



Fakultät für Medizin

Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie  
der Technischen Universität München  
Klinikum rechts der Isar

Direktor: Prof. Dr. Rüdiger von Eisenhart-Rothe

**Entwicklung eines standardisierten Prüfverfahrens zur  
mechanischen Charakterisierung von artikulärem Knorpel mit  
Schwerpunkt auf dem Erholungsverhalten**

**Iris Nicole Pflieger**

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität  
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

**Doktors der Medizin**

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Rainer Burgkart
2. Prof. Dr. Andreas B. Imhoff

Die Dissertation wurde am 30.04.2018 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 12.12.2018 angenommen.

**Inhaltsverzeichnis**

<b>Abkürzungen</b> .....	<b>v</b>
<b>Veröffentlichungen</b> .....	<b>vi</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>7</b>
<b>2 Stand der Technik</b> .....	<b>10</b>
2.1 Das humane Kniegelenk .....	10
2.1.1 Anatomie .....	10
2.1.2 Mechanik .....	11
2.2 Das ovine Kniegelenk.....	11
2.3 Gesunder artikulärer Knorpel.....	12
2.3.1 Histologische Komposition.....	13
2.3.1.1 Zellen .....	13
2.3.1.2 Extrazelluläre Matrix (EZM).....	14
2.3.2 Zonale Schichtung.....	16
2.3.2.1 Oberflächliche Zone/Tangentiale Zone.....	16
2.3.2.2 Übergangszone/Mittlere Zone .....	16
2.3.2.3 Radiäre Zone/Tiefe Zone .....	16
2.3.2.4 Kalzifizierte Zone .....	17
2.4 Osteoarthrotischer Gelenkknorpel .....	17
2.4.1 Makroskopische Veränderungen .....	17
2.4.2 Mikroskopische Veränderungen .....	17
2.4.3 Biochemische Veränderungen.....	18
2.4.4 Diagnostik.....	18
2.4.4.1 Röntgen .....	18
2.4.4.2 Arthroskopie.....	19
2.4.4.3 Histologie .....	19
2.5 Mechanische Eigenschaften des artikulären Knorpels.....	19
2.5.1 Definitionen .....	19
2.5.1.1 Steifigkeit .....	19
2.5.1.2 Dehnung .....	19
2.5.1.3 Spannung .....	20
2.5.1.4 E-Modul (E).....	20
2.5.1.5 Aggregat-Modul ( $H_a$ ) .....	21
2.5.1.6 Schermodul/Schubmodul .....	21
2.5.1.7 Poisson-Zahl ( $\nu$ ).....	21
2.5.1.8 Hydraulische Permeabilität (K).....	21
2.5.1.9 Kriechen.....	22
2.5.1.10 Relaxation .....	22
2.5.1.11 Hysterese.....	23
2.5.1.12 Erholungsverhalten .....	23
2.5.1.13 Schwellverhalten .....	24
2.5.2 Knorpelmodelle.....	25
2.5.2.1 Elastisches Modell .....	25
2.5.2.2 Viskoelastisches Modell .....	25
2.5.2.3 Biphasisches Modell .....	26
2.5.2.4 Biphasisches poroelastisches Modell .....	27
2.5.2.5 Triphasisches Modell .....	27
2.5.3 Mechanische Kennwerte .....	28
2.6 Mechanische Eigenschaften des arthrotischen Knorpels.....	29
2.6.1 Steifigkeit.....	29
2.6.2 E-Modul .....	29
2.6.3 Zugmodul/Schermodul.....	29
2.6.4 Permeabilität .....	29

2.6.5	Poisson-Zahl .....	30
2.6.6	Schwellverhalten .....	30
2.7	Mechanische Testverfahren .....	30
2.7.1	<i>In vivo</i> Testverfahren .....	31
2.7.1.1	MRT .....	31
2.7.1.2	Arthroskopie .....	31
2.7.2	<i>In vitro</i> Testverfahren .....	32
2.7.2.1	Zugversuch .....	32
2.7.2.2	Scher-/Torsionstest .....	33
2.7.3	Kompressionsversuch .....	33
2.7.3.1	<i>Unconfined</i> Kompression .....	33
2.7.3.2	<i>Confined</i> Kompression .....	34
2.7.3.3	Indentation .....	34
2.8	Prüfprotokolle .....	35
2.8.1	Statische Versuche .....	35
2.8.1.1	Kriechindentation .....	35
2.8.1.2	Spannungsrelaxation .....	35
2.8.1.3	Quasistatische Prüfverfahren .....	36
2.8.2	Dynamische Versuche .....	36
2.8.2.1	Zyklische Kompression .....	36
2.8.2.2	<i>Impact Loading</i> .....	37
2.8.3	Erholungsverhalten .....	37
2.8.3.1	<i>In vivo</i> Studien .....	37
2.8.3.2	<i>In vitro</i> Studien .....	37
2.8.3.3	Forschungsergebnisse .....	38
2.9	Dickenbestimmung .....	38
2.9.1	Optisch .....	38
2.9.2	MRT .....	39
2.9.3	Ultraschall .....	39
2.9.4	Nadelindentation .....	39
2.10	Randbedingungen .....	40
2.10.1	Tiermodell .....	40
2.10.2	Probengeometrie .....	40
2.10.3	Lagerung/Einfrier- und Auftaumodalität .....	41
2.10.4	Indentorgeometrie .....	41
2.10.5	Medium und Temperatur .....	42
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>43</b>
3.1	Testgerät .....	43
3.2	Vorversuche .....	44
3.2.1	Präparation der Proben .....	44
3.2.1.1	Arthrex-Stanze .....	44
3.2.1.2	Stanze mit seitlicher Öffnung .....	44
3.2.1.3	Bohrröhrchen .....	45
3.2.2	Statischer Kriecherholungsversuch .....	47
3.2.3	Zyklischer Kriecherholungsversuch .....	48
3.3	Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch .....	51
3.3.1	Versuchsdurchführung .....	54
3.3.2	Auswertung .....	58
3.3.2.1	Bestimmung der Steifigkeit .....	59
3.3.2.2	Bestimmung des Kriechverhaltens und der Erholung .....	59
3.3.2.3	Statistische Auswertung .....	60
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>61</b>
4.1	Statischer Kriecherholungsversuch .....	61
4.2	Zyklischer Kriecherholungsversuch .....	63

4.3	Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch .....	67
4.3.1	Knorpeldicke.....	67
4.3.2	Steifigkeit.....	68
4.3.2.1	Lokalisationsintern .....	68
4.3.2.2	Tibia .....	69
4.3.2.3	Femur .....	70
4.3.2.4	Trochlea.....	71
4.3.2.5	Patella.....	71
4.3.3	Kriechen .....	72
4.3.3.1	Tibia .....	73
4.3.3.2	Femur .....	73
4.3.3.3	Trochlea.....	74
4.3.3.4	Patella.....	75
4.3.4	Erholung.....	76
4.3.4.1	Vergleich von Kriechen und Erholung in den verschiedenen Testlokalisationen .....	83
4.3.4.2	Erholungsverhalten der verschiedenen Testlokalisationen.....	84
4.3.5	Probenübergreifender Vergleich .....	88
4.3.5.1	Steifigkeit .....	89
4.3.5.2	Kriechen.....	90
4.3.5.3	Erholung .....	90
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>93</b>
5.1	Testverfahren .....	94
5.1.1	Indentationsversuch .....	94
5.1.2	Tiermodelle.....	95
5.1.3	Probengeometrie .....	95
5.1.4	Lagerung, Auftaumodalität und Versuchsmedium.....	96
5.1.5	Temperatur.....	96
5.1.6	Prüfprotokoll .....	97
5.1.7	Dickenmessung .....	97
5.2	Vorversuche .....	97
5.2.1	Statischer Kriecherholungsversuch.....	97
5.2.2	Zyklischer Kriecherholungsversuch .....	99
5.3	Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch .....	100
5.3.1	Prüfprotokoll .....	100
5.3.2	Ergebnisse .....	101
5.3.2.1	Steifigkeit .....	101
5.3.2.2	Kriechverhalten.....	102
5.3.2.3	Erholung .....	102
5.3.3	Kartographierung.....	103
5.3.3.1	Dicke.....	104
5.3.3.2	Steifigkeit .....	105
5.3.3.3	Kriechverhalten .....	106
5.3.3.4	Erholung .....	107
5.4	Bedeutung für die Wissenschaft .....	108
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>110</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>113</b>
	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>119</b>
	<b>Anhang.....</b>	<b>121</b>
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>147</b>

## Abkürzungen

A	-	Fläche
d	-	Durchmesser
E-Modul	-	Elastizitätsmodul
EZM	-	Extrazelluläre Matrix
FCD	-	Fixed Charge Density
F	-	Kraft
GPa	-	Gigapascal
h	-	Höhe/Stunde
KKZ	-	Knorpelknochenzylinder
kPa	-	Kilopascal
Lig.	-	Ligamentum
M/m	-	Musculus/Meter
m <sup>2</sup>	-	Quadratmeter
min	-	Minute
mm	-	Millimeter
MPa	-	Megapascal
MRT	-	Magnetresonanztomographie
ms	-	Millisekunden
N	-	Newton
nm	-	Nanometer
OA	-	Osteoarthrose
OS	-	Obere Schwelllast
Pa	-	Pascal
PBS	-	Phosphat gepufferte Kochsalzlösung
PG	-	Proteoglykan
PI	-	Proteaseinhibitor
rpm	-	Rounds per minute
s	-	Sekunde
SA	-	Standardabweichung
US	-	Untere Schwelllast

## Formelzeichen

$\sigma$	-	Spannung
$\varepsilon$	-	Dehnung
$\Delta L/L_0$	-	Relative Längenänderung

## Veröffentlichungen

- 11/2018            **Zeitschriftenaufsatz in Journal of Bionic Engineering**, 15 (6),1057–1066: „*Analysis of Cartilage Creep Recovery Using a Highly Dynamic Closed-loop Test System*“
- 03/2015            **Vortrag am V. Münchener Symposium für experimentelle Orthopädie, Unfallchirurgie und muskuloskelettale Forschung:** „Kartographie des Erholungsverhaltens und der Steifigkeit des artikulären Knorpels im adulten, ovinen Kniegelenk“, ausgezeichnet mit dem Young Investigator Award
- 10/2014            **Postervorstellung auf dem Deutschen Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie (DKOU)** in Berlin: „Neu entwickelte dynamische Analyse der Knorpelerholung. Ein Vergleich zwischen *in vivo* und *in vitro*“
- 02/2014            **Vortrag am IV. Münchener Symposium für experimentelle Orthopädie, Unfallchirurgie und muskuloskelettale Forschung:** „Messung des Erholungsverhaltens von Gelenkknorpel mit einem hochdynamischem Prüfsystem“
- 05/2013            **Koautor des Posterbeitrags für die 8. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomechanik (DGfB) in Neu-Ulm:** „Qualitative Analyse der Knorpelerholung nach kurzzeitiger Kompression mit Hilfe eines neu entwickelten, hochdynamischen Prüfsystems“

# 1 Einleitung

Degenerative Veränderungen des artikulären Knorpelgewebes stellen eine der weltweit häufigsten Gelenkerkrankungen mit zunehmender Prävalenz dar (ENGELHARDT 2003 [70]; RABENBERG 2013 [213]; WOOLF 2003 [269]). Die Inanspruchnahme ambulanter und stationärer Einrichtungen aufgrund von Arthrose verursacht pro Jahr Kosten von etwa 7,5 Milliarden Euro (RABENBERG 2013 [213]).

Artikulärer Knorpel bedeckt die knöchernen Enden diarthrotischer Gelenke (LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]). Er unterliegt während der alltäglichen Belastung hoher mechanischer Beanspruchung. Aufgrund des komplexen mikrostrukturellen Aufbaus des Knorpels zeichnet er sich durch einzigartige biomechanische Eigenschaften aus. Diese ermöglichen eine abnutzungs- und reibungsarme Transmission hoher repetitiver Kräfte auf die Gelenkfläche und gewährleisten so eine physiologische, schmerzfreie Bewegung (AIGNER 2003 [3]; GUILAK 2004, c2003 [85]). Mit fortschreitendem Alter unterliegt der Knorpel degenerativen Veränderungen, welche im Verlust der anatomischen, biochemischen und biomechanischen Integrität resultieren können. Es entsteht ein verändertes Gleichgewicht zwischen Widerstandsfähigkeit und alltäglicher Belastung (BUCKWALTER 2005 [38]). Klinisch führt dies zu Gelenkschmerzen und Dysfunktion und wird als Osteoarthrose (OA) bezeichnet (BUCKWALTER 2005 [38]; OUTERBRIDGE 1961 [205]). Mit Hilfe histologischer oder biomechanischer Untersuchungen kann das Ausmaß und die Schwere der OA frühzeitig beurteilt und somit pathologisches und gesundes Gewebe differenziert werden (ALTMAN 1984 [6]; COOK 2010 [55]; LITTLE 2010 [156]).

Eine kausale Therapie ist nach heutigem Stand der Technik nicht möglich. Therapeutisch verbleibt letztlich nur der prothetische Gelenkersatz. Bei der operativen Behandlung v. a. jüngerer Patienten haben sich die Mikrofrakturierung, die Pridie-Bohrung und der autologe osteochondrale Transfer etabliert. Ziel dieser Verfahren ist vorrangig die Bildung eines knorpelähnlichen Ersatzgewebes. In Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass das Regeneratgewebe eine signifikante Abnahme der mechanischen Qualität gegenüber physiologischem artikulärem Knorpel aufweist (KLEEMANN 2006 [127]; KUNOW 2008 [137]). In den letzten Jahrzehnten wurde in der Forschung zunehmend der Fokus auf die künstliche Herstellung von Knorpelregeneraten, sogenannten Scaffolds, gelegt (ATHANASIOU 2010 [13]; HUTMACHER 2000 [103]; MOUTOS 2007 [186]; MOUTOS 2010 [187]; PERETTI 2001 [210]). Die Europäische Union plant nun ein Gesetz zur Qualitätssicherung dieser künstlichen Knorpelgewebe. Darin sollen neben Normen zur Biotoxizität und Biokompatibilität künftig auch Richtlinien bezüglich der biomechanischen Eigenschaften der Ersatzmaterialien eingeführt werden (FÖHR 2012 [74]; KLEEMANN 2006 [127]).

Physiologisches Knorpelgewebe ist durch ein komplexes, biphasisches, viskoelastisches Verhalten charakterisiert. Es wird in eine feste und flüssige Phase unterteilt und zeigt einen nichtlinearen, zeitabhängigen Kurvenverlauf (COLOMBO 2013 [54]; LI 1999 [153]; MAK 1987 [167]; Mow 1989 [189]; Mow 1980 [193]). In der bisherigen Literatur herrscht eine hohe Diversität hinsichtlich der Testverfahren und Prüfprofile zur Evaluierung von physiologischem, arthrotischem und tissue-engineertem Knorpelgewebe. Diese können sowohl statisch als auch dynamisch sowie unter Kraft- oder Wegregelung erfolgen (ATESHIAN 1997 [11]; BROMMER 2006 [35]; GUILAK 2004, c2003 [85]; HUTMACHER 2000 [103]; KLEEMANN 2005 [128]; Mow 2005 [192]; Mow 1980 [193]). Neben der Bestimmung des Elastizitätsmoduls (E-Modul), Zugmoduls, Schermoduls, der Permeabilität und der Poisson-Zahl stellt auch das Schwellverhalten einen weiteren wichtigen Parameter zur Beurteilung der Funktion und Integrität von Gelenkknorpel dar (BUCKLEY 2010 [37]; KEMPSON 1982 [121]; KEMPSON 1971 [122]; KEMPSON 1970 [123]; KIVIRANTA 2006 [126]; MAROUDAS 1976 [173]; MAROUDAS 1977 [177]; SETTON 1999 [228]). Das Schwellverhalten wird insbesondere durch die Proteoglykane (PG) und ihre stark negativ geladenen Sulfat- und Carboxylgruppen hervorgerufen. Diese, auch als Fixed Charge Density (FCD) bezeichnet, ziehen Kationen, wie Natrium, an und binden aufgrund des osmotischen Druckes eine beträchtliche Menge Wasser. Diese Hydratation wird durch das Kollagennetzwerk limitiert (LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MAROUDAS 1968 [171]; MAROUDAS 1976 [172]; SALTER 1998 [218]). Der vermehrte Wassergehalt und das Schwellverhalten stellen ein Frühzeichen von degenerativ verändertem Gelenkknorpel dar. Ursache ist der Verlust des intakten Kollagennetzwerks der oberflächlichen Zone und somit die verminderte oder fehlende Limitierung des Schwellverhaltens kartilaginären Gewebes (ALTMAN 1984 [6]; MAROUDAS 1977 [177]; MUIR 1977 [194]).

