestellung zu beschränken und eine höhere Probenzahl anzustreben. Das würde statistische Tests ermöglichen und zu signifikanten Ergebnissen führen.

4.2.2 Vergleichbarkeit von humanem und porcinen Knorpel

Zu bedenken ist zudem, dass die Versuche am Reibepfand stand mit porcinen Knorpel durchgeführt wurden. Hierbei stellt sich die Frage, ob porciner Knorpel mit humanem hinsichtlich der Anatomie und seines biomechanischen Verhaltens miteinander vergleichbar ist. Eine Arbeit, die sich mit dem Vergleich von humanem und porcinen Knorpel beschäftigt hat, veröffentlichten 2009 Ahern et al.¹⁰⁷. Es zeigte sich unter anderem, dass die Knorpeldicke mit ca. 2 mm am medialen Femurkondylus bei beiden ähnlich ist. Zum gleichen Ergebnis kamen Ronken et al., die beim Menschen und beim Schwein die Knorpeldicke unter anderem am lateralen Femurkondylus untersucht und Werte von ca. 1–3 mm gemessen haben¹⁰⁸. Auch verschiedene Tests zur Steifigkeit der beiden Knorpelgewebe ergaben keine großen Unterschiede. Zudem scheinen auch der Wassergehalt und die zelluläre Anordnung des porcinen Knorpelgewebes mit dem menschlichen vergleichbar zu sein, auch wenn insbesondere bei jüngeren Schweinen die

Zelldichte etwas höher und die zonale Architektur nicht in dem Maße ausgereift ist wie beim Menschen¹⁰⁹. Nichtsdestotrotz scheinen Knorpel-Knochen-Zylinder von Schweinen eine gute Alternative zu denen von Menschen zu sein.

4.2.3 Knorpel-Knochen-Zylinder als Testmaterial

Ein weiterer Punkt, der erwähnt werden muss, ist, dass nicht nur eine andere Spezies getestet wurde, sondern auch nur Knochen-Knorpel-Zylinder und kein ganzes Gelenk samt seiner speziellen Biomechanik. Die gesamte Führungsfunktion des Bandapparats und der Muskeln wurde im Reibprüfstand vom Metallschlitten und den Metallbacken übernommen. Die Folge davon ist, dass sich der auf die Zylinder einwirkende Druck kaum ändert, im Gegensatz zum physiologischen Fall, wo er intermittierend durch die Flexion des Kniegelenks und der Schwungphase des Beins abnimmt. Es kann demnach davon ausgegangen werden, dass die Druckverteilung auf den Zylindern anders ist als in einem echten Kniegelenk, bei dem der Druck beim normalen Gang abwechselnd von null auf einen Spitzenwert ansteigt und wieder auf null abfällt³¹.

Noch wesentlicher ist jedoch ein anderer Punkt. Knorpelgewebe besitzt eine ausgetüftelte Biomechanik. Nur intakter Knorpel kann seine Funktionen uneingeschränkt erfüllen. Wie anfangs erwähnt, verhält sich Knorpelgewebe biomechanisch wie ein gekammertes Wasserkissen³⁴. Das dichte Netzwerk aus Kollagenfasern hält zusammen mit den Proteoglykanaggregaten den hydrostatischen Druck aufrecht. Dies geschieht zwar in erster Linie vor allem durch einen hohen osmotischen Druck, aber teilweise auch mechanisch. Es ist gut vorstellbar, dass aus einem kleinen Knochen-Knorpel-Zylinder leichter das Wasser herausgepresst werden kann als aus einer kompletten Gelenkoberfläche, da die seitliche Barriere fehlt. Sowohl die beiden Knochen der Gelenkpartner als auch der Knorpel neben dem Knorpel der Belastungszone verhindern im Normalfall einen starken Flüssigkeitsverlust^{19,31}. Allerdings zeigte die Gruppe *Knorpel gegen Knorpel*, die als Kontrollgruppe verstanden werden kann, keine Schäden. Die Biomechanik scheint demnach nicht in einem derartigen Ausmaß gestört zu sein, dass es selbst bei intakter Knorpeloberfläche zu Schäden kommt.

4.2.4 Dauerbelastung des Knorpels

Ein letzter Punkt soll noch erwähnt werden. Unter normalen Umständen wirkt auf einen Knorpel keine durchgehende Belastung. Abschnitte, in denen es zu Spitzenbelastungen kommen kann, wechseln sich mit Ruhephasen ab. Selbst der Knorpel von Spitzensportlern ist keinen dauerhaften Höchstbelastungen ausgesetzt. Ruhephasen sind relevant, da in dieser Zeit der Knorpel rehydrieren kann, ähnlich einem Schwamm, der zusammengepresst wurde, sich anschließend wieder ausdehnt und dabei Flüssigkeit aufsaugt. Dieser Vorgang ist zentral für den Knorpel und vor allen Dingen speziell für die Knorpelzellen, da mit der einströmenden Gelenkflüssigkeit auch Nährstoffe mit ins Gewebe transportiert werden²¹. Wie eingangs erwähnt, ist der Knorpel gefäßlos und von der Nährstoffzufuhr aus der Synovialflüssigkeit abhängig. Eine Dauerbelastung des Knorpelgewebes verhindert diesen Mechanismus und kann deshalb zum Absterben von Knorpelzellen führen und damit den Knorpel langfristig zerstören. Andererseits ist das auch der Grund, wieso Immobilität zu Arthrose führen kann. Auch hier fehlt der *Schwammmechanismus*, da das Knorpelgewebe nicht mehr belastet und somit nicht mehr komprimiert wird, woraus ebenfalls eine Mangelernährung der Zellen folgt. Eine ausgewogene Belastung und ein Wechsel von Belastungs- und Entlastungsphasen sind daher von Relevanz für einen gesunden Knorpel¹¹. Die Ernährung spielt für diesen Versuchsaufbau zwar weniger eine Rolle, da die Tests nur jeweils für eine oder sechs Stunden liefen. Aber auch wenn die Flüssigkeit (je nach Versuch NaCl oder Hyaluronsäure) in dieser Versuchsanordnung nicht aufgrund der Nährstoffe notwendig ist, so ist es doch vorstellbar, dass die herausgepresste Flüssigkeit zu einer verminderten mechanischen Belastbarkeit des Knorpels führen könnte. Dieser Umstand zeigte sich auch in der erwähnten Studie von Forster und Fisher. In dieser kam es nach der anfänglichen Zunahme des Reibungskoeffizienten unter längerer Belastung zu einer sofortigen Wiederabnahme des Reibungskoeffizienten, sobald dem Knorpel eine einminütige Pause zur Rehydrierung gewährt wurde⁸⁴.

4.3 Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien

Bei der Suche in der Literatur nach Ergebnissen anderer Studien fällt schnell auf, dass keine vergleichbaren Arbeiten zu dieser Thematik existieren. Einige Studien beschäftigen sich zwar ebenfalls mit Knorpelschäden und deren Einfluss auf den restlichen

Gelenkknorpel. Allerdings liegt das Augenmerk meist auf dem Knorpelgewebe, der unmittelbar den Defekt umgibt, und nicht wie in dieser Arbeit auf dem Knorpel des Gelenkpartners, folglich dem korrespondierenden Knorpel. Zudem werden meist biomechanische Parameter betrachtet und nicht der Schaden des Knorpels. In der Arbeit von Strauss et al. beispielsweise wurden in einem Pferdmodell (nach experimenteller Knorpeldefektdeckung) die biomechanischen und biochemischen Eigenschaften des angrenzenden Knorpels untersucht⁸. Ein weiteres Beispiel ist die Arbeit von Guettler et al., die mithilfe von humanen Kadaverknien den Einfluss der Defektgröße auf die biomechanischen Eigenschaften des umgebenden Knorpels untersucht haben⁷. Andere Studien nutzen auch die Finite-Elemente-Methode, um den Einfluss eines chondralen Defekts auf die restliche Biomechanik des Gelenks zu untersuchen¹¹⁰. Es existieren allerdings wenige Studien, die nicht nur den an den Defekt grenzenden Knorpel betrachten, sondern auch den gegenüberliegenden. Vor allem zwei Arbeiten aus dem *Department of Bioengineering* der University of California – San Diego sind hier zu erwähnen. In einer dieser Studien von Gratz et al.⁸⁹ wurden ebenfalls Knochen-Knorpel-Zylinder entnommen (bovin) und jeweils zwei als Testpartner in eine Testkammer installiert. Zunächst wurden zwei intakte Proben getestet. Anschließend wurde bei einem der Zylinder ein Knorpelschaden gesetzt und der Test wiederholt. Allerdings wurden die Proben keiner Reibung ausgesetzt. Stattdessen wurde die jeweilige Knorpeldeformation videomikroskopisch aufgezeichnet und ausgewertet. Ähnlich ist auch die zweite Arbeit aus dem Department aufgebaut¹¹¹. Auch hier wurden wiederum zwei Knochen-Knorpel-Zylinder (bovin) verwendet, die in einem Prüfstand gegeneinander getestet wurden, zunächst intakt, dann einmal mit Knorpelschaden. Gemessen wurden hierbei allerdings die Spannungen, die beim Gleiten der Testpartner unter Kompression erzeugt wurden, sowohl unmittelbar neben dem Defekt als auch am intakten Knorpelpräparat.

Allen bisher genannten Arbeiten ist gemein, dass sie vor allem biomechanische Parameter untersuchen. Ob und inwieweit eine Knorpelläsion auch den gegenüberliegenden Knorpel schädigen kann, wurde bisher nur in der Studie von Yan et al. untersucht¹¹². Hierzu wurden acht Minischweine in zwei Gruppen randomisiert und anschließend standardisierte, vollschichtige Knorpeldefekte an der medialen Femurkondyle erzeugt. Je nach Gruppe betrug der Durchmesser des Knorpeldefekts entweder 6,5 mm oder 8,5 mm. Nach einer Beobachtungszeit von zwölf Monaten wurden die Knie mittels MRT, makroskopischer Beurteilung, histologischer Färbung und immunhistochemischer Analyse geprüft. Es wurden signifikante Läsionen am Gegenknorpel gefunden, sodass

die Autoren zu dem Schluss kamen, dass vollflächige Knorpeldefekte den Gegenknorpel schädigen können. Die Wirkung von Biomaterialien wurde allerdings nicht untersucht. Es wird ersichtlich, dass zwar zahlreiche Studien existieren, die sich mit den Folgen fokaler Knorpelschäden auseinandersetzen. Die Parameter, die gemessen wurden, und die Methoden, wie diese erhoben wurden, unterscheiden sich jedoch teilweise umfassend voneinander. Ein Vergleich der Ergebnisse ist daher kaum möglich. Vor allem ob und inwiefern Knorpelschäden auch den gegenüberliegenden Knorpel schädigen, ist nur unzureichend untersucht.

4.4 Ausblick: Testung neuer Biomaterialien im Reibeprüfstand

4.4.1 Grundidee

Es wäre interessant zu wissen, inwiefern fokale Knorpeldefekte den gegenüberliegenden Knorpel schädigen können, auch für den Einsatz von Biomaterialien. Durch eine Standardisierung der Testung am Reibeprüfstand könnten valide Daten zu den durchschnittlichen Schadenswerten bei der Versuchsreihe *Knorpel auf Knorpeldefekt* gesammelt werden, wie in dieser Arbeit bereits mit geringer Probenzahl durchgeführt. Anhand dieser Werte könnten verschiedene Biomaterialien auf ihre Wirksamkeit hin überprüft und miteinander verglichen werden. Ob sie im Prüfstand den Schaden verringern könnten (bezogen auf den Schaden, den ein unbehandelter Knorpeldefekt hervorruft), hinge in erster Linie von ihrer Primärstabilität ab.