Das Schwellverhalten wurde bisher zumeist durch den Austausch hypertoner und hypotoner Versuchsmedien untersucht (FLAHIFF 2002 [73]; KORHONEN 2010 [131]; MAROUDAS 1977 [177]; NARMONEVA 2002 [195]; NARMONEVA 2001 [196]; SETTON 1999 [228]; TREPPO 2000 [258]; WANG 2008 [262]). Das Schwellverhalten kann auch unter physiologischen Bedingungen durch das Erholungsverhalten von Knorpelgewebe nach Belastung untersucht werden. Während der Kompression wird interstitielle Flüssigkeit aus der porösen Matrix ausgepresst (LU 2010 [161]; LU 2008 [162]). Während der Erholung folgt die ausgepresste Flüssigkeit dem osmotischen Druckgradienten, welcher durch die negativ geladenen Seitenketten der PGs erzeugt wird, zurück (LU 2008 [162]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]). Bisher wurde das Erholungsverhalten in der Literatur aufgrund der technischen Limitierung unzureichend beschrieben. Die Datenerhebung erfolgte *in vivo* mittels Magnetresonanztomographie (MRT). Diese unterliegt einer hohen auflösungsbedingten und zeitlichen Limitierung (ECKSTEIN 1999 [67]; GREAVES 2009 [84]; STEINMEYER 1999 [243]). In *in vitro* Versuchen konnte das Erholungsverhalten mangels geeigneter Prüfsysteme bisher meist unter völliger Entlastung unter-

sucht werden. Dies führt jedoch zu einem Kontaktverlust zur Knorpeloberfläche (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; BARKER 2001 [22]; MOW 1989 [189]; SAUERLAND 2003 [221]; SAUERLAND 2007 [222]; SCHMIDT-ROHLFING 2004 [226]; SETTON 1993 [229]; STEINMEYER 1999 [243]; WILSON 2005 [266]).

In unseren Versuchen wurde ein neu entwickeltes hochdynamisches Prüfsystem verwendet, mittels welchem es erstmals möglich war, den Erholungsverlauf von Knorpelgewebe ohne Kontaktverlust zur Oberfläche mit einer minimalen Tastlast von 5,66 Kilopascal (kPa) aufzuzeichnen.

In einer Schafstudie konnte bereits eine verlängerte Erholungszeit nach Meniskusresektion mittels MRT-Bildgebung festgestellt werden (SONG 2008 [240]). Das Erholungsverhalten von Knorpelgewebe könnte somit ein entscheidender Parameter zur frühzeitigen Differenzierung von gesundem und pathologischem Gewebe sein. Da das Erholungsverhalten die Integrität der Kollagenfasern, der PGs, des Wassergehaltes, des Wasserflusses sowie die Permeabilität des Knorpelgewebes unter physiologischen Bedingungen untersucht, könnte es einen wichtigen Parameter zur Bestimmung der Funktionalität von Scaffolds darstellen (LU 2010 [161]; MAROUDAS 1977 [177]; STEINMEYER 1999 [243]).

Zudem konnten in der bisherigen Literatur bereits topographische Unterschiede in der Knorpeldicke und den mechanischen Eigenschaften innerhalb und zwischen den Gelenken bestimmt werden (ADAM 1998 [2]; ATHANASIOU 1991 [14]; COHEN 1999 [52]; FROMSON 1997 [77]; JURVELIN 2000 [110]; KEMPSON 1971 [124]; KIVIRANTA 2006 [126]; LYYRA-LAITINEN 1999 [165]; SONG 2006 [239]; SWANN 1993 [250]). Daher sollten in der biomechanischen Evaluierung ortsspezifische Eigenschaften berücksichtigt werden.

Ziele:

- 1.: Hauptziel dieser Promotion ist die Entwicklung eines standardisierten Testprotokolls, mittels welchem die mechanischen Parameter von Knorpelgewebe bestimmt werden können. Der Fokus wird dabei auf das Erholungsverhalten gelegt.
- 2.: Mit Hilfe eines hochdynamischen Prüfsystems soll der exakte Ortsverlauf der Knorpeloberfläche nach Belastung unter kraftgeregeltem Halten einer minimalen Tastlast kontinuierlich aufgezeichnet werden. Dabei soll ein statisches und ein zyklisches Versuchsprotokoll am bovinen Tiermodell erprobt werden.
- 3.: Anschließend sollen unterschiedliche Lokalisationen am ovinen Tiermodell auf ihre Dicke, Steifigkeit sowie auf ihr Kriech- und Erholungsverhalten untersucht werden.

## 2 Stand der Technik

### 2.1 Das humane Kniegelenk

#### 2.1.1 Anatomie

Das Kniegelenk (*Articulatio genus*) ist das größte diarthrotische Gelenk des Menschen und setzt sich aus dem distalen Femur, der Patella und der proximalen Tibia zusammen. Das humane Knie ist in zwei Partialgelenke unterteilt, der *Articulatio femoropatellaris* und der *Articulatio femorotibialis*. Funktionell handelt es sich um ein Drehscharniergelenk, ein *Trochoginglymus*, welches Flexions- und Extensionsbewegungen sowie eine geringe Rotation des Unterschenkels um seine Längsachse ermöglicht (AUMÜLLER 2014 [15]). Die Femurkondylen weisen keine Kreisform auf, sondern gleichen einer Spirale mit unterschiedlichen Krümmungsradien. Da die stärkere Krümmung im dorsalen Teil der Kondylen vorliegt, variiert die Kontaktfläche zum Tibiaplateau zwischen Beugung und Streckung (SCHÜNKE 2000 [227]). Das mediale Tibiaplateau ist leicht konkav, die laterale Seite hingegen schwach konvex geformt. Somit artikulieren im femorotibialen Gelenk zwei inkongruente Gelenkflächen. Ausgleich schaffen die aus Faserknorpel bestehenden c-förmigen Menisken, die der gleichmäßigen Distribution von Druckbelastungen dienen. Das Kniegelenk wird von einem Kapsel-Bandapparat, bestehend aus hinterem und vorderem Kreuzband, medialen und lateralen Kollateralbändern sowie der Sehne des *Musculus (M.) quadriceps femoris* und deren Ausläufern, stabilisiert (Abbildung 1). Die zirkumferierende Gelenkkapsel besteht aus einer äußeren fibrotischen Schicht und der innen liegenden Synovia. Die synoviale Flüssigkeit besteht aus Wasser (85 %), Hyaluronsäure, Proteinen und Polysacchariden. Ihr kommt eine schützende und ernährende Funktion zu (AUMÜLLER 2014 [15]; MAROUDAS 1968 [175]).

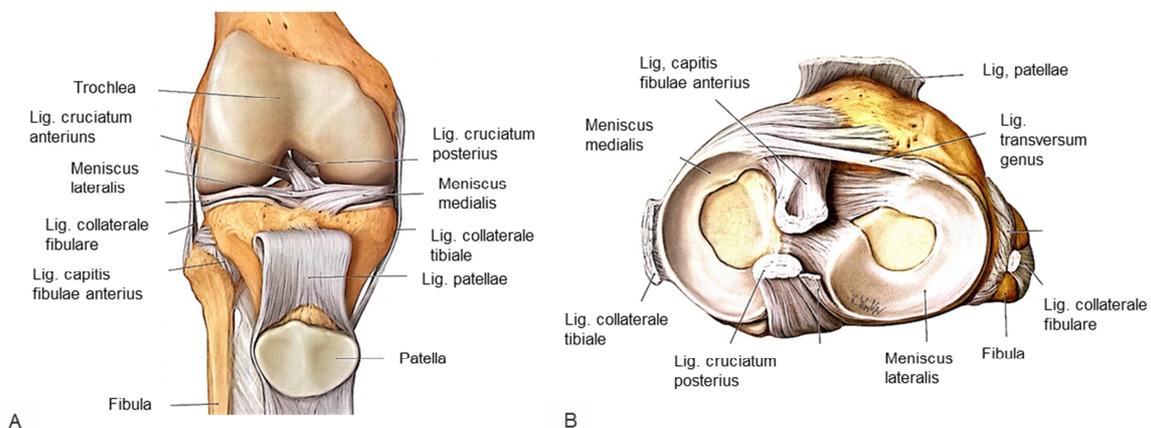


Abbildung 1: Humanes Kniegelenk von A) ventral, B) Aufsicht auf das Tibiaplateau (nach SCHÜNKE 2005 [230]).

## 2.1.2 Mechanik

Je nach Kniegelenkslage, Extension oder Flexion, und Belastungsart wie Stehen, Gehen oder Laufen variieren sowohl die Höhe und Qualität der mechanischen Kräfte als auch die Kontaktflächen in den artikulierenden Gelenkpartnern (BESIER 2005 [28]; BROWN 1984 [36]). Grundsätzlich kann zwischen Zugbelastung, Kompressionsbelastung und horizontaler Belastung, also Scherkraft und Reibung, differiert werden (WIRTH 2002 [267]). Die Kompressionskräfte werden zu etwa 70 % auf das mediale Tibiakompartiment und zu 30 % auf das laterale Kompartiment transmittiert (THAMBYAH 2007 [252]; THAMBYAH 2005 [253]). In der Literatur werden Spannungen von 14 bis zu 26 Megapascal (MPa) während des Gangzyklus sowie Spitzenbelastungen zwischen etwa 27 und 56 MPa angegeben (D'LIMA 2008 [60]; THAMBYAH 2005 [253]). Andere Autoren berichten über Spannungen von lediglich 1,4 MPa während des Gangzyklus (BARKER 2001 [22]).

Das Belastungsverhältnis zwischen der etwas größeren lateralen und medialen Patellafacetten beträgt in etwa 60:40. Hier ist die Knorpeldicke besonders hoch. Im Laufe einer Beugebewegung variiert die Größe der Kontaktfläche von Patella und femoropatellarem Gleitlager. Durch die Zunahme der Kontaktfläche bei zunehmender Beugung kann eine höhere Anpresskraft übertragen werden, ohne Einfluss auf den Flächenpressdruck zu nehmen (WIRTH 2002 [267]). Dieser Druck wird in der Literatur mit Werten zwischen 2,0 und 4,4 MPa angegeben (HUBERTI 1984 [101]).

Das Verständnis der Mechanik des Kniegelenks ist essentiell, da daraus unterschiedliche Eigenschaften des Knorpels resultieren. ECKSTEIN 2002 konnte in den Hauptbelastungszonen eine höhere Knorpeldicke nachweisen (ECKSTEIN 2002 [63]). Weiterhin wurde ein höherer Gehalt an PGs und ein vergleichsweise geringerer Kollagengehalt in stark beanspruchten Knorpelarealen gefunden (AKIZUKI 1986 [4]). Zudem wurden unterschiedliche Steifigkeiten zwischen meniskusbedeckten und -unbedeckten Arealen gemessen (SWANN 1993 [250]).

## 2.2 Das ovine Kniegelenk

Weltweit dient das Schaf als Tiermodell auf dem Forschungsgebiet der OA und soll sich nach CHEN 2005 gleichermaßen im Tissue Engineering zunehmend etablieren (CHEN 2005 [48]). Das Schaf hat aufgrund seiner ähnlichen biochemischen Komposition des kartilaginären Gewebes an Bedeutung gewonnen (BURGER 2007 [40]; GHADIALLY 1986 [82]). Die Größe des ovinen Kniegelenks beträgt etwa zwei Drittel eines menschlichen Gelenks (Abbildung 2). Es besitzt einen zusätzlichen intraartikulären Muskel, den *M. extensor digitorum longus*. Seine Sehne setzt am anterolateralen Femurkondylus an und zieht weiter kaudal durch ein Gleitlager am lateralen Tibiaplateau. Daraus resultiert ein verstärkter knöcherner Aufbau der lateralen Tibia. Das mediale Tibiaplateau sowie der mediale Meniskus sind kleiner als an der

lateralen Tibia. Weitere Unterschiede liegen in einem tieferen und schmaleren patellaren Gleitlager (LITTLE 2010 [156]).

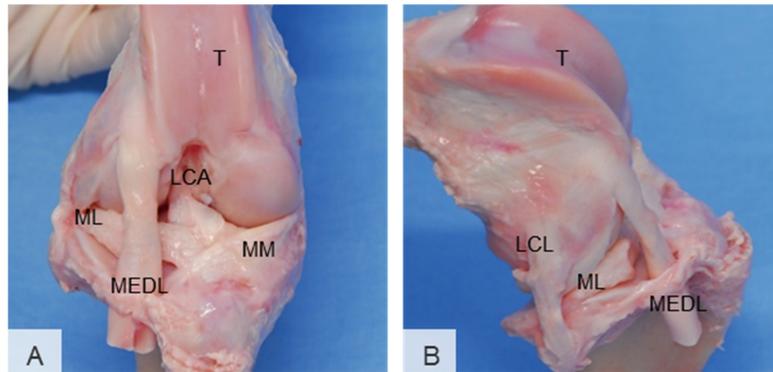


Abbildung 2: Ovines Kniegelenk von A) ventral und von B) lateral (LCA: Ligamentum (Lig.) cruciatum anterius; LCL: Lig. collaterale laterale; MEDL: M. extensor digitorum longus; ML: Meniscus laterale; MM: Meniscus mediale; T: Trochlea).

## 2.3 Gesunder artikulärer Knorpel

Man unterscheidet drei Arten von Knorpel. Aus fibrotischem Knorpel sind beispielsweise die Bandscheiben und die Menisken aufgebaut. Elastischer Knorpel formt die Epiglottis und die Eustachsche Röhre. Hyaliner oder auch artikulärer Knorpel ist ein Gewebe, das diarthrotische Gelenkflächen bedeckt und den Fokus dieser Arbeit bildet (Abbildung 3). Seine Funktion liegt in der Distribution hoher Kräfte auf die Gelenkoberfläche, dem Schutz des subchondralen Knochens vor Spitzenbelastungen und der Gewährleistung einer reibungsarmen und abnutzungsarmen Artikulation der Gelenkpartner (AIGNER 2003 [3]; GUILAK 2004, c2003 [85]; LI 2010 [148]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]).

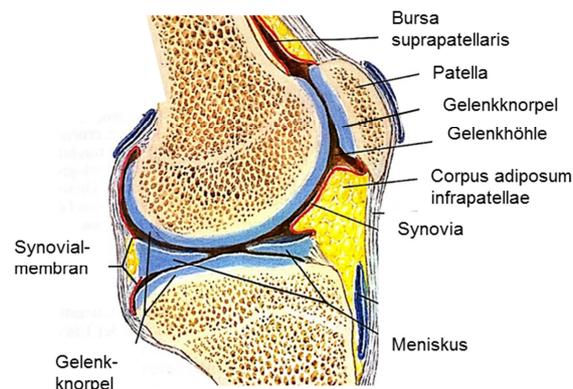


Abbildung 3: Sagittalschnitt durch das Kniegelenk mit Darstellung des Gelenkknorpels (nach FIRBAS 1992 [72]).

### 2.3.1 Histologische Komposition

Knorpelgewebe ist ein avaskuläres, alymphatisches und aneurales Gewebe (AIGNER 2003 [3]; BUCKWALTER 2005 [38]). Die Ernährung erfolgt bradytroph, also passiv per Diffusion zwischen Knorpelmatrix und Synovialflüssigkeit (ARCHER 2003 [8]; AUMÜLLER 2014 [15]). Eine Grobgliederung des histologischen Aufbaus kann in Zellen, den Chondrozyten (3 %), und extrazellulärer Matrix (EZM) erfolgen. Letztere ist aus Wasser (80 %), PGs (12 %) und Kollagenen (15 %) aufgebaut (Abbildung 4) (AIGNER 2003 [3]).

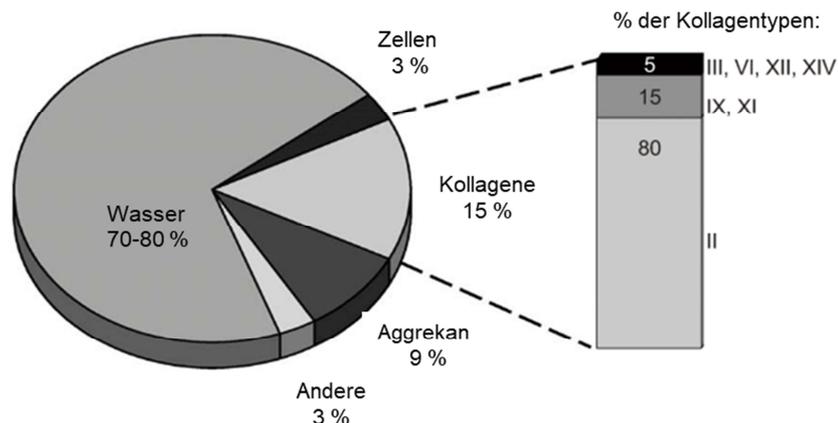


Abbildung 4: Übersicht über die histologische Komposition von artikulärem Knorpelgewebe (nach AIGNER 2003 [3]).

#### 2.3.1.1 Zellen

Ogleich Chondrozyten eine hohe Stoffwechselaktivität zeigen, ist Knorpelgewebe aufgrund des geringen Zellanteils relativ stoffwechselarm (Abbildung 5) (AIGNER 2003 [3]; ARCHER 2003 [8]; BUCKWALTER 2005 [38]). Knorpelzellen differieren hinsichtlich Form, Größe und Stoffwechselaktivität in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation sowie mit zunehmendem Alter (ARCHER 2003 [8]; GUILAK 1999 [86]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; POOLE 1997 [211]; SALTER 1998 [218]). Zudem zeigen sie tiefenabhängige bzw. zonale Unterschiede (ATHANASIOU 2010 [13]; POOLE 1997 [211]). Ihre Funktion liegt in der Produktion und Aufrechterhaltung der EZM und sie stehen über diese mit anderen Chondrozyten in Verbindung. Essentiell für die Aufrechterhaltung einer funktionsfähigen EZM ist ein Gleichgewicht zwischen anabolen und katabolen Prozessen. Chondrozyten besitzen eine hohe anabolische Aktivität. Sie produzieren aber auch katabolische matrix-abbauende Metalloproteasen und Aggrecanasen sowie Zytokine und Wachstumsfaktoren. In degenerativ verändertem Knorpelgewebe wird dieses Gleichgewicht gestört (ARCHER 2003 [8]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; POOLE 1997 [211]; SALTER 1998 [218]). Ebenfalls scheinen Belastungen die Biosynthese der Chondrozyten zu beeinflussen (PALMOSKI 1984 [206]). Auch den Chondrozyten kommt durch die biomechanische Regulierung eine wichtige biomechanische Funktion zu

(ARCHER 2003 [8]; CHAHINE 2007 [46]; GUILAK 1999 [86]; SALTER 1998 [218]; SHIEH 2006 [235]). Sie zeigen nicht uniformes, viskoelastisches Verhalten mit einem E-Modul von etwa 0,6 kPa (GUILAK 1999 [86]). SHIEH 2006 konnte zeigen, dass Chondrozyten der oberflächlichen Knorpelzone steifer als in tieferen Zonen sind (SHIEH 2006 [235]).