Sollte diese ausreichend hoch sein und das Biomaterial die Tests im Prüfstand unbeschadet überstehen, wäre das zweite relevante Merkmal seine Oberflächenbeschaffenheit. Je glatter die Oberfläche und je niedriger dadurch der Reibungskoeffizient wären, desto milder fiel vermutlich der Schaden am gegenüberliegenden Knorpel aus. Zudem könnte anschließend die einwirkende Kraft im Reibeprüfstand zunehmend gesteigert werden. Damit ließe sich eventuell für jedes Biomaterial ein eigener Belastungswert bestimmen, ab dem das Implantat versagt. Bereits vor dem klinischen Einsatz des Produkts könnten auf diese Art und Weise unterschiedliche Biomaterialien miteinander verglichen werden. Das wäre auch insofern von hohem medizinischen Interesse, als je nach ermitteltem Wert die postoperativ zulässige Belastung angepasst werden könnte. Ist dadurch im Nachbehandlungsschema

eine höhere Belastung möglich als zuvor gedacht, könnte das eventuelle Komorbiditäten verringern, zum Beispiel von Beinvenenthrombosen oder Pneumonien. Dies käme dem Wohl der Patienten zu gute. Es existieren zwar Tierversuche, die unter anderem die Stabilität verschiedener Biomaterialien vergleichen. Hierzu wurden diese nach Setzung eines künstlichen Knorpelschadens beispielsweise in Hasenknie^{113,114} oder in Schweineknie¹¹⁵ implantiert und nach Euthanasie der Tiere nach einigen Wochen untersucht. Allerdings werden hierbei stets nur die biomaterialtragenden Knochen-Knorpel-Zylinder histologisch aufgearbeitet, damit zu sehen ist, wie stark das Implantat bzw. dessen Architektur geschädigt ist. Der Einfluss der Biomaterialien auf den gegenüberliegenden Knorpel und dessen eventuelle Schäden bleiben dabei allerdings unbeachtet. Die beiden Überlegungen könnten verbunden werden, indem die Untersuchungen am Reibepfandstand erweitert werden. Anstatt nur den mobilen Knochen-Knorpel-Zylinder histologisch zu untersuchen, könnte auch hier die Untersuchung auf den fixierten Zylinder erweitert werden. So ließen sich Schäden sowohl am Reibepartner als auch am Biomaterial feststellen. Nach dem gleichen Schema ließe sich auch die Versuchsreihe *Knorpel gegen Knorpeldefekt* erweitern. Anstatt nur den Schaden am Gegenspieler zu messen, könnte auch hier der Zylinder mit Knorpeldefekt histologisch aufgearbeitet und anhand der Schadenstabelle eingeteilt werden. Bei der Herstellung von zuvor histologischen Präparaten von Knorpelzylindern mit Knorpelschäden, die keinen Tests im Reibepfandstand unterzogen wurden, ließe sich im Vergleich sehen, ob auch der künstlich gesetzte Knorpeldefekt im Reiberversuch an Größe zunimmt. Interessant wäre zudem zu wissen, ob es erst ab einer bestimmten Defektgröße zu Schäden am korrespondierenden Knorpel kommt. Dazu müssten die Reiberversuche mit unterschiedlich großen Knorpeldefekten durchgeführt werden. Zeigt es sich, dass Knorpeldefekte bis zu einer gewissen Größe auch bei langen Laufzeiten keine Schäden am korrespondierenden Knorpel verursachen, ließe sich für den klinischen Alltag eine Defektgröße festlegen, bis zu der der Knorpelschaden zunächst konservativ behandelt und weiter beobachtet werden könnte. Allerdings darf dabei nicht außer Acht gelassen werden, dass selbst kleine Knorpelschäden die Knorpelarchitektur massiv stören und so den Knorpelzustand weiter verschlechtern können^{7,8,18,116}.

4.4.2 Diskussion möglicher Einwände

Auf zwei mögliche Einwände soll bereits jetzt eingegangen werden. Es kann gesagt werden, dass Biomaterialien, ob mit oder ohne Zellen, erst im Körper, folglich nach Implantation ins Defektareal zu dem eigentlichen neuen Knorpelgewebe umgewandelt werden. Das neue Gewebe besitzt daher erst viele Monate nach Implantation die volle biomechanische Belastbarkeit. Das CaReS-1S beispielsweise, das aus demselben Kollagen-Typ-I hergestellt wird wie das in dieser Arbeit eingesetzte ChondroFiller^{liquid}, dient primär nur als Stützgerüst und soll den Stammzellen das Anhaften und Einwachsen ins Defektareal erleichtern. Zwei Arbeiten von der Arbeitsgruppe um Schneider und Gavenis an Göttinger Minischweinen konnten zeigen, dass nach sechs Wochen bereits eine hohe Anzahl an Zellen ins primär zellfreie Biomaterial eingewandert waren und sich nach einem Jahr ein hyalinähnliches Ersatzmaterial gebildet hat^{117,118}. Aber auch wenn ein Biomaterial noch nicht denselben biomechanischen Belastungen standhalten kann wie das spätere Ersatzgewebe, so wird von den meisten Autoren eine möglichst hohe Primärstabilität des Biomaterials gefordert^{65,74,75,119}. Denn auch wenn nach einer Knorpeloperation durch diverse Nachbehandlungsschemata eine Vollbelastung für einige Zeit vermieden wird, so muss das Implantat dennoch einer gewissen Belastung standhalten. Insbesondere muss es die Zellen, die sich in ihm ansiedeln, vor zu hohen äußeren Belastungen schützen, damit das neue Knorpelregenerat entstehen kann.

Eine interessante Arbeit zu diesem Thema lieferten Efe et al.¹²⁰. Auch diese Autoren sind der Meinung, dass eine hohe Primärstabilität zu den zentralen Eigenschaften von Biomaterialien gehört. Um diese zu testen, haben die Autoren ein spezielles CPM-Gerät (Continuous Passiv Motion) entwickelt, in das präparierte Schweineknie eingespannt werden können. Vor Testung wurden in den Knien standardisiert Defekte gesetzt und anschließend mit CaReS-1S behandelt. Ziel der Arbeit war es unter anderem, die benötigte Zyklenzahl für die Testung der mechanischen Eigenschaften des Biomaterials zu ermitteln. Dazu wurden jeweils nach 0, 2000, 4000, 6000 und 8000 Bewegungszyklen standardisierte Bilder von der Implantatoberfläche gemacht, und mithilfe einer Bildverarbeitungssoftware wurde der prozentuale Anteil der abgenutzten Fläche ermittelt. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied der abgenutzten Implantatoberfläche zwischen 0 und 2000 Zyklen. Höhere Zyklenzahlen (4000, 6000, 8000) führten allerdings zu keiner weiteren Verschlechterung. Efe et al. folgerten daraus, dass eine Zyklenzahl von 2000 daher ausreichend erscheint, die Primärstabilität von Kollagen-Typ-I-Gelen zu bestimmen. Sie verfolgen denselben Ansatz wie auch in dieser

Arbeit vorher vorgeschlagen. Durch einen standardisierten Versuchsaufbau könnte auf diese Art und Weise die Primärstabilität verschiedener Biomaterialien miteinander verglichen werden. Es bestehen jedoch zwei wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Ansätzen. In der Arbeit von Efe et al. wird lediglich das Biomaterial selbst beurteilt und das auch nur optisch mithilfe einer Bildverarbeitungssoftware. Dadurch bleiben einerseits eventuell eingetretene Strukturschäden des Biomaterials unbemerkt. Es wird lediglich die Ablösung des Implantats vom Rand des Knorpeldefektes beurteilt. Andererseits wird nicht untersucht, ob das Implantat den gegenüberliegenden Knorpel schädigt. Das ist bei diesem Versuchsaufbau allerdings auch nicht zu erwarten, da die Tests im CPM-Gerät ohne zusätzliche axiale Belastung durchgeführt wurden, damit die frühe postoperative Rehabilitationsphase simuliert werden konnte. Interessant ist aber die Tatsache, dass selbst ohne zusätzliche axiale Belastung das Biomaterial schon innerhalb der ersten 2000 Zyklen geschädigt wurde und diesen Zustand in etwa für weitere 6000 Zyklen beibehielt. Die Annahme, dass in dieser Arbeit das Biomaterial nur aufgrund des hohen axialen Drucks früh zerstört wurde, ist demnach vielleicht nicht ganz zutreffend. Auch ohne zusätzliche Belastung wird es anscheinend frühzeitig *ausgewaschen*.

Es soll noch auf einen zweiten möglichen Einwand eingegangen werden. Die Frage stellt sich, ob es nicht prinzipiell simpler wäre, anstatt des gegenüberliegenden Knorpels den Knochen-Knorpel-Zylinder mit dem Biomaterial zu untersuchen, damit die Primärstabilitäten miteinander verglichen werden können. Dabei handelt es sich auch um einen Ansatz, den viele Studien verfolgen. Drei unterschiedliche Vorgehensweisen lassen sich hauptsächlich unterscheiden:

1. Histologische Untersuchung des Biomaterials nach verschiedenen biomechanischen Tests
2. Arthroskopische Beurteilung des Implantats im *Follow-up*
3. Beurteilung des *Outcomes* verschiedener Knorpelersatzverfahren mithilfe von Scores und Fragebögen

Ob es jedoch durch die Biomaterialien im Verlauf zu Schäden an dem gegenüberliegenden Knorpel kam, wird dabei außer Acht gelassen. Dieser Sachverhalt könnte mit diesem Versuchsaufbau untersucht werden.

5 Resümee

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass bereits ein fokaler viertgradiger Knorpelschaden zu umfassenden Schäden am korrespondierenden Knorpel führen kann. Teilweise umfasste der Schaden 50 % der Knorpeldicke, was zu einer massiven Störung der Knorpelarchitektur führt. Dies unterstreicht die hohe Vulnerabilität des artikulären Knorpels und weist auf die Notwendigkeit präventiver und therapeutischer Maßnahmen hin, um eine fortschreitende Degeneration frühzeitig zu verhindern.

Wodurch es bei den Versuchen in NaCl und Hyaluronsäure zu den unterschiedlichen Knorpelschadenswerten je nach Laufzeit kam, konnte nicht abschließend geklärt werden. Zudem fiel der Schaden bei der Verwendung von Hyaluronsäure stärker aus als beim Einsatz von NaCl. Dies widerspricht der allgemeinen Erwartung, dass Hyaluronsäure protektive Eigenschaften für den Knorpel aufweist. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um die genaue Ursache für diese Diskrepanz zu identifizieren. Auch auffällig war die Tatsache, dass die Proben mit Tidemarkschäden innerhalb einer Gruppe meist stärkere Knorpelschäden erlitten haben.

Der Einsatz von ChondroFiller hatte nicht den erhofften Effekt und konnte in dieser Arbeit den Knorpelschaden nicht mindern. Es ist anzunehmen, dass die fehlende Primärstabilität des ChondroFiller in diesem spezifischen Versuchsaufbau eine entscheidende Rolle spielte. Eine unmittelbare postoperative Vollbelastung sollte daher vermieden werden, da sie die Integrität des Biomaterials beeinträchtigen könnte. Stattdessen ist eine angepasste Rehabilitation mit partieller Belastung in den frühen postoperativen Phasen notwendig.

Weitere Versuche im Reibprüfstand mit einem niedrigeren axialen Druck und stattdessen mit längeren Laufzeiten wären erstrebenswert, um eine realistischere Belastungssituation zu simulieren und möglicherweise die sofortige Zerstörung des eingesetzten Biomaterials zu verhindern.

Zudem könnten verschiedene Biomaterialien miteinander verglichen und so für jedes Biomaterial ein eigener Belastungswert bestimmt werden, ab dem das Implantat versagt. Bereits vor dem klinischen Einsatz des Biomaterials wäre hierdurch ein Vergleich der unterschiedlichen Produkte möglich. Je nach Belastungswert könnte zudem die postoperativ zulässige Belastung angepasst werden. Dies würde zu einer rascheren Rehabilitation beitragen, wodurch wiederum Komorbiditäten verringert werden könnten.

Des Weiteren sollte die Probenzahl erhöht werden, damit die Ergebnisse auf statistische Signifikanz hin überprüft werden können.