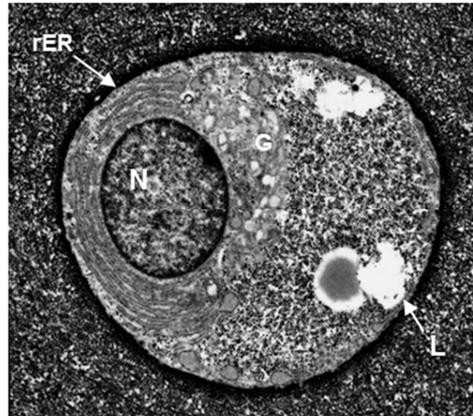


Abbildung 5: EZM eines artikulären Chondrozyten (ARCHER 2003 [8]): (rER: raues Endoplasmatisches Reticulum; N: Nucleolus; G: Golgiapparat; L: Lysosom).

### 2.3.1.2 Extrazelluläre Matrix (EZM)

Die Zwischenzellsubstanz des artikulären Knorpels, die EZM, setzt sich aus zwei Bestandteilen zusammen: den Makromolekülen und der Gewebeflüssigkeit. Die Makromoleküle bestehen aus Kollagenen und PGs und bilden die solide, poröse Matrix (Abbildung 6) (SALTER 1998 [218]). Analog zu den Chondrozyten variiert die biochemische Komposition der Matrix in den verschiedenen zonalen Schichten (AIGNER 2003 [3]; SALTER 1998 [218]).

#### 2.3.1.2.1 Kollagene

Es existieren verschiedene Kollagentypen, von denen das Kollagen Typ 2 im hyalinen Knorpel mit 75 % bis über 95 % den größten Anteil ausmacht (EYRE 2006 [71]; HAGG 1998 [90]). Die Kollagenfasern bilden ein arkadenförmiges Netz (BENNINGHOFF 1925 [27]). Es schützt die Chondrozyten vor Belastung, bindet PGs und Glykoproteine, verankert das kartilaginäre Gewebe mit dem subchondralen Knochen und verleiht dem Knorpel Zugfestigkeit (BASSER 1998 [24]; FOX 2009 [75]; LI 2005 [151]; LU 2008 [159]; SALTER 1998 [218]). Zudem limitiert es das Schwellverhalten von Knorpelgewebe und ist somit unerlässlich für die Aufrechterhaltung der Funktionalität des Knorpelgewebes (MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1973 [176]; MAROUDAS 1977 [177]; MONONEN 2012 [185]; SCAPINO 1996 [224]).

#### 2.3.1.2.2 Proteoglykane (PGs)

Die PGs stellen etwa 10 % des Trockengewichts von Knorpel dar und sind über molekulare Wechselwirkungen an die Kollagenfibrillen gebunden (AIGNER 2003 [3]; MAROUDAS 1980 [174]). Sie bestehen zum Großteil aus Aggrecan. Daneben konnten eine Reihe weiterer PGs nachgewiesen werden, deren Anteil mit dem Alter und Verschleiß variiert (ARCHER 2003 [8];

MAROUDAS 1980 [174]; SALTER 1998 [218]). Aggrekan besitzt neben einem Kernprotein eine große Anzahl von Seitenketten aus Glykosaminoglykanen, die stark negativ geladene Sulfat- und Carboxylgruppen aufweisen (LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; SALTER 1998 [218]). Die Dichte der PGs und ihre negativ geladenen Seitenketten werden als FCD bezeichnet. Sie ziehen Kationen, wie Natrium, an und binden aufgrund des osmotischen Druckes eine beträchtliche Menge Wasser (MOW 1998 [188]; SALTER 1998 [218]). Der Knorpel zeigt so ein spezifisches Schwellverhalten. Diese Hydratation wird durch das Kollagennetzwerk limitiert (LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1977 [177]). PGs sind für die Kompressionsfähigkeit des Knorpelgewebes von signifikanter Bedeutung. Mit Abnahme des PG-Gehalts sinkt auch die Widerstandsfähigkeit bei Kompressionsbelastungen (AKIZUKI 1986 [4]; LE 2008 [142]).

### 2.3.1.2.3 Interstitielle Flüssigkeit

Der Wassergehalt von Knorpel liegt etwa zwischen 70-80 % (AIGNER 2003 [3]). Der Wassergehalt hängt stark vom PG-Gehalt, den negativen Seitenketten, der gelösten Ionenkonzentration und der Intaktheit des kollagenen Fasernetzwerkes ab (LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MAROUDAS 1977 [177]). Neben der Nutrition kommt der Flüssigkeit eine wichtige Funktion bei der Widerstandskraft des Knorpelgewebes bei Kompression zu (MOW 1984 [191]). Aufgrund der unterschiedlichen biochemischen Komposition der Knorpelzonen variiert auch der Wassergehalt (FOX 2009 [75]; SETTON 1993 [229]).

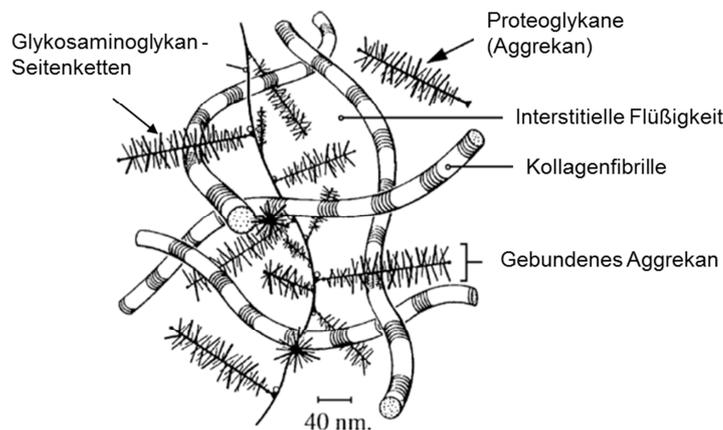


Abbildung 6: Aufbau der EZM (nach LU 2008 [159]).

Zusammenfassend formt die Interaktion des kollagenen Netzwerkes mit den PGs eine poröse, solide Matrix. Die Zwischenräume sind mit gelösten Ionen und Wasser gefüllt. Die Dynamik des Flüssigkeitsflusses, die molekulare Charakteristik und die Interaktion der Flüssigkeit und Makromoleküle bilden das Fundament der mechanischen Eigenschaften und mechanischen Integrität des artikulären Knorpels.

## 2.3.2 Zonale Schichtung

Artikulärer Knorpel wird grundlegend in vier Zonen unterteilt, deren Gliederung durch den charakteristischen Lauf der Kollagenfasern definiert ist. Gemäß der histologischen Arkadenstruktur von BENNINGHOFF 1925 laufen die Knorpelfasern in der oberflächlichen Zone tangential, neigen sich in der Übergangszone und ordnen sich schließlich senkrecht zur Knorpeloberfläche an (BENNINGHOFF 1925 [27]). Zudem differieren Form und Größe der Chondrozyten sowie der PG-Gehalt in den verschiedenen Zonen (Abbildung 7; Tabelle 10 (Anhang Seite 121)) (FOX 2009 [75]; POOLE 1997 [211]; SALTER 1998 [218]).

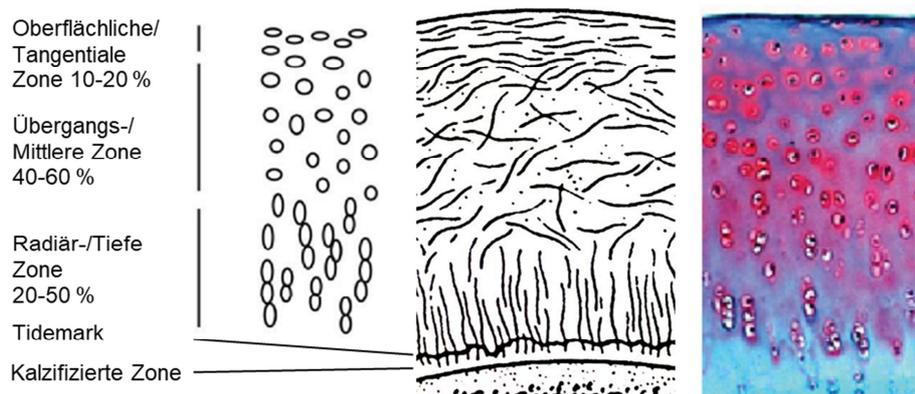


Abbildung 7: Strukturelle Anordnung der Zellen (links) und Kollagenfasern (Mitte) in der oberflächlichen, mittleren und tiefen Zone. Histologischer Querschnitt (rechts) (nach ATHANASIOU 2010 [13]; MOW 2005 [192]).

### 2.3.2.1 Oberflächliche Zone/Tangentiale Zone

Etwa 10-20 % der Knorpeldicke werden von der oberflächlichen Zone bestimmt. Sie besteht vorwiegend aus ellipsoiden, dicht angeordneten Chondrozyten und einem hohen Wasser- und Kollagenanteil. Hier sind die Kollagenfibrillen parallel zur Oberfläche gerichtet und gewährleisten so hohe Zugfestigkeit und Widerstandsfähigkeit gegenüber Scherkräften (FOX 2009 [75]; SALTER 1998 [218]; VENN 1977 [260]).

### 2.3.2.2 Übergangszone/Mittlere Zone

Hinsichtlich Morphologie und Matrixkomposition bildet diese Zone einen Übergang von der oberflächlichen zur radiären Knorpelschicht. Sie besitzt eine höhere Zelldichte und -größe, und ist wesentlich dicker als die oberflächliche Zone (40-60 %). Die Orientierung der Kollagenfasern scheint zufällig angeordnet zu sein (FOX 2009 [75]; SALTER 1998 [218]).

### 2.3.2.3 Radiäre Zone/Tiefe Zone

Die radiäre Zone weist den niedrigsten Flüssigkeitsgehalt, den höchsten PG-Gehalt sowie die höchste FCD und die dicksten Kollagenfasern auf. Die Kollagenfasern wie auch die

Chondrozyten, die in Säulen gruppiert vorliegen, nehmen einen senkrecht zur Oberfläche gerichteten Verlauf (FOX 2009 [75]; MAROUDAS 1968 [171]; POOLE 1997 [211]; VENN 1977 [260]). Ihre Funktion dient der Verankerung von nicht-kalzifiziertem und kalzifiziertem Knorpelgewebe. Die beiden Zonen werden histologisch durch eine deutliche Linie, der Tidemark, getrennt (FOX 2009 [75]; SALTER 1998 [218]).

### **2.3.2.4 Kalzifizierte Zone**

Der Gelenkknorpel ist über eine dünne Übergangsschicht, der kalzifizierten Knorpelzone, mit dem subchondralen Knochen konnektiert. Chondrozyten der kalzifizierten Zone könnten eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Mineralisation spielen (GANNON 1991 [79]; SALTER 1998 [218]).

Aus der inhomogenen zonalen Schichtung des Knorpelgewebes resultieren tiefenabhängige mechanische Eigenschaften (BUCKLEY 2010 [37]; LI 2000 [152]; SCHINAGL 1997 [225]; TREPPO 2000 [258]).

## **2.4 Osteoarthrotischer Gelenkknorpel**

### **2.4.1 Makroskopische Veränderungen**

Bei OA verändert sich die strukturelle Zusammensetzung des Gelenkknorpels. Ein Frühzeichen ist die Erweichung der oberflächlichen Zone (HOLLANDER 1995 [97]; HOSSEINI 2013 [99]). Kleine Fissuren führen schließlich zur Auffaserung der Oberfläche und setzen sich in tiefere Knorpelzonen fort (PRITZKER 2006 [212]; STOCKWELL 1983 [244]). Die vermehrte Belastung des subchondralen Knochens bewirkt eine strukturelle Adaptation durch Sklerosierung und Bildung von Osteophyten und Zysten (AIGNER 2003 [3]; KELLGREN 1957 [119]; PRITZKER 2006 [212]).

### **2.4.2 Mikroskopische Veränderungen**

Auch bei makroskopisch intakter Oberfläche können mikroskopisch bereits Zellnekrosen, eine Zerstörung der extrazellulären Matrix und eine Freilegung und Veränderung der Orientierung der oberflächlichen Kollagenfibrillen nachgewiesen werden (FRANZ 2001 [76]; PRITZKER 2006 [212]; STOCKWELL 1983 [244]). Daneben sind die ersten Zeichen osteoarthrotischer Veränderungen der Untergang von Chondrozyten, eine Abnahme der Dicke der oberflächlichen Zone und eine verminderte Anfärbarkeit der PGs in der oberflächlichen Zone (DESROCHERS 2012 [58]; PRITZKER 2006 [212]). In den tieferen Schichten führen Reparaturmechanismen zu einer vermehrten Produktion von strukturell veränderten PGs (MCDEVITT

1976 [179]). Des Weiteren differiert die Synthese der Kollagentypen und somit die Komposition von pathologischem und gesundem Knorpelgewebe (EYRE 2006 [71]). Ein Fortschreiten der OA bewirkt zudem den Verlust der zonenspezifischen strukturellen Anordnung der Chondrozytensäulen, die Ausbildung tiefer reichender Fissuren, die Zerstörung der Kollagenfibrillen und der PGs in den tieferen Knorpelschichten, die Ausbildung von Zysten sowie die Exposition und das Remodelling des subchondralen Knochens (COOK 2010 [55]; PRITZKER 2006 [212]).

### 2.4.3 Biochemische Veränderungen

Ein biochemisches Frühzeichen von degenerativ verändertem Gelenkknorpel ist der vermehrte Wassergehalt und das vermehrte Schwellverhalten. Ursache ist der Verlust des intakten Kollagennetzwerks der oberflächlichen Zone und somit die verminderte Limitierung des Schwellverhaltens kartilaginären Gewebes (ALTMAN 1984 [6]; MAROUDAS 1973 [176]; MAROUDAS 1977 [177]; MUIR 1977 [194]). Durch die differierende Kollagenkomposition und die Freilegung der tangentialen Kollagenfibrillen verlieren die Kollagenfasern an Zugfestigkeit (AKIZUKI 1986 [4]). Des Weiteren kann ein verminderter PG-Gehalt beobachtet werden (PRITZKER 2006 [212]; ROBERTS 1986 [215]). Zudem induziert ein veränderter Metabolismus der Chondrozyten eine Dysbalance zwischen Metalloproteasen, Aggrecanasen und Inhibitoren zu Gunsten der katabolen Enzyme und somit den weiteren proteolytischen Abbau der PGs (BLAIN 2001 [31]; DEAN 1989 [57]; SAUERSCHNIG 2014 [223]).

### 2.4.4 Diagnostik

Die makroskopischen Zeichen der OA können mittels Röntgen, im Rahmen einer Arthroskopie oder im MRT, mikroskopische Veränderungen mittels histologischer Untersuchungen evaluiert werden (COOK 2010 [55]; HEMPFLING 2007 [95]; KELLGREN 1957 [119]; MCKEON 2009 [180]; PRITZKER 2006 [212]; XIA 2013 [271]).

#### 2.4.4.1 Röntgen

Röntgenmorphologisch stellen Gelenkspaltverschmälerung, vermehrte subchondrale Sklerosierung, Ausbildung von Osteophyten und Zysten die Diagnosekriterien dar. Nach KELLGREN 1957 wird die Arthrose in vier Stadien eingeteilt: 0 = keine Veränderung; 1 = zweifelhafte Veränderung; 2 = minimale Veränderung; 3 = mäßige Veränderung; 4 = ausgeprägte Veränderung (KELLGREN 1957 [119]).

### 2.4.4.2 Arthroskopie

Die makroskopische Evaluierung der Knorpeldegeneration bei arthroskopischen Untersuchungen erfolgt nach OUTERBRIDGE 1961 (OUTERBRIDGE 1961 [205]). Heutzutage verwendet man eine modifizierte Klassifikation, die auf die MRT-Bildgebung übertragen werden kann. Es werden ebenfalls vier Arthrose-Stadien unterschieden: 0 = normaler Knorpel; 1 = Erweichung und Schwellung bei intakter Oberfläche; 2 = oberflächliche Fissurenbildung (<50 % der Knorpeldicke); 3 = tiefe Risse (>50 % der Knorpeldicke); 4 = Exposition des subchondralen Knochens (Eburnisation) (BAJAJ [19]; LINK 2011 [154]; MCKEON 2009 [180]).

### 2.4.4.3 Histologie

MANKIN 1971 entwickelte eine histopathologische Klassifikation der morphologischen Veränderungen bei OA. Sein Scoring System inkludiert strukturelle und zelluläre Knorpelbestandteile, das Färbeverhalten der Matrixkomponenten und die Intaktheit der Tidemark (Tabelle 11 (Anhang Seite 121)) (MANKIN 1971 [168]). Als Färbemittel wird Safranin O verwendet, da die Intensität hoch mit dem PG-Gehalt korreliert. Aktuell werden Empfehlungen zur histologischen Evaluierung der OA erarbeitet (COOK 2010 [55]; LITTLE 2010 [156]; PRITZKER 2006 [212]).