6 Literaturverzeichnis

1. Mandelbaum BR, Browne JE, Fu F, et al. Articular cartilage lesions of the knee. *Am J Sports Med.* 1998;26(6):853-861.
2. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous Repair of Full-Thickness Defects of Articular Cartilage in a Goat Model: A Preliminary Study. *J Bone Joint Surg Am.* 2001;83(1).
http://journals.lww.com/jbjsjournal/Fulltext/2001/01000/Spontaneous_Repair_of_Full_Thickness_Defects_of.8.aspx
3. Braun S, Vogt S, Imhoff AB. Stage oriented surgical cartilage therapy. Current situation. *Der Orthopäde.* 2007;36(6):589-99; quiz 600. doi:10.1007/s00132-007-1095-2
4. Andereya S, Maus U, Gavenis K, et al. First clinical experiences with a novel 3D-collagen gel (CaReS) for the treatment of focal cartilage defects in the knee. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 2006;144(3):272-280. doi:10.1055/s-2006-933445
5. Gille J, Behrens P, Schulz AP, Oheim R, Kienast B. Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation: A Clinical Follow-Up at 15 Years. *Cartilage.* 2016;7(4):309-315. doi:10.1177/1947603516638901
6. Schuette HB, Kraeutler MJ, McCarty EC. Matrix-Assisted Autologous Chondrocyte Transplantation in the Knee: A Systematic Review of Mid- to Long-Term Clinical Outcomes. *Orthop J Sports Med.* 2017;5(6):2325967117709250. doi:10.1177/2325967117709250
7. Guettler JH, Demetropoulos CK, Yang KH, Jurist KA. Osteochondral defects in the human knee: influence of defect size on cartilage rim stress and load redistribution to surrounding cartilage. *Am J Sports Med.* 2004;32(6):1451-1458. doi:10.1177/0363546504263234
8. Strauss EJ, Goodrich LR, Chen C-T, Hidaka C, Nixon AJ. Biochemical and biomechanical properties of lesion and adjacent articular cartilage after chondral defect repair in an equine model. *Am J Sports Med.* 2005;33(11):1647-1653. doi:10.1177/0363546505275487
9. Venjakob AJ, Föhr P, Henke F, et al. Influence of Sutures on Cartilage Integrity: Do Meniscus Sutures Harm Cartilage? An Experimental Animal Study. *Arthroscopy.* 2019;35(5):1509-1516. doi:10.1016/j.arthro.2018.11.040
10. Diermeier T, Venjakob A, Byrne K, et al. Effects of focal metallic implants on opposing cartilage - an in-vitro study with an abrasion test machine. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;21(1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32316943/>
11. Benninghoff A, Drenckhahn D, Benninghoff-Drenckhahn, eds. *Zellen- und Gewebelehre, Entwicklungslehre, Skelett- und Muskelsystem, Atemsystem, Verdauungssystem, Harn- und Genitalsystem.* 17., durchges. Aufl. Elsevier Urban & Fischer; 2008.
12. Gray H, Clemente CD. *Gray's Anatomy of the Human Body.* 30th American ed. Lea & Febiger; 1985.

13. Gardner ED. Physiology of Joints. *The Journal of Bone & Joint Surgery*. 1963;45(5):1061-1066.
14. Aumüller G. *Anatomie*. Thieme; 2007.
15. Wooley PH, Grimm MJ, Radin EL. The structure and function of joints. In: Koopman WJ, Moreland LW, eds. *Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2005:149-173.
16. Neumann DA. *Kinesiology of the Musculoskeletal System: Foundations for Rehabilitation*. 2nd ed (Online-Ausg.). Elsevier Health Sciences; 2013.
17. Huber M, Trattig S, Lintner F. Anatomy, biochemistry, and physiology of articular cartilage. *Invest Radiol*. 2000;35(10):573-580.
18. Bhosale AM, Richardson JB. Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *Br Med Bull*. 2008;87:77-95. doi:10.1093/bmb/ldn025
19. Sophia Fox AJ, Bedi A, Rodeo SA. The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports Health*. 2009;1(6):461-468. doi:10.1177/1941738109350438
20. Lane JM, Weiss C. Review of articular cartilage collagen research. *Arthritis Rheum*. 1975;18(6):553-562.
21. Buckwalter JA. Articular cartilage: injuries and potential for healing. *J Orthop Sports Phys Ther*. 1998;28(4):192-202. doi:10.2519/jospt.1998.28.4.192
22. Brower TD, Hsu WY. Normal articular cartilage. *Clin Orthop Relat Res*. 1969;64:9-17.
23. Muir H. The chondrocyte, architect of cartilage. Biomechanics, structure, function and molecular biology of cartilage matrix macromolecules. *Bioessays*. 1995;17(12):1039-1048. doi:10.1002/bies.950171208
24. Stockwell RA. *Biology of Cartilage Cells: Biology of Cartilage Cells*. Cambridge Univ. Pr; 1979.
25. Aydelotte MB, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. I. Morphology and cartilage matrix production. *Connect Tissue Res*. 1988;18(3):205-222.
26. Aydelotte MB, Greenhill RR, Kuettner KE. Differences between sub-populations of cultured bovine articular chondrocytes. II. Proteoglycan metabolism. *Connect Tissue Res*. 1988;18(3):223-234.
27. Becerra J, Andrades JA, Guerado E, Zamora-Navas P, Lopez-Puertas JM, Reddi AH. Articular cartilage: structure and regeneration. *Tissue Eng Part B Rev*. 2010;16(6):617-627. doi:10.1089/ten.TEB.2010.0191
28. 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*. 2003;55(12):1569-1593. doi:10.1016/j.addr.2003.08.009
29. Minns RJ, Steven FS. The collagen fibril organization in human articular cartilage. *J Anat*. 1977;123(Pt 2):437-457.
30. Watanabe H, Yamada Y, Kimata K. Roles of aggrecan, a large chondroitin sulfate proteoglycan, in cartilage structure and function. *Journal of Biochemistry*. 1998;124(4):687-693.

31. Wong M, Carter DR. Articular cartilage functional histomorphology and mechanobiology: a research perspective. *Bone*. 2003;33(1):1-13.
32. Buckwalter, Mow, Ratcliffe. Restoration of Injured or Degenerated Articular Cartilage. *J Am Acad Orthop Surg*. 1994;2(4):192-201.
33. Weiss C, Rosenberg L, Helfet AJ. An ultrastructural study of normal young adult human articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 1968;50(4):663-674.
34. Debrunner AM. *Orthopädie, orthopädische Chirurgie: Patientenorientierte Diagnostik und Therapie des Bewegungsapparates*. 4., vollst. neu bearb. Aufl. Huber; 2002.
35. Mow VC, Holmes MH, Lai WM. Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review. *J Biomech*. 1984;17(5):377-394.
36. Curl WW, Krome J, Gordon E, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 1997;13(4):456-460. doi:10.1016/S0749-8063(97)90124-9
37. 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*. 2002;18(7):730-734. doi:10.1053/jars.2002.32839
38. Arøen A, Løken S, Heir S, et al. Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies. *Am J Sports Med*. 2004;32(1):211-215.
39. Steinwachs MR, Erggelet C, Lahm A, Gohlke-Steinwachs U. Clinical and cellbiological aspects of autologous chondrocytes transplantation. *Unfallchirurg*. 1999;102(11):855-860. doi:10.1007/s001130050494
40. Imai N, Tomatsu T. Cartilage lesions in the knee of adolescents and young adults: Arthroscopic analysis. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*. 1991;7(2):198-203. doi:10.1016/0749-8063(91)90108-A
41. Heir S, Nerhus TK, Rotterud JH, et al. Focal cartilage defects in the knee impair quality of life as much as severe osteoarthritis: a comparison of knee injury and osteoarthritis outcome score in 4 patient categories scheduled for knee surgery. *Am J Sports Med*. 2010;38(2):231-237. doi:10.1177/0363546509352157
42. Hunter W. Of the Structure and Diseases of Articulating Cartilages, by William Hunter, Surgeon. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 1743;42(462-471):514-521. doi:10.1098/rstl.1742.0079
43. Merx H, Dreinhöfer KE, Günther K-P. Sozialmedizinische Bedeutung der Arthrose in Deutschland. *Z Orthop Unfall*. 2007;145(4):421-429. doi:10.1055/s-2007-965552
44. Weber AE, Cole BJ. Editorial Commentary: The Search for the Cartilage "Holy Grail": Are We There Yet? *Arthroscopy*. 2016;32(7):1451-1452. doi:10.1016/j.arthro.2016.05.012
45. Pridie KH. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg*. 1959;(41B):618-619.
46. Ficat RP, Ficat C, Gedeon P, Toussaint JB. Spongialization: a new treatment for diseased patellae. *Clin Orthop Relat Res*. 1979;(144):74-83.
47. Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, Briggs KK. Microfracture technique for full-thickness chondral defects: Technique and clinical results. *Operative*

- Techniques in Orthopaedics*. 1997;7(4):300-304. doi:10.1016/S1048-6666(97)80033-X
48. Erggelet C, Vavken P. Microfracture for the treatment of cartilage defects in the knee joint - A golden standard? *J Clin Orthop Trauma*. 2016;7(3):145-152. doi:10.1016/j.jcot.2016.06.015
 49. Gilbert JE. Current treatment options for the restoration of articular cartilage. *Am J Knee Surg*. 1998;11(1):42-46.
 50. Makris EA, Gomoll AH, Malizos KN, Hu JC, Athanasiou KA. Repair and tissue engineering techniques for articular cartilage. *Nat Rev Rheumatol*. 2015;11(1):21-34. doi:10.1038/nrrheum.2014.157
 51. Niemeyer P, Kreuz PC, Steinwachs M, Südkamp NP. Operative treatment of cartilage lesions in the knee joint. *Sportverletz Sportschaden*. 2007;21(1):41-50. doi:10.1055/s-2007-963030
 52. Matsusue Y, Yamamuro T, Hama H. Arthroscopic multiple osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption. *Arthroscopy*. 1993;9(3):318-321.
 53. Hangody L, Kish G, Karpáti Z, Szerb I, Udvarhelyi I. Arthroscopic autogenous osteochondral mosaicplasty for the treatment of femoral condylar articular defects. A preliminary report. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 1997;5(4):262-267. doi:10.1007/s001670050061
 54. Imhoff AB, Öttl GM, Burkart A, Traub S. Osteochondral autologous transplantation in various joints. *Orthopäde*. 1999;28(1):33-44. doi:10.1007/PL00003547
 55. Peterson L, Menche D, Grande DA, Pitman MI. Chondrocyte transplantation - an experimental model in the rabbit. *Transactions from the 30th Annual Orthopaedic Research Society*. 1984;9:218.
 56. Grande DA, Pitman MI, Peterson L, Menche D, Klein M. The repair of experimentally produced defects in rabbit articular cartilage by autologous chondrocyte transplantation. *J Orthop Res*. 1989;7(2):208-218. doi:10.1002/jor.1100070208
 57. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med*. 1994;331(14):889-895. doi:10.1056/NEJM199410063311401
 58. Deng Z, Jin J, Zhao J, Xu H. Cartilage Defect Treatments: With or without Cells? Mesenchymal Stem Cells or Chondrocytes? Traditional or Matrix-Assisted? A Systematic Review and Meta-Analyses. *Stem Cells Int*. 2016;2016:9201492. doi:10.1155/2016/9201492
 59. Zeifang F, Oberle D, Nierhoff C, Richter W, Moradi B, Schmitt H. Autologous chondrocyte implantation using the original periosteum-cover technique versus matrix-associated autologous chondrocyte implantation: a randomized clinical trial. *Am J Sports Med*. 2010;38(5):924-933. doi:10.1177/0363546509351499
 60. Brittberg M. Cell carriers as the next generation of cell therapy for cartilage repair: a review of the matrix-induced autologous chondrocyte implantation procedure. *Am J Sports Med*. 2010;38(6):1259-1271. doi:10.1177/0363546509346395
 61. Langer R, Vacanti JP. Tissue Engineering. *Science*. 1993;260(5110):920-926.