## 2.5 Mechanische Eigenschaften des artikulären Knorpels

### 2.5.1 Definitionen

Um die biomechanischen Charakteristiken von Knorpelgewebe zu verstehen, sollen in diesem Kapitel die Grundlagen der mechanischen Begrifflichkeiten geklärt werden.

#### 2.5.1.1 Steifigkeit

Die Steifigkeit beschreibt die Fähigkeit eines Materials, sich Deformation entgegenzusetzen. Sie ist definiert als Kraft (F) pro Längenänderung ( $\varepsilon$ ). Die Steifigkeit eines Materials kann aus der Steigung im Kraft-Weg-Diagramm abgelesen werden und wird mit Newton (N)/Meter (m) oder N/Millimeter (mm) angegeben (BRINCKMANN 2000 [34]).

#### 2.5.1.2 Dehnung

Als Dehnung wird die relative Längenänderung eines Materials unter Belastung beschrieben:

$$\varepsilon = \Delta L / L_0 \text{ (LAIBLE 2009 [141]).}$$

### 2.5.1.3 Spannung

Die mechanische Spannung ( $\sigma$ ) ist definiert als Kraft ( $F$ ), die auf eine bestimmte Querschnittsfläche ( $A$ ) wirkt, also als Kraft pro Flächeneinheit:  $\sigma$  (N/Quadratmeter ( $m^2$ )) =  $F$  (N)/ $A$  ( $m^2$ ) = Pascal (Pa) (BRINCKMANN 2000 [34]; FUNG 1993 [78]).

Die charakteristischen Eigenschaften des Prüfmaterials können in einem Spannungs-Dehnungs-Diagramm dargestellt werden (Abbildung 8). Aus dem linearen Abschnitt des Spannungs-Dehnungs-Diagramms kann der E-Modul direkt abgelesen werden (KEMPSON 1971 [122]).

Die Dehnung steigt zunächst proportional zur Spannung an, nimmt jedoch ab einem materialspezifischen Spannungswert überproportional zu. Graphisch wird dies in einem Spannungs-Dehnungs-Diagramm mittels einer Geraden veranschaulicht, welche nun von einem linearen Graphen abweicht. Ein Material ist elastisch, wenn es nach Wegnahme der Last seine ursprüngliche Form wiedererlangt. Ein Material verhält sich plastisch, wenn die Verformung nach Belastung irreversibel ist (BEER 2004 [26]; KORHONEN 2011 [133]).

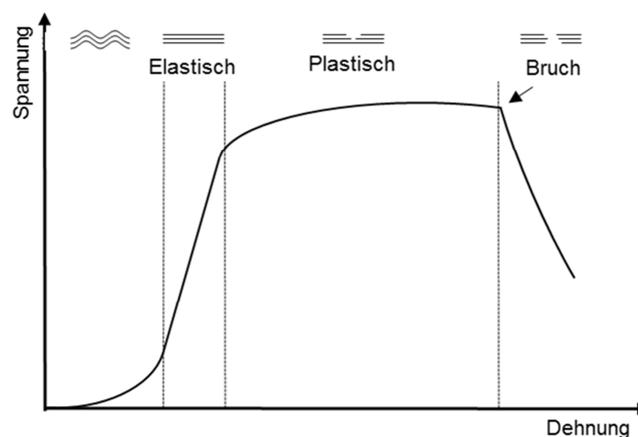


Abbildung 8: Spannungs-Dehnungs-Diagramm am Beispiel eines Zugversuchs an Kollagenfasern (nach KORHONEN 2011 [133]).

In der biomechanischen Testung werden Materialkennwerte (Moduli) gemäß ihrer Testbedingungen als Kompressionsmodul, Schermodul oder Zugmodul beschrieben. Auch variieren die Bezeichnungen hinsichtlich des Abschnitts im Spannungs-Dehnungs-Diagramm (KORHONEN 2011 [133]).

### 2.5.1.4 E-Modul (E)

Der anfänglich lineare Anstieg der Dehnung ( $\varepsilon$ ) in Abhängigkeit der Spannung ( $\sigma$ ) wird als E-Modul ( $E$ ) bezeichnet. Hier folgt die Dehnung dem Hookeschen Gesetz und steigt proportional zur Spannung

$$E = \sigma / \varepsilon.$$

Ist eine hohe Spannung für eine bestimmte Dehnung erforderlich, besitzt das Material einen hohen E-Modul. Es wird gemeinhin als „steif“ bezeichnet, während ein niedriger E-Modul „weiches“ Gewebe charakterisiert (BEER 2004 [26]; BRINCKMANN 2000 [34]; KORHONEN 2011 [133]).

Der E-Modul für Knorpel kann direkt aus einem *unconfined* Kompressionsversuch bestimmt werden. Bei Indentationsversuchen kann der E-Modul aus dem Indentorradius, der Knorpelhöhe, der Steigung aus dem Equilibrium-Spannungs-Dehnungs-Diagramm, der Poisson-Zahl und einem Skalierungsfaktor berechnet werden (HAYES 1972 [94]; JURVELIN 1990 [109]; KEMPSON 1971 [122]; KORHONEN 2002 [132]).

### **2.5.1.5 Aggregat-Modul ( $H_a$ )**

Der Aggregat-Modul ist eine Maßeinheit für die Steifigkeit von Knorpelgewebe im Equilibrium während eines *confined* Kompressions- und Indentationsversuchs. Er beschreibt somit die Steifigkeit der soliden Matrix, wenn kein Flüssigkeitsfluss mehr stattfindet. Er ist umso höher, je steifer das Gewebe ist (MANSOUR 2003 [169]).

Der Aggregat-Modul kann direkt aus einem *confined* Kompressionsversuch oder indirekt über eine Formel aus einem Indentationsversuch bestimmt werden (ARMSTRONG 1982 [9]; KORHONEN 2002 [132]).

### **2.5.1.6 Schermodul/Schubmodul**

Unter Schubmodul versteht man eine Materialkonstante, die die elastische Deformation eines Materials infolge einer Scherkraft, also einer tangential zur Oberfläche wirkenden Kraft, beschreibt (DRANSFELD 2005 [61]). Er wird Equilibrium Schermodul genannt, wenn er während des Equilibriums des Knorpels bestimmt wird.

### **2.5.1.7 Poisson-Zahl ( $\nu$ )**

Die Poisson-Zahl beschreibt das negative Verhältnis zwischen relativer lateraler Ausdehnung und relativer axialer Längenänderung. Wird also auf ein Material eine axiale Kraft angelegt, dehnt es sich nicht nur in Krafrichtung, sondern auch seitlich aus (BEER 2004 [26]; DRANSFELD 2005 [61]). Sie kann direkt optisch aus einem *unconfined* Kompressionsversuch bestimmt werden (JURVELIN 1997 [111]).

### **2.5.1.8 Hydraulische Permeabilität ( $K$ )**

Als hydraulische Permeabilität wird die Durchlässigkeit eines Gewebes für Flüssigkeiten bezeichnet. Bezogen auf kartilaginäres Gewebe beschreibt die Permeabilität die Durchlässigkeit der Matrix für den Flüssigkeitsstrom. Sie ist abhängig von der Porosität und der Porengröße, die im Knorpel relativ gering ist (MAROUDAS 1968 [171]). Die Permeabilität variiert mit

dem Ionengehalt und der Zusammensetzung der flüssigen Phase und nimmt zu den tieferen Knorpelschichten hin ab (BOSCHETTI 2004 [32]; MAROUDAS 1968 [171]). Bei Kompression und mit der Dauer der Kompressionsbelastung verringert sich die Permeabilität (TORZILLI 1976 [255]).

Die Eigenschaften der intrinsischen, flussunabhängigen Matrix werden mit Hilfe des E-Moduls, des Aggregat-Moduls, des Schermoduls und der Poisson-Zahl beschrieben. Die Eigenschaften der flüssigen Phase werden durch die Permeabilität bestimmt (MANSOUR 2013 [170]).

### 2.5.1.9 Kriechen

Wird auf einen Körper eine konstante Spannung ausgeübt, verformt sich der Körper kontinuierlich. Dieser Vorgang wird als Kriechen bezeichnet (Abbildung 9). Knorpelgewebe zeigt Kriechverhalten, wenn unter einer konstanten Belastung so lange Wasser in unbelastete Knorpelregionen und den artikulären Spalt gedrückt wird, bis sich ein Gleichgewicht zwischen Belastung und osmotischem Druck eingestellt hat. Der Knorpel befindet sich im Equilibrium und wird unter der konstanten Last nicht mehr tiefer eingedrückt (KEMPSON 1971 [122]; Mow 1989 [189]; Mow 2002 [190]).

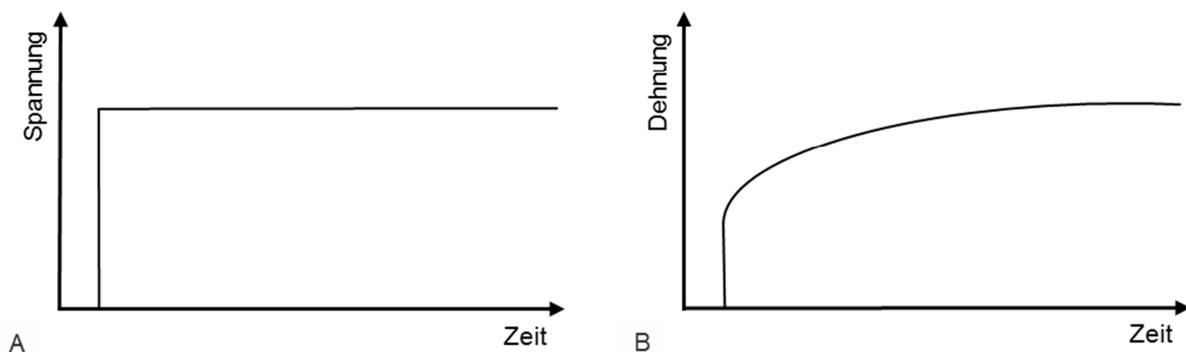


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Kriechens: A) Über eine definierte Zeit wird eine konstante Last (Spannung) aufgebracht und gehalten. B) Das Prüfgewebe wird dabei eingedrückt bis sich ein Gleichgewicht zwischen Belastung und Gegenkräften einstellt. Die Dehnungskurve erreicht ein Plateau: Das Gewebe wird nun nicht weiter eingedrückt.

### 2.5.1.10 Relaxation

Wird ein Material, wie artikulärer Knorpel, plötzlich gedehnt und die Dehnung konstant gehalten, verringern sich die hierdurch entstandenen Spannungen kontinuierlich bis sich ein Gleichgewicht zwischen Deformationskraft und den Spannungen einstellt. Dieses Phänomen nennt man Relaxation (Abbildung 10) (Mow 2002 [190]; Mow 1980 [193]; OERTEL 2008 [203]).

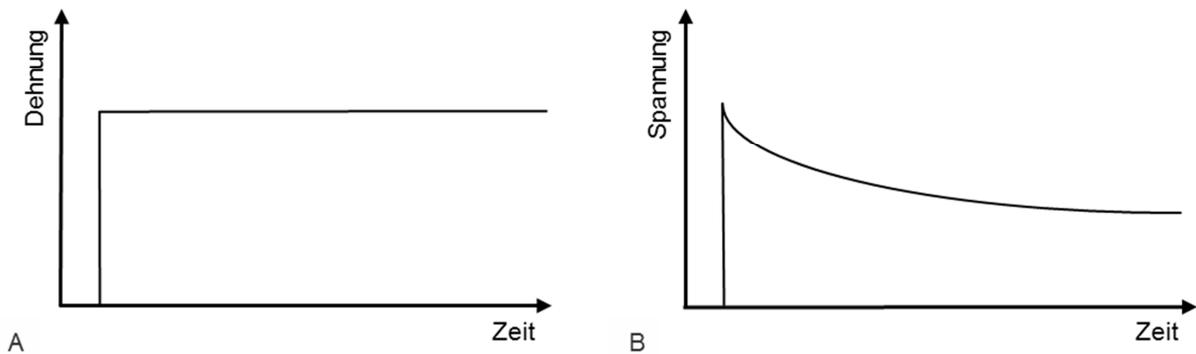


Abbildung 10: Schematische Darstellung der Relaxation: A) Über eine definierte Zeit wird eine konstante Dehnung aufgebracht und gehalten. B) Das Prüfgewebe zeigt dabei einen Spannungsabfall bis sich ein Gleichgewicht zwischen Dehnung und Gegenkräften einstellt. Die Spannungskurve erreicht ein Plateau: Das Gewebe wird nun nicht weiter deformiert.

Wird Knorpelgewebe nach einer Dehnungs- oder Spannungsbelastung wieder entlastet, so zeigt es Hystereseverhalten.

### 2.5.1.11 Hysterese

Hysterese beschreibt das verzögerte Wirken einer verursachenden veränderlichen Kraft (FUNG 1993 [78]). Das Materialverhalten hängt also auch von den vergangenen Belastungen und nicht nur von der gegenwärtigen Belastung ab. Somit nehmen Belastungs- und Entlastungskurve nicht denselben Verlauf. Ursache ist der Energieverlust durch Reibungskräfte innerhalb des Gewebes. Die Hysterese, oder auch der Energieverlust, ist durch die Fläche unter der Spannungs-Dehnungs-Kurve veranschaulicht (Abbildung 11) (BIECHLER 2013 [30]).

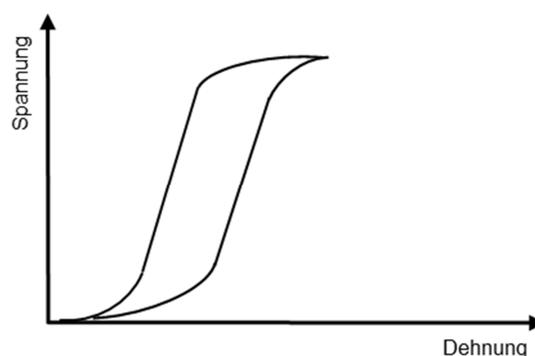


Abbildung 11: Schematische Darstellung einer Hysteresekurve.

### 2.5.1.12 Erholungsverhalten

Das Erholungsverhalten beschreibt den Wegverlauf der Knorpeloberfläche bei Entlastung, also das Wiederaufrichten des Knorpels nach Belastung durch den Rückstrom von Flüssigkeit (Abbildung 12) (KEMPSON 1971 [122]; MOW 2002 [190]; TORZILLI 1976 [255]). Entlastetes

Knorpelgewebe zeigt hierbei im Gegensatz zu ideal-viskoelastischen Materialien eine zeitverzögerte Rückstellung. Das Erholungsverhalten von artikulärem Knorpel nach Entlastung kann bis zur vollständigen Herstellung des Ausgangsvolumens mehrere Stunden (h) dauern (ECKSTEIN 1999 [67]; FUNG 1993 [78]; O'CONNELL 2011 [200]; VAN DER VEEN 2007 [259]). Die Fähigkeit zur Wiederaufrichtung nach Belastung liegt in der Elastizität der soliden Matrix und im Schwellverhalten des Knorpels begründet (s. u.) (MOW 2002 [190]; TORZILLI 1976 [255]).

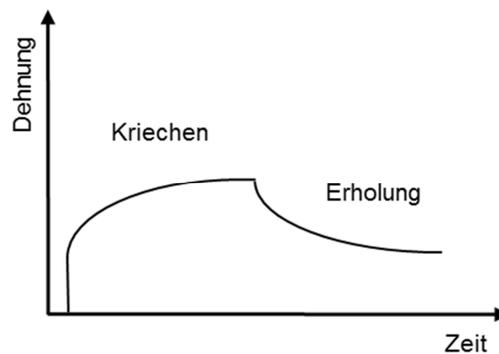


Abbildung 12: Schematische Darstellung einer Kriecherholung. Während des Kriechens wird der Knorpel zunehmend komprimiert, bei Entlastung richtet der Knorpel seine ursprüngliche Höhe (h) wieder auf, man spricht von Erholung.

### 2.5.1.13 Schwellverhalten

Das Schwellverhalten von Knorpelgewebe wird durch die hohe Dichte der negativ geladenen Seitenketten der PGs hervorgerufen. Die Dichte der negativen Ladungen dieser Seitenketten wird als FCD bezeichnet. Um die Ladung auszugleichen, werden frei mobile Kationen, wie  $\text{Na}^+$ , angezogen, um die Elektroneutralität aufrecht zu erhalten. Den Kationen folgt aufgrund des osmotischen Druckgradienten Wasser passiv nach. Diese Hydratation, also das Schwellverhalten, wird durch das Kollagennetzwerk limitiert (BADER [17]; BASTIAANSEN-JENNISKENS 2008 [25]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MAROUDAS 1968 [171]; MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1977 [177]; SALTER 1998 [218]). Das Knorpelgewebe befindet sich somit auch im unbelasteten Zustand in Vorspannung (SETTON 1999 [228]). Diese durch das Schwellverhalten bedingte Vorspannung des Kollagennetzwerkes beträgt in unbelastetem bovinem, adultem Knorpel etwa 25 kPa, in humanem Knorpel etwa 35 kPa (HAN 2011 [91]).

Zusätzlich zu den Eigenschaften der soliden Matrix kommt auch dem Schwellverhalten eine entscheidende Funktion bei der Widerstandsfähigkeit gegen Kompressionsbelastung zu (LE 2008 [142]; MOW 1998 [188]). Der osmotische Druck trägt im Equilibrium neben der soliden Matrix zwischen 13 % und 22 % zur Widerstandsfähigkeit gegen die Belastung bei (SUN 2004 [249]). Untersuchungen zeigen, dass Knorpelgewebe in hypotonen Lösungen Wasser aufnimmt und in hypertonen Lösungen Flüssigkeit an die Umgebung abgibt (EISENBERG 1985 [68]; FLAHIFF 2002 [73]; NARMONEVA 2002 [195]; SETTON 1999 [228]). Das Schwellverhalten

kann auch durch Be- und anschließende Entlastung untersucht werden (MOW 1989 [189]; STEINMEYER 1999 [243]).

## 2.5.2 Knorpelmodelle

Knorpelgewebe ist ein anisotropes und inhomogenes Gewebe (JURVELIN 2003 [112]; ZHANG 2008 [274]). Inhomogen bedeutet, dass sowohl seine Struktur als auch seine mechanischen Eigenschaften tiefenabhängig sind (CHEN 2001 [49]; KORHONEN 2008 [130]; MCLEOD 2013 [181]; MOW 2002 [190]; SCHINAGL 1997 [225]; WILSON 2005 [266]; WU 2002 [270]). Ein Material ist anisotrop, wenn es richtungsabhängige Eigenschaften besitzt. Die oberflächliche Zone weist beispielsweise eine hohe Zugfestigkeit, jedoch einen geringen E-Modul unter Kompression auf (HUANG 2003 [100]; SCHINAGL 1997 [225]).

### 2.5.2.1 Elastisches Modell

Frühe Modelle beschreiben kartilaginäres Gewebe als isotrop und elastisch. Dieses Modell kann jedoch lediglich das initial elastische Verhalten und das Verhalten im Gleichgewichtszustand beschreiben (HAYES 1972 [94]; MAK 1987 [167]). Gelenkknorpel kann hingegen als multiphasisches Gewebe aufgefasst werden (LI 1999 [153]; LU 2010 [161]).

Daher entwickelte man später verschiedene Ansätze, um das zeitabhängige, nichtlineare Kriech- und Spannungsrelaxationsverhalten mittels viskoelastischen Modellen zu erklären (KEENAN 2013 [118]; MOW 1989 [189]; MOW 1980 [193]).

### 2.5.2.2 Viskoelastisches Modell

Als Viskoelastizität wird ein sowohl elastisches als auch viskoses Materialverhalten definiert. Es zeigt bei konstanter Belastung oder Deformation eine zeitabhängige, nichtlineare Reaktion (KEMPSON 1971 [122]). Zur Veranschaulichung viskoelastischer Materialien werden in der Literatur Feder-Dämpfersysteme verwendet. Hierbei symbolisiert die Feder elastisches Verhalten und der Dämpfer viskoses Verhalten (Abbildung 13) (KORHONEN 2011 [133]; SOLTZ 2000 [238]).

Mehrere Wissenschaftler konnten zeigen, dass Knorpelgewebe neben viskoelastischem Materialverhalten unter Druckbelastung Wasser verliert und wieder absorbiert, wenn es von Flüssigkeit umgeben ist. Somit inkludieren ideal viskoelastische Modelle nicht den interstitiellen Flüssigkeitsfluss. Daher wurden diese Modelle durch verschiedene pro- und biphasische Modelle erweitert (LI 1999 [153]; MOW 1980 [193]; STOKES 2011 [245]).

### 2.5.2.3 Biphasisches Modell

Daraufhin wurde das biphasische Modell entwickelt, um den Einfluss des interstitiellen Flüssigkeitsstroms auf das mechanische Verhalten von Knorpel zu berücksichtigen (MAK 1987 [167]; Mow 1989 [189]; Mow 1980 [193]; SUH 1995 [247]).

Gemäß des biphasischen Modells existieren zwei Phasen: Eine flüssige, inkompressible Phase und eine feste, inkompressible, poröspermeable Phase. In den ersten Experimenten wird die feste Phase noch als streng elastisch und linear betrachtet (Mow 1980 [193]). Die flüssige Phase wird durch den Wassergehalt bestimmt. Flüssigkeit fließt durch die permeable Matrix, wenn aufgrund von mechanischen Deformationen ein Druckgradient entsteht. Die feste Phase wird durch den Gehalt an Kollagenen, Proteinen, hier vor allem den PGs, und Chondrozyten, hervorgerufen, also durch die porig-permeable Matrix (MAK 1987 [167]; Mow 1980 [193]). Aufgrund hoher Reibungswiderstände zwischen den PGs und der Flüssigkeit erfolgt ein moderater Flüssigkeitsfluss, der im Laufe der Zeit zunächst stark zunimmt. Die Last wird zunehmend von der flüssigen auf die makromolekulare, feste Phase transmittiert. Dies wird auch als Kriechen oder Spannungsrelaxation bezeichnet (GARNOV 2010 [80]; HUDELMAIER 2001 [102]; Mow 2005 [192]). Das biphasische Modell wurde später durch ein biphasisch-poroelastisches Modell erweitert (MAK 1987 [167]).

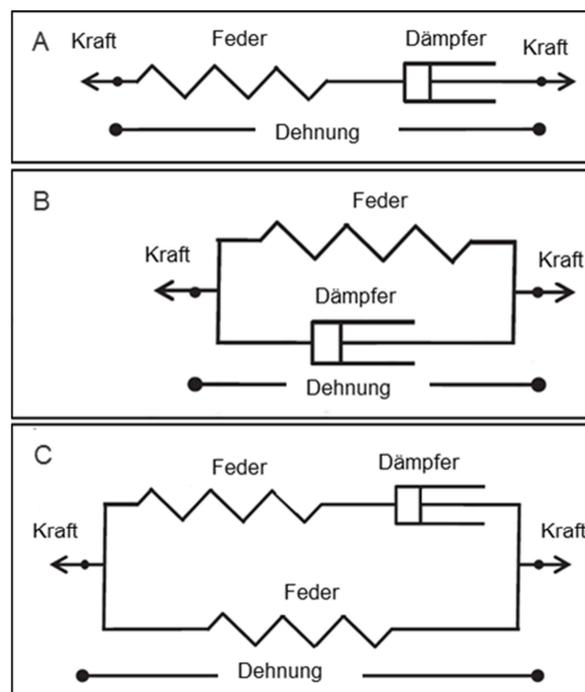


Abbildung 13: Viskoelastische Modelle zur Veranschaulichung des biomechanischen Verhaltens von Knorpelgewebe: A) Maxwell-Modell, B) Voigt-Modell, C) Kelvin-Modell (nach KORHONEN 2011 [133]; Mow 2005 [192]).

#### 2.5.2.4 Biphasisches poroelastisches Modell

Das biphasische, poroelastische Modell berücksichtigt zusätzlich intrinsische, nichtlineare und viskoelastische Eigenschaften der Matrix (MAK 1987 [167]; SETTON 1993 [229]).

Gemäß dem poroelastischen Modell weist Gelenkknorpel zu Beginn einer Lastübertragung initial inkomprimierbares, elastisches Verhalten auf. Bei länger andauernder Druckbelastung wird die interstitielle Flüssigkeit durch die poröse Matrix gepresst (MAK 1987 [167]; SETTON 1993 [229]).

#### 2.5.2.5 Triphasisches Modell

Das triphasische Modell differenziert zudem die Ionenphase als dritte Phase, um den osmotischen Druck, den Ionentransport und andere elektrokinetische Aspekte zu berücksichtigen. Die Ionenphase, erzeugt durch die gelösten Elektrolyte in der interstitiellen Flüssigkeit, wird unter anderem für das Schwellverhalten von Knorpelgewebe verantwortlich gemacht (ATESHIAN 2004 [10]; LAI 1991 [140]). Es wurden noch weitere Modelle entwickelt, die beispielsweise auch das inhomogene sowie das mechanische Verhalten der Kollagenfasern berücksichtigen (GUPTA 2009 [88]; LI 2000 [152]).

Zusammenfassend formt die Interaktion des kollagenen Netzwerkes mit den PGs und deren Seitenketten eine poröse, solide Matrix. Die Zwischenräume sind mit gelösten Ionen und Wasser gefüllt (SALTER 1998 [218]). Initial nach Lastapplikation kann Knorpelgewebe als monophasisches, elastisches Material angesehen werden (MAK 1987 [167]). Die Last wird nahezu ausschließlich von der flüssigen Phase getragen. Dabei erlaubt die relativ geringe Porengröße der permeablen Matrix nur den Durchtritt von Wasser unter Entstehung hoher Reibungskräfte (LU 2008 [159]). Folglich reichern sich die Proteine und Polysaccharide unter Kompression in der verbleibenden Flüssigkeit an (TORZILLI 1976 [255]). Der Flüssigkeitsfluss verläuft nichtlinear (LU 2008 [159]). Schließlich wird die Last auf die solide Matrix transmittiert (MOW 2002 [190]; MOW 1980 [193]). Nach Entlastung zeigt das Knorpelgewebe Erholungsverhalten, es richtet sich wieder auf (KEMPSON 1971 [122]; MOW 1989 [189]; TORZILLI 1976 [255]). Die Erholung erfolgt aufgrund des Schwellverhaltens des Knorpels, hervorgerufen durch die FCD und dem osmotischen Gradienten. Zudem kommen dem Schwellverhalten und weiteren elektromechanischen Prozessen eine entscheidende Rolle bei der Widerstandsfähigkeit gegen Kompressionsbelastung zu (BADER [17]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MAROUDAS 1968 [171]; MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1977 [177]; SALTER 1998 [218]).

### 2.5.3 Mechanische Kennwerte

Bei Knorpelgewebe wurde ein E-Modul zwischen 0,45 und 0,80 MPa gefunden. Der E-Modul von Stahl liegt beispielsweise bei 200 Gigapascal (GPa), für Holz bei ungefähr 10 GPa und für Meniskus zwischen 0,1 bis 0,6 MPa (MANSOUR 2003 [169]). Nach GUILAK 1999 liegt der E-Modul von isolierten Chondrozyten bei etwa 0,6 kPa (GUILAK 1999 [86]).

Knorpeldicke, Steifigkeit, Poisson-Zahl, Permeabilität und Komposition der Matrix, Höhe der Dehnung/Last und die Belastungsfrequenz nehmen Einfluss auf die Charakteristik des Flüssigkeitsflusses. Somit resultieren unterschiedliche Spannungs-Dehnungs-Kurven aus unterschiedlichen Dehnungsraten (LI 2003 [149]; MOW 1984 [191]).

Der Aggregat-Modul humaner Femurkondylen liegt lateral bei 0,70 MPa (SA 0,23 MPa) und medial bei 0,49 MPa (SA 0,11 MPa), in der Trochlea bei 0,53 MPa (SA 0,09 MPa) und in der Patella bei 0,42 MPa (ATHANASIOU 1991 [14]; FROMSON 1997 [77]).

Der E-Modul unter Kompression beträgt zwischen 0,13 und 1,91 MPa (*confined* Kompression) in der humanen Patella (ARMSTRONG 1982 [9]).

Der Zugmodul variiert in Abhängigkeit der Testlokalisierung und der zonalen Schicht zwischen 0,93 MPa (SA 0,42 MPa; Trochlea; tiefe Zone) und 20,67 MPa (SA 3,01 MPa; Trochlea; oberflächliche Zone) (AKIZUKI 1986 [4]).

Die Permeabilität in der humanen Patella variiert zwischen 0,05 und  $1,95 \times 10^{14}$  m<sup>4</sup>/Ns (ARMSTRONG 1982 [9]). In der lateralen Femurkondyle liegt sie bei  $1,18 \times 10^{15}$  m<sup>4</sup>/Ns (SA  $0,21 \times 10^{15}$  m<sup>4</sup>/Ns), in der medialen Femurkondyle bei  $1,14 \times 10^{15}$  m<sup>4</sup>/Ns (SA  $0,16 \times 10^{15}$  m<sup>4</sup>/Ns) und in der Trochlea bei  $2,17 \times 10^{15}$  m<sup>4</sup>/Ns (SA  $0,73 \times 10^{15}$  m<sup>4</sup>/Ns) (ATHANASIOU 1991 [14]).

Die Poisson-Zahl variiert zwischen 0,15 (SA 0,04) in der Patella und 0,30 (SA 0,07) in der medialen Tibia (KIVIRANTA 2006 [126]).

Die durch den osmotischen Druck bedingte Vorspannung des Kollagenetzwerkes liegt in unbelastetem bovinem Knorpel bei etwa 25 kPa, in humanem Knorpel bei etwa 35 kPa (HAN 2011 [91]).

Mehrere wissenschaftliche Arbeiten konnten jedoch eine starke Varianz in den mechanischen Eigenschaften im Interspeziesvergleich, den unterschiedlichen Gelenken und den Lokalisationen innerhalb eines Gelenks postulieren (Tabelle 12 (Anhang Seite 121)) (ADAM 1998 [2]; COHEN 1999 [52]; FROMSON 1997 [77]; JURVELIN 2000 [110]; KEMPSON 1971 [124]; KIVIRANTA 2006 [126]; LYYRA-LAITINEN 1999 [165]; SONG 2006 [239]; SWANN 1993 [250]).

## **2.6 Mechanische Eigenschaften des arthrotischen Knorpels**

Arthrotisches Knorpelgewebe weist veränderte biomechanische Eigenschaften auf (Tabelle 1 Seite 30).

### **2.6.1 Steifigkeit**

Aufgrund des geringeren PG-Gehalts und der erhöhten Permeabilität zeigt arthrotischer Knorpel eine geringere Steifigkeit (APPLEYARD 2003 [7]; COOK 2010 [55]; KEMPSON 1970 [123]; KEMPSON 1971 [124]; MAROUDAS 1976 [173]; MAROUDAS 1973 [176]; PRITZKER 2006 [212]; ROBERTS 1986 [215]).

### **2.6.2 E-Modul**

Degenerativ veränderter Knorpel weist einen geringeren Kriechmodul auf (KEMPSON 1971 [124]; KLEEMANN 2005 [128]; ROBERTS 1986 [215]). JONES 1999 konnte keine Veränderung des E-Moduls der Chondrozyten in osteoarthrotischem Knorpelgewebe feststellen (JONES 1999 [104]). Die perizelluläre Matrix zeigt ebenfalls einen verringerten E-Modul (ALEXOPOULOS 2005 [5]).

### **2.6.3 Zugmodul/Schermodul**

Ebenfalls konnte eine Abnahme des Zugmoduls zwischen physiologischem und manifest arthrotischem Knorpel sowie mit zunehmendem Alter festgestellt werden (AKIZUKI 1986 [4]; KEMPSON 1982 [121]; ROBERTS 1986 [215]). Auch hierbei ergab sich eine Inhomogenität mit zunehmender Tiefe der zonalen Schichten (AKIZUKI 1986 [4]). Die Abnahme der Zugsteifigkeit im Laufe des Alters deutet auf einen Rückgang der Festigkeit des kollagenen Fasernetzes hin (KEMPSON 1982 [121]). Es wurde auch eine Abnahme des Schermoduls nachgewiesen (APPLEYARD 2003 [7]).

### **2.6.4 Permeabilität**

Die Permeabilität verhält sich umgekehrt proportional zum PG-Gehalt. Arthrotischer Knorpel enthält weniger PGs, somit eine höhere Permeabilität (MAROUDAS 1976 [173]; MAROUDAS 1973 [176]; PRITZKER 2006 [212]; ROBERTS 1986 [215]).

## 2.6.5 Poisson-Zahl

Die Poisson-Zahl der perizellulären Matrix scheint unverändert zu sein (ALEXOPOULOS 2005 [5]).

## 2.6.6 Schwellverhalten

Das Schwellverhalten von degenerativ verändertem Knorpelgewebe wurde in Ionenlösungen extensiv untersucht. Man konnte beweisen, dass leicht und schwer degenerativ veränderter Knorpel im Gegensatz zu gesundem Knorpel signifikant mehr Wasser aufnimmt. Man vermutet, dass dies aus der Zerstörung des Kollagennetzwerks resultiert, welches das Schwellverhalten in gesundem Knorpelgewebe limitiert (MAROUDAS 1973 [176]; MAROUDAS 1977 [177]; ROBERTS 1986 [215]).

*Tabelle 1: Überblick über die Veränderung der mechanischen Kennwerte von arthrotischem Knorpelgewebe.*

Mechanische Parameter	Arthrotischer Knorpel
E-Modul (Kompression)	↓ (KEMPSON 1971 [124]; KLEEMANN 2005 [128]; ROBERTS 1986 [215])
Schermodul	↓ (APPLEYARD 2003 [7])
Zugmodul	↓ (AKIZUKI 1986 [4]; ROBERTS 1986 [215])
Schwellverhalten	↑ (MAROUDAS 1973 [176]; MAROUDAS 1977 [177]; ROBERTS 1986 [215])
Permeabilität	↑ (GUILAK 1994 [87]; MAROUDAS 1976 [173]; MAROUDAS 1973 [176]; SETTON 1999 [228])

## 2.7 Mechanische Testverfahren

Es werden diverse Testverfahren zur Erhebung der Materialeigenschaften von artikulärem Knorpel in der bisherigen Literatur beschrieben (BADER [17]). Diese Versuche können entweder *in vivo*, also am lebenden Organismus, oder *in vitro*, also außerhalb des lebenden Organismus, durchgeführt werden (BADER [17]; ECKSTEIN 1999 [67]; LEE 2008 [146]). Neben der Charakterisierung von Knorpel-eigenschaften wird die mechanische Testung im Tissue Engineering zur Stimulation biochemischer Prozesse und zur Verbesserung der mechanischen Widerstandsfähigkeit künstlicher Knorpelregenerate eingesetzt (BUTLER 2000 [43]; GEMMITI 2006 [81]; LEE 2010 [143]; LEE 2006 [144]).