62. Stock UA, Vacanti JP. Tissue engineering: current state and prospects. *Annu Rev Med*. 2001;52:443-451. doi:10.1146/annurev.med.52.1.443
63. Vannini F, Filardo G, Kon E, Roffi A, Marcacci M, Giannini S. Scaffolds for cartilage repair of the ankle joint: The impact on surgical practice. *Foot Ankle Surg*. 2013;19(1):2-8. doi:10.1016/j.fas.2012.07.001
64. Kessler MW, Grande DA. Tissue engineering and cartilage. *Organogenesis*. 2008;4(1):28-32.
65. Wang Z, Peng J. Articular Cartilage Tissue Engineering: Development and Future: A Review. *Journal of Musculoskeletal Pain*. 2014;22(1):68-77. doi:10.3109/10582452.2014.883017
66. Stoddart MJ, Grad S, Eglin D, Alini M. Cells and biomaterials in cartilage tissue engineering. *Regen Med*. 2009;4(1):81-98. doi:10.2217/17460751.4.1.81
67. Vinatier C, Mrugala D, Jorgensen C, Guicheux J, Noel D. Cartilage engineering: a crucial combination of cells, biomaterials and biofactors. *Trends Biotechnol*. 2009;27(5):307-314. doi:10.1016/j.tibtech.2009.02.005
68. Chen Y, Shao J-Z, Xiang L-X, Dong X-J, Zhang G-R. Mesenchymal stem cells: a promising candidate in regenerative medicine. *Int J Biochem Cell Biol*. 2008;40(5):815-820. doi:10.1016/j.biocel.2008.01.007
69. Vinatier C, Bouffi C, Merceron C, et al. Cartilage tissue engineering: towards a biomaterial-assisted mesenchymal stem cell therapy. *Current Stem Cell Research & Therapy*. 2009;4(4):318-329.
70. Bernhard JC, Vunjak-Novakovic G. Should we use cells, biomaterials, or tissue engineering for cartilage regeneration? *Stem Cell Res Ther*. 2016;7(1):56. doi:10.1186/s13287-016-0314-3
71. Vogt S, Tischer T, Blanke F. Biomaterials in orthopedics. *Orthopade*. 2015;44(8):649-660. doi:10.1007/s00132-015-3147-3
72. Zhang L, Hu J, Athanasiou KA. The Role of Tissue Engineering in Articular Cartilage Repair and Regeneration. *Critical reviews in biomedical engineering*. 2009;37(1-2):1-57.
73. Glowacki J, Mizuno S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers*. 2008;89(5):338-344. doi:10.1002/bip.20871
74. Iwasa J, Engebretsen L, Shima Y, Ochi M. Clinical application of scaffolds for cartilage tissue engineering. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009;17(6):561-577. doi:10.1007/s00167-008-0663-2
75. Danisovic L, Varga I, Zamborsky R, Bohmer D. The tissue engineering of articular cartilage: cells, scaffolds and stimulating factors. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2012;237(1):10-17. doi:10.1258/ebm.2011.011229
76. Domm C, Schunke M, Christesen K, Kurz B. Redifferentiation of dedifferentiated bovine articular chondrocytes in alginate culture under low oxygen tension. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002;10(1):13-22. doi:10.1053/joca.2001.0477
77. Zhang C, Cai Y-Z, Lin X-J. One-Step Cartilage Repair Technique as a Next Generation of Cell Therapy for Cartilage Defects: Biological Characteristics, Preclinical Application, Surgical Techniques, and Clinical Developments. *Arthroscopy*. 2016;32(7):1444-1450. doi:10.1016/j.arthro.2016.01.061

78. Maroudas A, Schneiderman R, Popper O. The role of water, proteoglycan, and collagen in solute transport in cartilage. *Articular cartilage and osteoarthritis*. 1992;355-371.
79. Diermeier T. *Einfluss Von Fokalen Metallischen Implantaten Auf Die Beschaffenheit Von Knorpel Im Porcinen Kniegelenk*. [Dissertation]: Technische Universität München; 2018. <https://nbn-resolving.org/urn/resolver.pl?urn:nbn:de:bvb:91-diss-20180517-1366165-1-1>
80. Lang G. *Histotechnik: Praxislehrbuch Für Die Biomedizinische Analytik*. 2., überarb. und aktualisierte Aufl. Springer; 2013.
81. Föhr P. Evaluation eines neu entwickelten Reibprüfstands zur zyklischen Dauerbelastung von Knorpel und Meniskus; May 20, 2011; Murnau.
82. Milz S, Putz R. Quantitative morphology of the subchondral plate of the tibial plateau. *J Anat*. 1994;185(Pt 1):103-110.
83. Glaser C, Putz R. Functional anatomy of articular cartilage under compressive loading Quantitative aspects of global, local and zonal reactions of the collagenous network with respect to the surface integrity. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002;10(2):83-99. doi:10.1053/joca.2001.0484
84. Forster H, Fisher J. The influence of loading time and lubricant on the friction of articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 1996;210(2):109-119. doi:10.1243/PIME_PROC_1996_210_399_02
85. Zevenbergen L, Gsell W, Chan DD, et al. Functional assessment of strains around a full-thickness and critical sized articular cartilage defect under compressive loading using MRI. *Osteoarthritis Cartilage*. 2018;26(12):1710-1721. doi:10.1016/j.joca.2018.08.013
86. Marchi BC, Arruda EM, Coleman RM. The Effect of Articular Cartilage Focal Defect Size and Location in Whole Knee Biomechanics Models. *J Biomech Eng*. 2020;142(2). doi:10.1115/1.4044032
87. Koh J, Diaz RL, Tafur JC, Lin Y, Echenique DB, Amirouche F. Small Chondral Defects Affect Tibiofemoral Contact Area and Stress: Should a Lower Threshold Be Used for Intervention? *Orthop J Sports Med*. 2022;10(11):23259671221129308. doi:10.1177/23259671221129308
88. Koh JL, Jacob KC, Kulkarni R, Vasilion Z, Amirouche FML. Consequences of Progressive Full-Thickness Focal Chondral Defects Involving the Medial and Lateral Femoral Condyles After Meniscectomy: A Biomechanical Study Using a Goat Model. *Orthop J Sports Med*. 2022;10(3):23259671221078598. doi:10.1177/23259671221078598
89. Gratz KR, Wong BL, Bae WC, Sah RL. The effects of focal articular defects on cartilage contact mechanics. *J Orthop Res*. 2009;27(5):584-592. doi:10.1002/jor.20762
90. Birkenes T, Furnes O, Laastad Lygre SH, et al. The Long-Term Risk of Knee Arthroplasty in Patients with Arthroscopically Verified Focal Cartilage Lesions: A Linkage Study with the Norwegian Arthroplasty Register, 1999 to 2020. *J Bone Joint Surg Am*. 2023;105(12):951-961. doi:10.2106/JBJS.22.01174