## 2.7.1 In vivo Testverfahren

### 2.7.1.1 MRT

Die Bildgebung mittels MRT ermöglicht beispielsweise neben der Bestimmung des Knorpelvolumens (3D gradient-echo), der Orientierung der Kollagenfasern ( $T_2$  Mapping) und des PG-Gehalts (dGEMRIC;  $T_1\rho$ ), auch Aussagen über den Flüssigkeitsfluss zu treffen (Abbildung 14). Dies macht eine Differenzierung von gesundem und arthrotischem Gewebe möglich (BRAUN 2011 [33]; GOLD 2009 [83]; MATZAR 2013 [178]; NIEMINEN 2001 [198]). Zusätzlich zur Knorpelqualität kann die MRT-Bildgebung auch zur Evaluierung des biomechanischen Verhaltens von Knorpel herangezogen werden. So bestimmte die Forschergruppe um ECKSTEIN 1999 das Deformations- und Erholungsverhalten sowie den Flüssigkeitsaustausch von Kniegelenksknorpel (COLEMAN 2013 [53]; ECKSTEIN 2000 [65]; ECKSTEIN 1999 [67]; NISSI 2006 [199]; STANNARD 2013 [242]; WHEATON 2004 [265]).

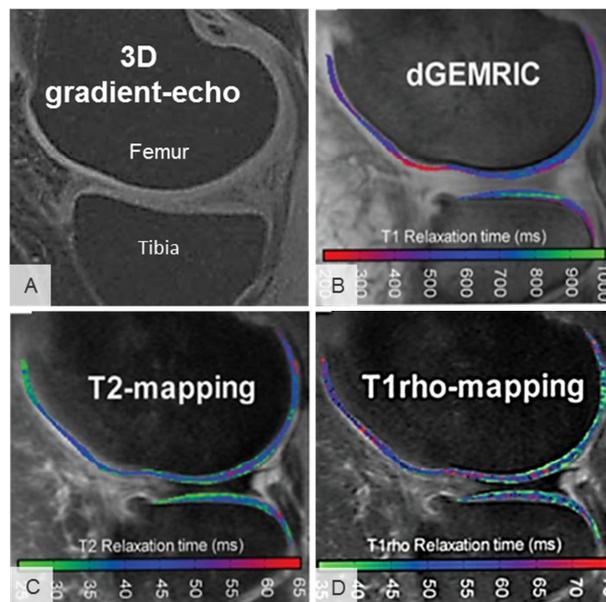


Abbildung 14: MRT-Bilder zur Evaluierung der Knorpelqualität im Kniegelenk in A) 3D gradient-echo, B) dGEMRIC, C) T2-mapping und D) T1rho-mapping (nach GOLD 2009 [83]; MATZAR 2013 [178]).

### 2.7.1.2 Arthroskopie

Eine weitere, allerdings invasive Evaluationsmöglichkeit der Qualität artikulären Knorpels *in vivo* ist die Untersuchung im Rahmen einer Arthroskopie (Abbildung 15). LYYRA 1999 entwickelte hierbei einen Kompressionsversuch zur Ermittlung von Knorpeldicke und Steifigkeit im Kniegelenk (LYYRA 1999 [164]; TÖYRÄS 2005 [256]).

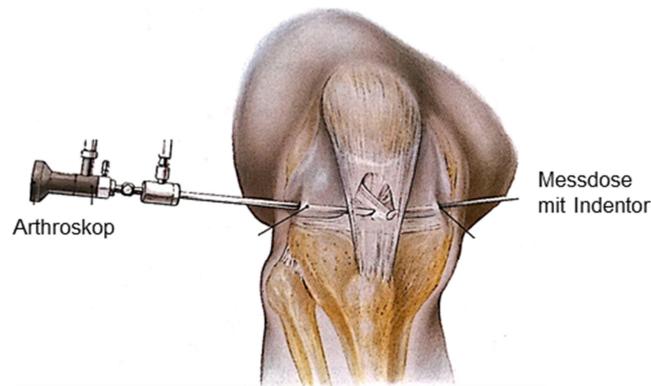


Abbildung 15: Schematische Darstellung der Charakterisierung der Indentationssteife von Knorpelgewebe mittels Arthroskopie am humanen Kniegelenk (nach SOBOTTA 2007 [237]).

## 2.7.2 In vitro Testverfahren

Neben Zug-, Scher- und Torsionskräften wirken vorrangig Druckbelastungen auf den Kniegelenksknorpel. In der biomechanischen Testung von Knorpelgewebe haben sich drei grundlegende Prüfmethode, der Kompressions-, der Torsions-/Scher- und der Zugversuch, etabliert. Aufgrund der physiologischen Belastungsart des Gelenkknorpels und der fundierten Literaturlage wird auch in dieser Arbeit ein Kompressionsversuch durchgeführt. Das Testverfahren wird in einem neuen Kapitel ausführlicher besprochen.

### 2.7.2.1 Zugversuch

Beim Zugversuch werden Proben mit einer definierten Querschnittsfläche mit konstanter Geschwindigkeit auseinandergezogen. Hierdurch wird die Probe um einen konstanten Weg pro Zeiteinheit gedehnt und in einem Spannungs-Dehnungs-Diagramm aufgetragen. Dies kann entweder kraft- oder weggeregelt erfolgen. Bei Zugversuchen an Knorpelproben wird die ossäre Seite der Probe in eine feste Vorrichtung und der kartilaginäre Teil in eine achsenverschiebbliche Vorrichtung eingespannt (Abbildung 16). Aus dem anfangs linearen Abschnitt der Spannungs-Dehnungs-Kurve kann der E-Modul bestimmt werden (CEUNINCK 2004 [45]; LITTLE 2012 [155]).

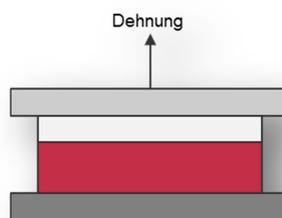


Abbildung 16: Schematische Darstellung eines Zugtests an einer Knorpelprobe (nach CEUNINCK 2004 [45]), (hellgrau: Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).

### 2.7.2.2 Scher-/Torsionstest

Im Rahmen von Scher- und Torsionsversuchen können die Viskoelastizität und der Schubmodul von Knorpelgewebe bestimmt werden. Bei einem Scherversuch wird eine axiale Kraft auf eine Probe ausgeübt, wodurch eine Verschiebung der Platte parallel zum Knorpel resultiert. Im Torsionsversuch wird das Testobjekt hingegen unter einem definierten Drehmoment um eine Achse verdreht (Abbildung 17) (CEUNINCK 2004 [45]).

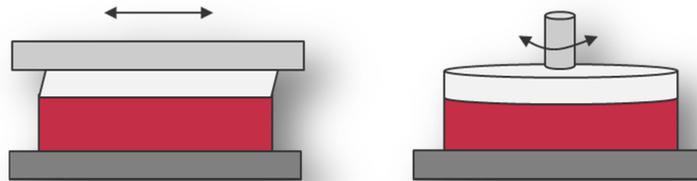


Abbildung 17: Schematische Darstellung eines Scherversuchs (linkes Bild) und eines Torsionsversuchs (rechtes Bild) an einer Knorpelknochenprobe (hellgrau: Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).

### 2.7.3 Kompressionsversuch

Ein Kompressionsversuch ist ein Versuch, bei dem das mechanische Verhalten bei Druckbelastung geprüft wird. Beim Kompressionsversuch haben sich analog zur Materialwissenschaft drei grundlegende Prüfprinzipien etabliert: *unconfined* Kompression, *confined* Kompression und Indentation (Tabelle 13 (Anhang Seite 122)) (LU 2008 [159]).

#### 2.7.3.1 *Unconfined* Kompression

Der Begriff *unconfined* deklariert einen Versuchsaufbau ohne geometrische Randbedingungen. Dies bedeutet, dass der Knorpel an seinen seitlichen Rändern frei positioniert ist. Dabei wird die Kraft über eine undurchlässige, rigide Platte auf das Knorpelgewebe übertragen. Dieses kann sich dadurch seitlich ausdehnen (Abbildung 18) (CEUNINCK 2004 [45]).

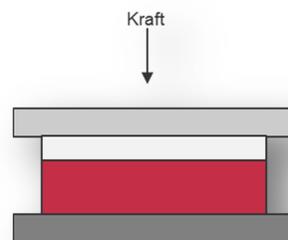


Abbildung 18: Schematischer Versuchsaufbau in *unconfined* Kompression an einer Knorpelprobe (hellgrau: Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).

### 2.7.3.2 Confined Kompression

Im Gegensatz zur *unconfined* Kompression, wird bei der *confined* Kompression ein Versuchsaufbau mit geometrischen Randbedingungen gewählt (Abbildung 19). Der Knorpel wird an seinen seitlichen Begrenzungen umrandet. Ein Flüssigkeitsfluss ist hier nur durch eine poröse Platte möglich (ARMSTRONG 1982 [9]; LU 2008 [159]).

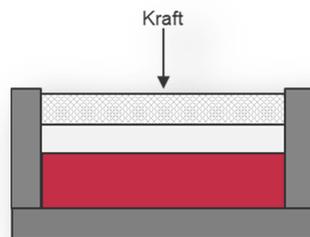


Abbildung 19: Schematische Darstellung der confined Kompression (hellgrau: poröse Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte und seitliche Begrenzung).

### 2.7.3.3 Indentation

Das Indentationsverfahren, auch Eindrückversuch, stellt aufgrund der frei wählbaren Probengeometrie die häufigste Messmethode der biomechanischen Eigenschaften von artikulärem Knorpel dar. Dabei wird über einen Prüfstempel eine Last oder Dehnung auf den Knorpel aufgetragen (Abbildung 20). Auch hier wird während der Versuchsdauer der Kraft- und Wegverlauf über die Zeit aufgezeichnet. Unter Zuhilfenahme eines mathematischen Modells können so der Aggregat-Modul, die hydraulische Permeabilität, der E-Modul und die Poisson-Zahl analysiert werden (MAK 1987 [167]; Mow 1989 [189]). Auch in dieser Arbeit soll der Eindrückversuch Anwendung finden.

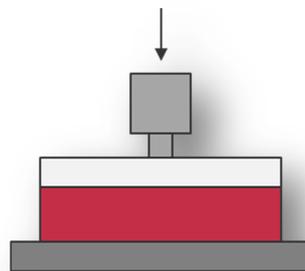


Abbildung 20: Schematische Darstellung eines Indentationsversuchs (hellgrau: Indentor; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).

## 2.8 Prüfprotokolle

Grundsätzlich finden in der Materialprüfung von Knorpelgewebe statische bzw. quasistatische und dynamische Prüfprotokolle Anwendung (Tabelle 14 (Anhang Seite 124)).

### 2.8.1 Statische Versuche

Statisch bedeutet, dass entweder eine Dehnung oder eine Belastung über einen längeren Zeitraum konstant gehalten wird.

#### 2.8.1.1 Kriechindentation

In der Kriechindentation, bei der eine Kraft konstant gehalten wird, kann das Kriechverhalten des Knorpels untersucht werden (Abbildung 21). Dabei wird die Position der Knorpeloberfläche, also die Dehnung, gemessen. Um einen Kontakt des Prüfstempels zur Knorpeloberfläche zu gewährleisten, wird zur Präkonditionierung meist eine Vorlast aufgebracht. Die Dauer der Präkonditionierung und die Versuchsdauer sind entweder durch eine Zeitvorgabe oder durch das Erreichen eines Equilibriums, definiert als eine bestimmte Wegänderung pro Zeit, festgesetzt (BARKER 1997 [21]; KEENAN 2013 [118]) (Tabelle 15 (Anhang Seite 126)).

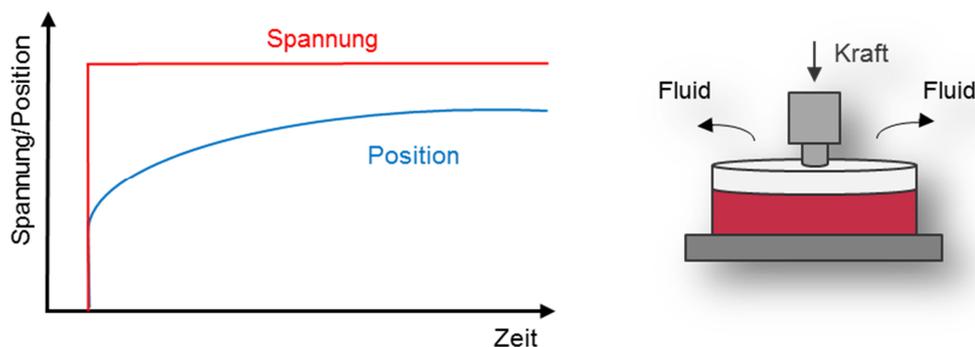


Abbildung 21: Schematische Darstellung eines Kriechversuchs. Unter einer konstant gehaltenen Spannung wird die Position der Knorpeloberfläche gemessen. Der Knorpel sinkt zunehmend ein, er zeigt Kriechverhalten.

#### 2.8.1.2 Spannungsrelaxation

Bei Spannungsrelaxationsversuchen wird positionsgeregelt eine bestimmte Dehnung konstant gehalten und die Spannung des Knorpelgewebes gemessen (Abbildung 22). Dabei werden entweder Lasten oder Dehnungen angefahren und der Stempel positionsgeregelt gehalten. So wird das Relaxationsverhalten des Knorpels, also die Spannung bis zur zunehmenden Einstellung eines Kräftegleichgewichts, untersucht. Dieses Gleichgewicht, verursacht durch den Flüssigkeitsverlust und den entgegenwirkenden osmotischen Druck, kann wiederum als eine definierte Kraftänderung pro Zeit bestimmt oder der Versuch zeitlich be-

grenzt werden (Tabelle 16 (Anhang Seite 127)).

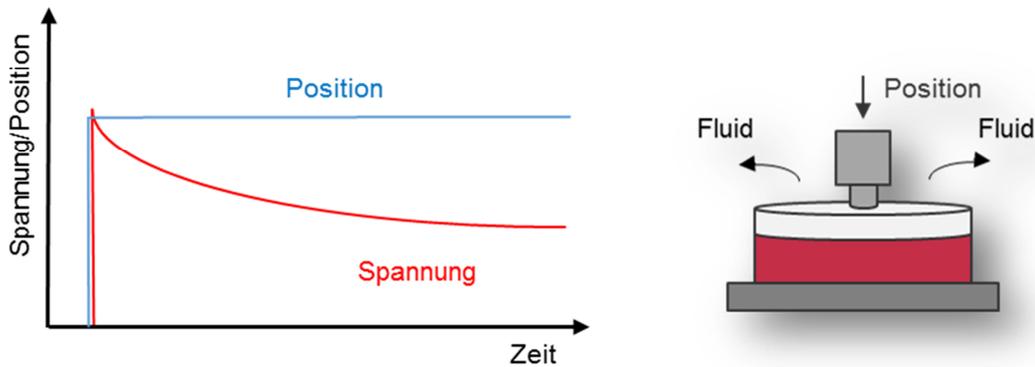


Abbildung 22: Schematische Darstellung eines Spannungsrelaxationsversuchs. Unter Halten einer konstanten Position wird der Spannungsabfall des Knorpelgewebes gemessen. Der Spannungsabfall erfolgt durch das Auspressen der interstitiellen Flüssigkeit bis sich ein Gleichgewicht einstellt.

### 2.8.1.3 Quasistatische Prüfverfahren

In quasistatischen Prüfprotokollen wird eine konstante Dehnung oder Kraft zunächst erhöht und anschließend für eine kürzere Zeit konstant gehalten. Statische bzw. quasistatische Versuche können auch als Rampenprofil durchgeführt werden. Dabei wird eine Dehnung oder eine Kraft schrittweise erhöht und jeweils wieder für eine bestimmte Zeit gehalten (Abbildung 23; Tabelle 14 (Anhang Seite 124)).

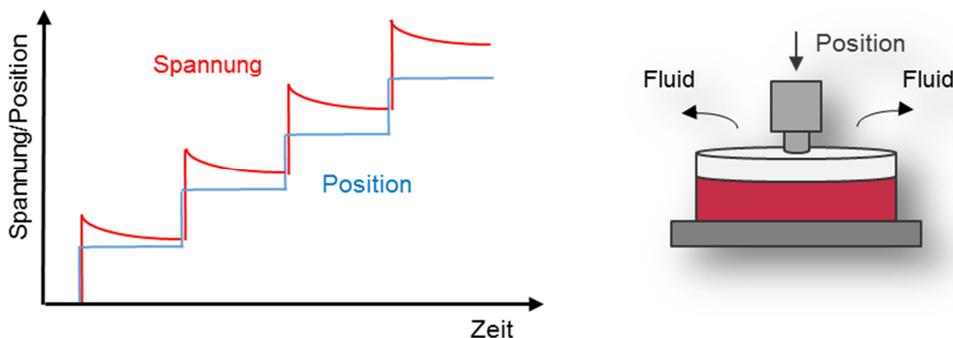


Abbildung 23: Schematische Darstellung eines Rampenprofils in einem quasistatischen Versuch. Hierbei wird die Position nur für kurze Zeit gehalten und schließlich erhöht.

## 2.8.2 Dynamische Versuche

### 2.8.2.1 Zyklische Kompression

Dynamische Belastungen können im Rahmen zyklischer Prüfungen, beispielsweise in Form von Sinusprofilen, durchgeführt werden. Im Gegensatz zur statischen Kompression kann bei

der dynamischen Kompression das Knorpelverhalten in Abhängigkeit von Zeit, Lastamplitude und Frequenz bestimmt werden (PARK 2004 [208]).

### **2.8.2.2 Impact Loading**

Eine weitere Möglichkeit der dynamischen Testung liegt in der Stoßbelastung, dem *Impact Loading*. In *in vitro* Versuchen wird eine definierte Dehnung oder Kraft auf den Knorpel mit relativ hoher Geschwindigkeit aufgebracht und sogleich wieder entfernt. Dies kann in Form einer einzigen supraphysiologischen Stoßbelastung oder in Form von wiederholten Stoßbelastungen untersucht werden. Aufgrund der zeitlichen Einschränkung kann kein Flüssigkeitsfluss stattfinden. *In vivo* Studien konnten belegen, dass wiederholtes *Impact Loading* zu degenerativen Veränderungen im Kniegelenk führt (BURGIN 2008 [41]; KOS 2011 [135]; STOLBERG-STOLBERG 2013 [246]).

## **2.8.3 Erholungsverhalten**

Aufgrund der methodischen Herausforderungen liegt in nur wenigen Publikationen der Fokus auf der Untersuchung des Erholungsverhaltens von Knorpelgewebe (Tabelle 17; Tabelle 18 (Anhang Seite 128 ff.)).

### **2.8.3.1 In vivo Studien**

Eine Untersuchungsmethodik stellt die Bildgebung mittels MRT dar. ECKSTEIN 1999 konnte so die Dickenzunahme des Knorpels im Kniegelenk nach statischen und dynamischen Belastungen zu verschiedenen Zeitpunkten aufzeichnen. Dieses Prüfsystem unterliegt allerdings zeitlichen und auflösungsbedingten Limitationen. Zum einen aufgrund der Positionierung der Probanden in das MRT und zum anderen aufgrund der Dauer der Erstellung der Schnittbilder. Auch kann der Dickenverlauf während der Belastungen nicht mittels MRT bestimmt werden (ECKSTEIN 1999 [67]).

### **2.8.3.2 In vitro Studien**

Bei den meisten *in vitro* Untersuchungen wird eine Dickenzunahme des Knorpels durch eine vollständige Entlastung observiert. Dies resultiert in einem Kontaktverlust des Indentors mit der Knorpeloberfläche. Somit kann zwar ein Erholungsverhalten des Knorpels beobachtet werden, der exakte zeitliche Verlauf lässt sich jedoch nicht bestimmen. In der bisherigen Literatur existieren nur wenige Publikationen, die im Rahmen eines Kriecherholungsversuchs den exakten Dickenverlauf nach Belastung aufzeichnen. Der Ortsverlauf der Knorpeloberfläche bis zur Erlangung der Ursprungsposition wird dabei kraftgeregelt bei einer möglichst geringen Last detektiert oder muss völlig entlastet untersucht werden (ATESHIAN 1997 [11];

ATHANASIOU 1994 [12]; ATHANASIOU 1991 [14]; GUILAK 1994 [87]; KEMPSON 1971 [122]; MOW 1989 [189]; SAUERLAND 2003 [221]; SAUERLAND 2007 [222]; SETTON 1993 [229]; STEINMEYER 1999 [243]). Auf dem Forschungsgebiet der Biomechanik von Bandscheiben rückt das Erholungsverhalten deutlich häufiger in den Fokus der Betrachtungen. Der Dickenverlauf wird dabei, entsprechend hoher physiologischer Vorlasten, mit einer relativ hohen Kraft von 20 N bestimmt (O'CONNELL 2011 [200]; VAN DER VEEN 2007 [259]).

### 2.8.3.3 Forschungsergebnisse

Das Erholungsverhalten ist von der Höhe, Dauer und Art der Belastung, der Entlastung und den Rahmenbedingungen abhängig (FUNG 1993 [78]). Der Kurvenverlauf von Kriechen und Erholung ist nicht identisch (MOW 1989 [189]). Während das Kriechverhalten durch eine aktive Druckbelastung hervorgerufen wird, ist das Erholungsverhalten von passiver Diffusion infolge des osmotischen Drucks abhängig (BARKER 2001 [22]; SALTER 1998 [218]; TORZILLI 1976 [255]). Die Datenlage hinsichtlich der Fähigkeit einer vollständigen Erholung von Bandscheiben und artikulärem Knorpel ist widersprüchlich. Während MOW 1989 und VAN DER VEEN 2007 eine vollständige Erholung beobachten konnten, wurde in Studien von ATHANASIOU 1991 und ATESHIAN 1997 keine vollständige Erholung festgestellt (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; MOW 1989 [189]; VAN DER VEEN 2007 [259]). Die Untersuchung des Erholungsverhaltens ist essentiell, um wiederholt Experimente an derselben Prüfstelle durchzuführen. Hinsichtlich des Tissue Engineering könnte das Erholungsverhalten der entscheidende Parameter sein, um eine langandauernde Qualität des Regenerats sicher zu stellen. Des Weiteren können so gesunder und degenerativer Knorpel unterschieden werden (MAROUDAS 1977 [177]).

## 2.9 Dickenbestimmung

Man unterscheidet vier standardisierte Messmethoden zur Evaluierung der Dicke artikulären Knorpels. Diese können invasiv und nichtinvasiv erfolgen. Die optische Dickenbestimmung kann sowohl invasiv als auch nichtinvasiv durchgeführt werden. Nichtinvasive Verfahren stellen die MRT-Bildgebung und der Ultraschall dar. Die Nadelindentation erfolgt hingegen invasiv.

### 2.9.1 Optisch

Invasiv kann die Dicke des Knorpels mittels Mikroskop bestimmt werden. Dabei wird an der Messstelle senkrecht zur Oberfläche eine Scheibe von 1 mm Durchmesser (d) aus der Knorpelknochenprobe exzidiert. Die Messung der Knorpeldicke erfolgt mikroskopisch durch einen integrierten Maßstab (JURVELIN 1995 [113]; SUH 2001 [248]). Nichtinvasiv kann die Knorpel-

dicke auch unter Verwendung eines Messschiebers ermittelt werden (STEINMEYER 1999 [243]). Bei dieser Methode kann jedoch nicht die Dicke der Messstelle selbst evaluiert werden. Zudem hängt sie von der Qualität des Untersuchers ab.

### 2.9.2 MRT

Bei der Bildgebung mittels MRT werden Atomkerne durch Magnetfelder und elektromagnetische Wechselfelder angeregt. Hierdurch entstehen elektrische Signale, aus welchen computerunterstützt ein Bild produziert wird. Die Vorteile des MRTs liegen in der Anwendbarkeit *in vivo* und *in vitro*. Zudem wurde eine Vergleichbarkeit der Messergebnisse mittels MRT und Nadelindentation gefunden (KOFF 2010 [129]). Allerdings unterliegt sie den anderen Messverfahren hinsichtlich der Dauer, der verhältnismäßig schwachen Auflösung und den Kosten (ECKSTEIN 1997 [62]; ECKSTEIN 2005 [64]; ECKSTEIN 1999 [67]).

### 2.9.3 Ultraschall

Eine vielversprechende Methode zur Dickenmessung *in vitro* scheint in der Ultraschalltechnik zu liegen. Dabei kann nichtinvasiv die Knorpeldicke von Proben *in vitro* bestimmt werden. Bei diesem Verfahren wird die Reflektion der Schallwellen an der Grenzfläche von Knorpel und subchondralem Knochen genutzt und die Laufzeit der Ultraschallwelle aufgezeichnet (ADAM 1998 [2]; CASTRIOTA-SCANDERBERG 1995 [44]; DISLER 2000 [59]; JURVELIN 1995 [113]; LAASANEN 2003 [138]; LEE 2008 [146]; MODEST 1989 [184]; NIEMINEN 2002 [197]; YAO 1999 [272]).

### 2.9.4 Nadelindentation

Die Nadelindentation findet in der biomechanischen Testung zur Dickenbestimmung von Knorpelgewebe häufig Verwendung. Die Nadel wird dazu nach erfolgter mechanischer Testung an der Kraftmessdose der Prüfmaschine installiert und mit einer konstanten Geschwindigkeit auf Höhe der exakten Prüfstelle auf die Knorpel-Knochen-Probe abgesenkt. Sobald die Nadelspitze die Knorpeloberfläche durchdringt, wird eine geringe Kraft detektiert. Erreicht die Nadel die Tidemark, kann ein Kraftsprung verzeichnet werden. Anhand des zweigipfligen Kraftanstiegs und des Wegverlaufs kann die Dicke der Knorpelschicht ermittelt werden (Abbildung 24) (JURVELIN 1995 [113]; YAO 1999 [272]).

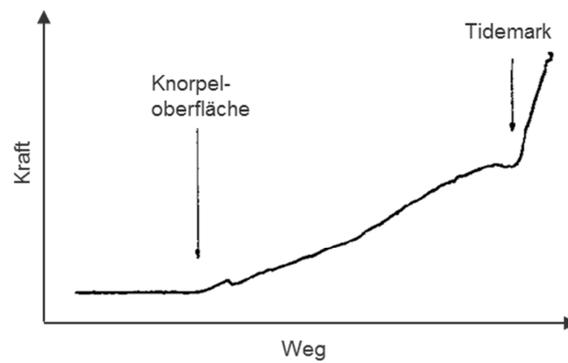


Abbildung 24: Kraft-Weg-Diagramm einer typischen Nadelindentation (nach JURVELIN 1995 [113]).

## 2.10 Randbedingungen

### 2.10.1 Tiermodell

Die biomechanische und histologische Testung findet zum einen am Tiermodell und zum anderen an humanem Knorpelgewebe Anwendung. Als Tiermodell dienen diverse Spezies wie Affen, Schweine, Hunde, Ziegen, Pferde, Schafe, Mäuse und Rinder, wobei boviner und humaner Knorpel die häufigsten Untersuchungsobjekte darstellen. Die Versuche werden meistens am Kniegelenk durchgeführt (Tabelle 19 (Anhang Seite 130)). In dieser Arbeit soll neben dem etablierten Rindermodell auch das Schafmodell Anwendung finden. Neben praktischen Vorteilen, wie einer unkomplizierten Haltung, sind Schafe ausreichend groß für die Gewinnung von Gewebe und für arthroskopische Eingriffe. Zudem ähnelt das Schaf in seiner biochemischen Komposition dem Menschen und soll sich in der Forschung der OA und im Tissue Engineering zunehmend etablieren (BURGER 2007 [40]; CHEN 2005 [48]; CHEVRIER 2009 [50]; STANNARD 2013 [242]).

### 2.10.2 Probengeometrie

In *in vitro* Versuchen etablierten sich hinsichtlich der Probengeometrie mehrere Möglichkeiten. Häufig werden in den bisherigen Publikationen Knorpelknochenzylinder (KKZ), Knorpelzylinder oder *in situ* Präparate verwendet (Abbildung 25; Tabelle 20 (Anhang Seite 132)). Während *in situ* Proben näher an den physiologischen Bedingungen liegen, finden die Zylinder bei operativen Transplantationsverfahren und dem Tissue Engineering weite Verbreitung (KATAKAI 2009 [115]; KLEEMANN 2006 [127]). Knorpel und subchondraler Knochen scheinen eine biomechanische Einheit zu bilden (RADIN 1970 [214]).

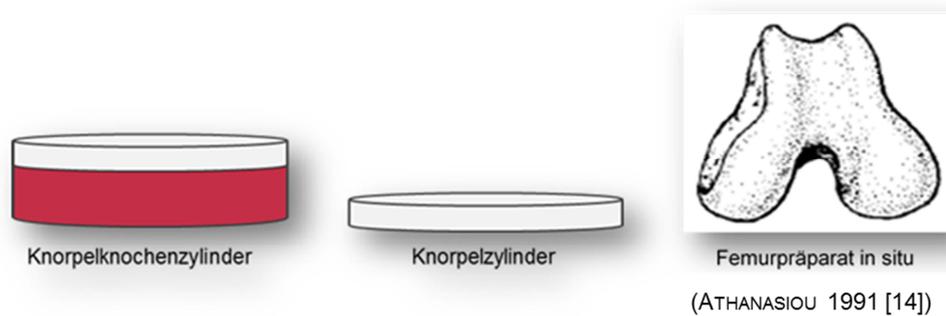


Abbildung 25: Schematische Darstellung der verwendeten Probengeometrien in in vitro Versuchen.

### 2.10.3 Lagerung/Einfrier- und Auftaumodalität

Auch hinsichtlich der Randbedingungen von Einfrier- und Auftaumodalitäten herrscht hohe Diversität. Proben werden entweder frisch getestet oder bei etwa  $-20\text{ °C}$  oder  $-80\text{ °C}$  bis zum Versuchstag gelagert (Tabelle 22 (Anhang Seite 135)). GWYNN 2002 konnte zeigen, dass Einfrieren die Kollagenstruktur von artikulärem Knorpel nicht verändert (GWYNN 2002 [89]). CHANGOOR 2010 konnte belegen, dass eine Lagerung bei  $4\text{ °C}$  für 6 Tage keinen Einfluss auf die biomechanischen und elektromechanischen Eigenschaften von Knorpelgewebe nimmt. Zudem zeigt ein Einfrierzyklus keine Auswirkungen auf die biomechanischen Charakteristika von hyalinem Knorpel (CHANGOOR 2010 [47]). Weitere Publikationen weisen darauf hin, dass eine Lagerung bei  $-80\text{ °C}$  die mechanische Charakterisierung von Knorpel beeinflusst (SZARKO 2010 [251]). Fraglich scheint der Einfluss zweier Einfrierzyklen, da hier die Forschungsergebnisse divergieren (ATHANASIOU 1991 [14]). Ebenso verändert die Auftaumodalität, v. a. bei hohen Temperaturen, möglicherweise die Testergebnisse (CHANGOOR 2010 [47]).

### 2.10.4 Indentorgeometrie

Auch bezüglich des Materials, der Geometrie und der Größe des Prüfstempels zeigt sich eine starke Varianz in der bisherigen Literatur (Tabelle 21 (Anhang Seite 133)). Grundsätzlich finden in der Materialforschung Pyramiden-, Kugel- und plane Zylinderindentoren Verwendung. Auf dem Gebiet der Knorpelforschung haben sich der Kugelindenter und der plane Zylinderindenter durchgesetzt. Rechteckige oder prismatische Indentoren finden lediglich vereinzelt Verwendung (Abbildung 26) (ROTHER 1995 [217]; SHARPE 2008 [231]). Es konnte dabei gezeigt werden, dass die Indentorgeometrie Einfluss auf die Messergebnisse nimmt (BAE 2006 [18]; ROTHER 1995 [217]). Die sphärische Indentorgeometrie eignet sich insbesondere für Testungen an dünnen Knorpeln, wie auch Schafsknorpel, da daraus eine geringere Verletzbarkeit und eine geringere Abhängigkeit von der Knorpeldicke als beim planen

Indentor resultiert (BAE 2006 [18]; LYYRA-LAITINEN 1999 [165]). Ein Nachteil des Kugelindentors liegt jedoch in der nicht exakt bestimmbarer Kontaktfläche zwischen Knorpelgewebe und Prüfstempel und somit einer erschwerten Erhebung des E-Moduls.

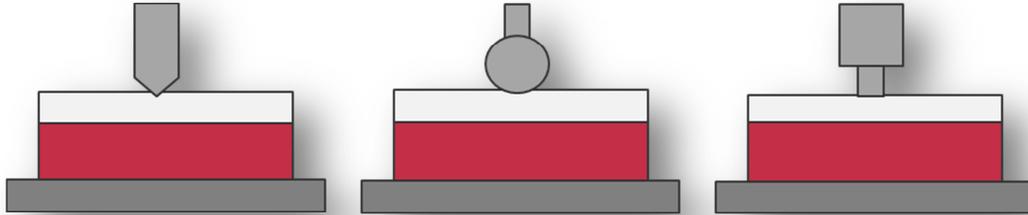


Abbildung 26: Schematische Darstellung eines Pyramiden-, Kugel- und Zylinderindentors über einem KKZ.

Um eine Verletzung der Integrität des Knorpels durch den planen Indentor zu vermeiden und die Kontaktfläche exakt definieren zu können, findet in dieser Arbeit ein Zylinderindentor mit abgeflachten Seitenrändern Anwendung (Abbildung 27) (LU 2010 [161]; WARNER 2001 [264]).

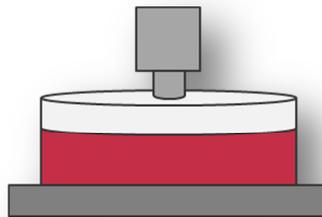


Abbildung 27: Schematische Darstellung des Zylinderindentors mit abgerundeten Ecken über einem KKZ.

Hinsichtlich des Materials des Prüfstempels werden rigide Stahlindentoren und rigide, poröse Indentoren verwendet. Bei porösen Indentoren kann je nach Porengröße und Porosität ein freier Flüssigkeitsfluss an der Prüfstelle stattfinden (ATHANASIOU 1991 [14]; LI 2006 [150]). Um einen freien Fluss nach mehreren Versuchen gewährleisten zu können, wird eine Reinigung via Ultraschallbad zwischen den Versuchen durchgeführt (LU 2004 [160]; Mow 1989 [189]).