91. Everhart JS, Abouljoud MM, Kirven JC, Flanigan DC. Full-Thickness Cartilage Defects Are Important Independent Predictive Factors for Progression to Total Knee Arthroplasty in Older Adults with Minimal to Moderate Osteoarthritis: Data from the Osteoarthritis Initiative. *J Bone Joint Surg Am.* 2019;101(1):56-63. doi:10.2106/JBJS.17.01657
92. Everhart JS, Abouljoud MM, Flanigan DC. Role of full-thickness cartilage defects in knee osteoarthritis (OA) incidence and progression: Data from the OA Initiative. *J Orthop Res.* 2019;37(1):77-83. doi:10.1002/jor.24140
93. Houck DA, Kraeutler MJ, Belk JW, Frank RM, McCarty EC, Bravman JT. Do Focal Chondral Defects of the Knee Increase the Risk for Progression to Osteoarthritis? A Review of the Literature. *Orthop J Sports Med.* 2018;6(10):2325967118801931. doi:10.1177/2325967118801931
94. Yanke AB, Konopka ML, Butty DC, et al. Effect of Vertical or Beveled Chondral Defect Creation on Rim Deformation and Contact. *Cartilage.* 2019;10(2):222-228. doi:10.1177/1947603517752058
95. Breil-Wirth A, Engelhardt LV von, Lobner S, Jerosch J. Retrospektive Untersuchung einer zellfreien Matrix zur Knorpeltherapie. *OUP - Orthopädische und Unfallchirurgische Praxis.* 2016;(9):515-520.
96. Schneider U. Controlled, randomized multicenter study to compare compatibility and safety of ChondroFiller liquid (cell free 2-component collagen gel) with microfracturing of patients with focal cartilage defects of the knee joint. *Video Journal of Orthopedics Surgery.* 2016;(1):1-8.
97. Welsch GH, Trattinig S, Domayer S, Marlovits S, White LM, Mamisch TC. Multimodal approach in the use of clinical scoring, morphological MRI and biochemical T2-mapping and diffusion-weighted imaging in their ability to assess differences between cartilage repair tissue after microfracture therapy and matrix-associated autologous chondrocyte transplantation: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17(9):1219-1227. doi:10.1016/j.joca.2009.03.018
98. Mazek J, Gnatowski M, Salas AP, O'Donnell JM, Domzalski M, Radzimowski J. Arthroscopic utilization of ChondroFiller gel for the treatment of hip articular cartilage defects: a cohort study with 12- to 60-month follow-up. *J Hip Preserv Surg.* 2021;8(1):22-27. doi:10.1093/jhps/hnab002
99. Spahn G, Wittig R. Spannungs- und Bruchverhalten des gesunden Gelenkknorpels unter axialer Belastung. Eine biomechanische Untersuchung. *Zentralbl Chir.* 2003;128(1):78-82. doi:10.1055/s-2003-37325
100. Redler I, Mow VC, Zimny ML, Mansell J. The ultrastructure and biomechanical significance of the tidemark of articular cartilage. *Clin Orthop Relat Res.* 1975;(112):357-362.
101. Kumar P, Oka M, Nakamura T, Yamamuro T, Delecrin J. Mechanical strength of osteochondral junction. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi.* 1991;65(11):1070-1077.
102. Otterness IG, Chang M, Burkhardt JE, Sweeney FJ, Milici AJ. Histology and tissue chemistry of tidemark separation in hamsters. *Vet Pathol.* 1999;36(2):138-145.

103. Landells JW. The reactions of injured human articular cartilage. *J Bone Joint Surg Br.* 1957;39-B(3):548-562.
104. Bendele AM, White SL, Hulman JF. Osteoarthritis in guinea pigs: histopathologic and scanning electron microscopic features. *Lab Anim Sci.* 1989;39(2):115-121.
105. Walker JM. Exercise and its influence on aging in rat knee joints*. *J Orthop Sports Phys Ther.* 1986;8(6):310-319.
106. Sokoloff L. Natural history of degenerative joint disease in small laboratory animals. I. Pathological anatomy of degenerative joint disease in mice. *AMA Arch Pathol.* 1956;62(2):118-128.
107. Ahern BJ, Parvizi J, Boston R, Schaer TP. Preclinical animal models in single site cartilage defect testing: a systematic review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17(6):705-713. doi:10.1016/j.joca.2008.11.008
108. Ronken S, Arnold MP, Ardura Garcia H, Jeger A, Daniels AU, Wirz D. A comparison of healthy human and swine articular cartilage dynamic indentation mechanics. *Biomech Model Mechanobiol.* 2012;11(5):631-639. doi:10.1007/s10237-011-0338-7
109. Fermor HL, McLure SWD, Taylor SD, et al. Biological, biochemical and biomechanical characterisation of articular cartilage from the porcine, bovine and ovine hip and knee. *Biomed Mater Eng.* 2015;25(4):381-395. doi:10.3233/BME-151533
110. Shirazi R, Shirazi-Adl A. Computational biomechanics of articular cartilage of human knee joint: effect of osteochondral defects. *J Biomech.* 2009;42(15):2458-2465. doi:10.1016/j.jbiomech.2009.07.022
111. Wong BL, Sah RL. Effect of a focal articular defect on cartilage deformation during patello-femoral articulation. *J Orthop Res.* 2010;28(12):1554-1561. doi:10.1002/jor.21187
112. Yan W, Xu X, Xu Q, et al. Chondral Defects Cause Kissing Lesions in a Porcine Model. *Cartilage.* 2021;13(2_suppl):692S-702S. doi:10.1177/1947603520951636
113. Schaefer D, Martin I, Jundt G, et al. Tissue-engineered composites for the repair of large osteochondral defects. *Arthritis & Rheumatism.* 2002;46(9):2524-2534. doi:10.1002/art.10493
114. Schäfer D, Seidel J, Martin I, et al. Engineering und Charakterisierung von funktionalem osteochondralem Ersatzgewebe. *Orthopade.* 2004;33(6):721-726. doi:10.1007/s00132-004-0639-y
115. Schneider U, Schmidt-Rohlfing B, Gavenis K, Maus U, Mueller-Rath R, Andereya S. A comparative study of 3 different cartilage repair techniques. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19(12):2145-2152. doi:10.1007/s00167-011-1460-x
116. Lefkoe TP, Trafton PG, Ehrlich MG, et al. An experimental model of femoral condylar defect leading to osteoarthritis. *J Orthop Trauma.* 1993;7(5):458-467. doi:10.1097/00005131-199310000-00009

117. Gavenis K, Schneider U, Maus U, et al. Cell-free repair of small cartilage defects in the Goettinger minipig: which defect size is possible? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20(11):2307-2314. doi:10.1007/s00167-011-1847-8
118. Schneider U, Rackwitz L, Andereya S, et al. A prospective multicenter study on the outcome of type I collagen hydrogel-based autologous chondrocyte implantation (CaReS) for the repair of articular cartilage defects in the knee. *Am J Sports Med.* 2011;39(12):2558-2565. doi:10.1177/0363546511423369
119. Grande DA, Halberstadt C, Naughton G, Schwartz R, Manji R. Evaluation of matrix scaffolds for tissue engineering of articular cartilage grafts. *J Biomed Mater Res.* 1997;34(2):211-220.
120. Efe T, Schofer MD, Fuglein A, et al. An ex vivo continuous passive motion model in a porcine knee for assessing primary stability of cell-free collagen gel plugs. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11:283. doi:10.1186/1471-2474-11-283