### 2.10.5 Medium und Temperatur

Die Versuche werden meist in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung (PBS) durchgeführt. Bei einer langen Testdauer werden zudem Proteaseinhibitoren (PIs) hinzugefügt. Am häufigsten finden die Versuche bei Raumtemperatur statt (Tabelle 22 (Anhang Seite 135)).

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Testgerät

Die Versuche wurden an einer Universalprüfmaschine „*Tissue Charts*“, einem neu entwickelten, hochdynamischen Prüfsystem zur Charakterisierung von biologischem Gewebe, durchgeführt (Abbildung 28). Diese ermöglichte erstmals die kontinuierliche Aufzeichnung des Wegverlaufs der Knorpeloberfläche unter kraftgeregeltem Halten einer minimalen Tastkraft von 0,01 N (FÖHR 2012 [74]). Über einen Gleichstrommotor (EC-max 22, maxon Motor) und einem Motorregler (EPOS2 50/5, maxon motor AG, Sachseln, Schweiz) wird mithilfe einer hochempfindlichen Kraftmessdose (AG, Sachseln, Schweiz) kraftgeregelt eine Last appliziert. Bei der Kraftregelung ist die Beschleunigung auf maximal  $50 \text{ m/s}^2$  limitiert. Dies gewährleistet einen kontinuierlichen Kontakt mit der Knorpeloberfläche. Der Wegverlauf der Knorpeloberfläche während Kriechen und Erholung wird durch einen externen optischen Verschiebungssensor mit einer Auflösung von  $\pm 0,1 \text{ }\mu\text{m}$  (LIC-4007, Heidenhain GmbH, Traunreut, Deutschland) aufgezeichnet. Die orthogonale Orientierung der Knorpeloberfläche und des Indentors wird durch einen Kipptisch erreicht, der eine Kippung von  $20^\circ$  in jede Richtung erlaubt. Die orthogonale Ausrichtung wurde mit zwei mikroskopischen Kameras überprüft (DigiMicro 2.0, dnt GmbH, Dietzenbach, Deutschland).

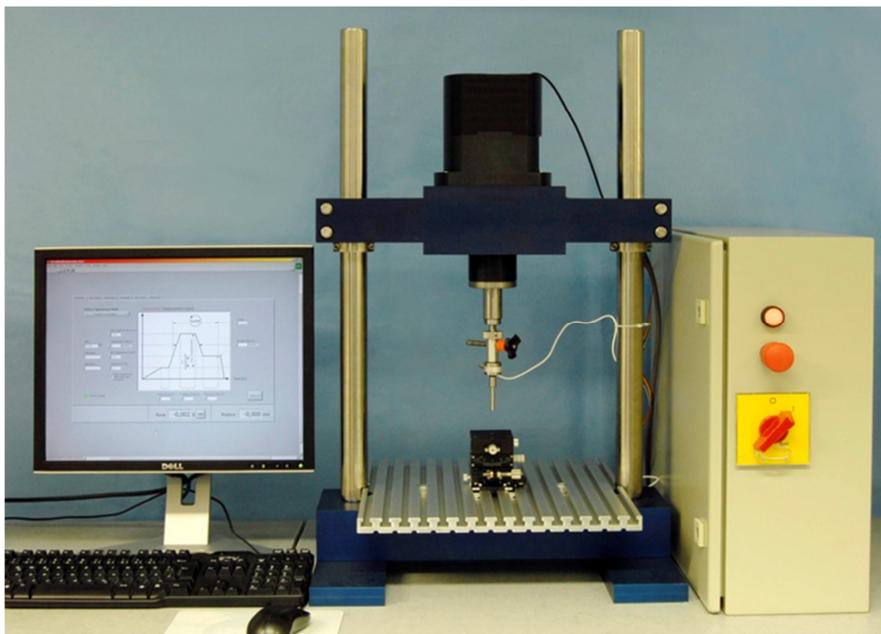


Abbildung 28: Prüfgerät „*Tissue Charts*“, mit welchem die Versuche dieser Arbeit durchgeführt wurden.

## 3.2 Vorversuche

### 3.2.1 Präparation der Proben

Kniegelenke vom frisch geschlachteten Lamm wurden innerhalb von 6 h unter Verwendung einer chirurgischen Pinzette, einer anatomischen Pinzette und eines Skalpells präpariert (Abbildung 29). Zunächst wurde die Kapsel eröffnet, die Patella sowie die muskulären und ligamentären Strukturen entfernt und die tibiale und femorale Diaphyse mittels Blattsäge durchtrennt. Anschließend erfolgte die Entnahme von KKZ mittels Stanzen. In dieser Arbeit wurden drei verschiedene Stanzmethoden erprobt.



Abbildung 29: Linkes Kniegelenk vom Lamm mit Skalpell, anatomischer und chirurgischer Pinzette.

#### 3.2.1.1 Arthrex-Stanze

Zunächst wurden KKZ mit einer herkömmlichen Arthrex-Stanze mit einem Innendurchmesser von 5 mm entnommen. Die osteochondralen Zylinder wurden durch Drehen gelöst und anschließend herausgedrückt. Die Zylinder konnten oftmals nur mit Hilfe eines Hammers aus der Stanze entfernt werden, wodurch hohe Kompressionskräfte direkt auf die Knorpeloberfläche appliziert wurden. Da bei der Erhebung präziser mechanischer Messungen die Integrität des Knorpelgewebes gewährleistet sein muss und somit eine möglichst schonende Probengewinnung im Vordergrund steht, wurde diese Methode verworfen.

#### 3.2.1.2 Stanze mit seitlicher Öffnung

Um eine knorpelschonende, für eine Kartographierung suffiziente und weniger aufwändige Probengewinnung zu erzielen, wurde eine weitere Methodik angewandt. Hierfür wurden Stanzen von 6 mm Durchmesser mit integrierter seitlicher Öffnung erworben (Abbildung 30 A und B), aus der die Proben mittels Pinzette und Trokar herausgenommen werden konnten. Es wurde eine Standbohrmaschine verwendet und die Stanze darin integriert. Diese Metho-

dik wurde verworfen, da die Verwendung in großem Materialverlust resultierte und trotz Kühlung mittels PBS eine hohe Hitzeentwicklung entstand. Hierdurch wurde das Knorpelgewebe bereits makroskopisch geschädigt (Abbildung 30 C).

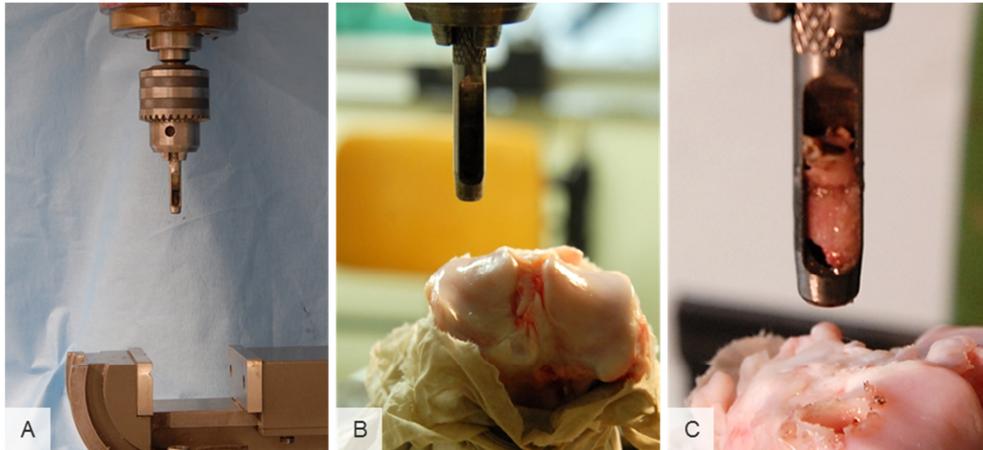


Abbildung 30: A) Standbohrmaschine und Stanze mit seitlicher Öffnung, B) eingespanntes Tibiaplateau, C) entnommene Stanze mit unsauberem Entnahmerand und durch Hitze zerstörtes Gewebe.

### 3.2.1.3 Bohrröhrchen

In einer weiteren Methode wurde ein Bohrröhrchen mit 5 mm Innendurchmesser und gezackten Enden verwendet (Abbildung 31). Die Stanzung der KKZ erfolgte ebenfalls an einer Standbohrmaschine (Abbildung 32) unter Befeuchtung mittels PBS. Die Bohrungen wurden in Femur und Tibia medial und lateral jeweils anterior, zentral und posterior durchgeführt. Im Femur wurde zusätzlich eine Stanze aus dem distalen Patellagleitlager entnommen. Anschließend wurde der Knochen 1 cm unterhalb der Knorpelschicht durchtrennt und die Zylinder von der ossären Seite entnommen (Abbildung 33). Bei der Verwendung dieser Technik stand die Gewährleistung der absoluten Integrität des Knorpels im Fokus. Die Proben wurden der Entnahmestelle entsprechend gekennzeichnet und in mit PBS gefüllten Eppendorf-Röhrchen bei -28 °C gelagert (Abbildung 34).



Abbildung 31: Bohrröhrchen aus Stahl (Innendurchmesser 5 mm) mit gezackten Enden.

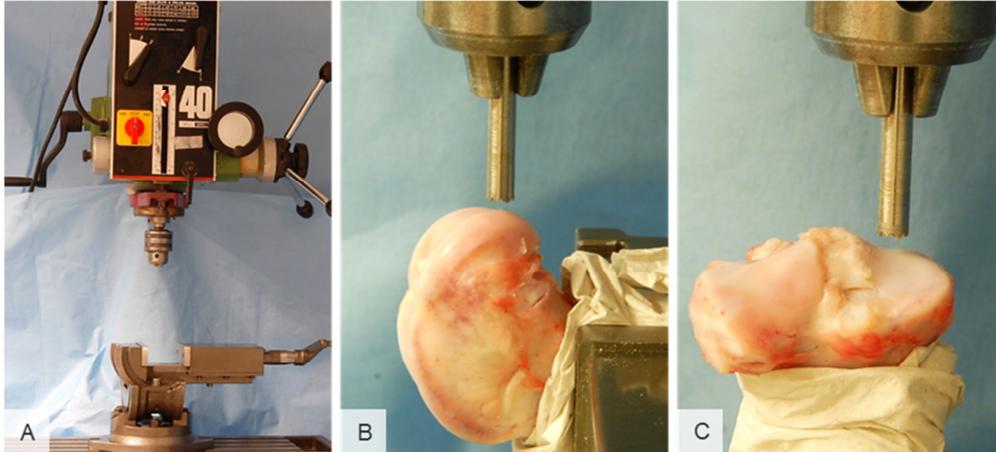


Abbildung 32: A) Frontalansicht der Standbohrmaschine, B) eingespanntes Femur, C) eingespannte Tibia mit Bohrröhrchen.

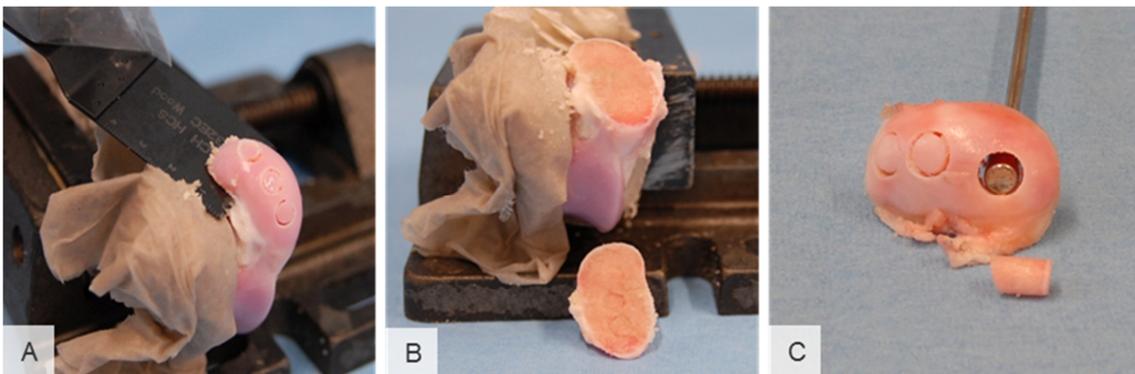


Abbildung 33: Gewinnung der KKZ durch A) und B) knöchernes Absägen einer Femurcondyle und C) ossäre Entnahme.

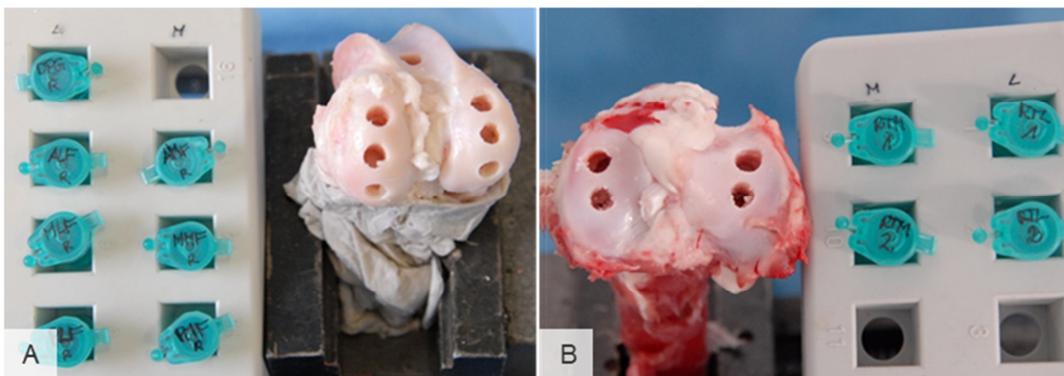


Abbildung 34: Dokumentation und Lagerung der KKZ von A) Femur und B) Tibia.

Bei der Verwendung dieser Stanztechnik verblieben bisweilen KKZ im Bohrröhrchen (Abbildung 35). Die Proben konnten nur destruktiv entfernt werden und mussten somit verworfen werden. Auch durch das Anschärfen der Bohrzacken mittels Feile konnte das Problem nicht behoben werden. Dies führte zu fehlenden Proben, die für eine vollständige Kartographie der Knorpeloberfläche obligat sind.

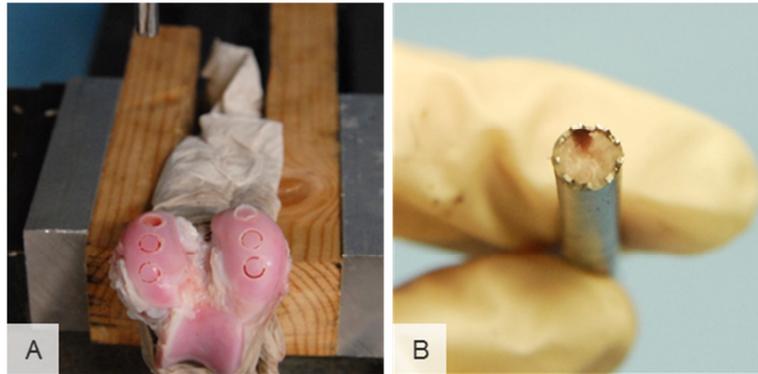


Abbildung 35: A) Eingespanntes Femur mit Verlust des lateralen, posterioren KKZ, B) im Bohrröhrchen verbliebener KKZ.

### 3.2.2 Statischer Kriecherholungsversuch

In Vorversuchen an bovinen Rinderpatellae wurde in einem statischen Prüfaufbau ein Kriecherholungsversuch durchgeführt. Das Prüfprotokoll wurde dabei an eine Publikation von Mow 1989 angelehnt. Er verwendete die Versuche, um mithilfe einer mathematischen Formel den Kurvenverlauf des Knorpels in einem biphasischen Model vorherzusagen (Mow 1989 [189]).

2 Kniegelenke vom frisch geschlachteten Jungbullen (15 Monate) wurden vom Schlachthof mit intaktem Kapselgewebe akquiriert und innerhalb von 10 h freipräpariert. Anschließend erfolgte die Entnahme von KKZ ( $d = 5 \text{ mm}$ ;  $h = 8 \text{ mm}$ ) am distalen Patellagleitlager, am distalen anterolateralen Femur und am distalen posteromedialen Femur ( $n = 10$ ). Diese wurden in Eppendorf-Röhrchen in PBS bei  $-28 \text{ }^{\circ}\text{C}$  bis zum Versuchstag eingefroren. Am Versuchstag wurde die Probe für 1 h in PBS bei Raumtemperatur aufgetaut und nach Einsetzen in die Probenaufnahme für weitere 15 Minuten (min) in der mit PBS gefüllten Probenkammer equilibriert. Die Knorpeloberfläche wurde unter Kamerasicht orthograd zum soliden Zylinderstempel ( $d = 1,5 \text{ mm}$ ) ausgerichtet und kraftgetriggert eine Vorlast von  $5,66 \text{ kPa}$  ( $0,01 \text{ N}$ ;  $v = 0,7 \text{ mm/min}$ ) appliziert und 900 Sekunden (s) gehalten, um dem Knorpel ein Kriechgleichgewicht zu ermöglichen. Nun erfolgte der Kriechversuch unter kraftgeregeltem Halten von  $0,111 \text{ MPa}$  ( $0,196 \text{ N}$ ) für 7200 s. Darauf wurde das Erholungsverhalten unter der Vorlast von  $5,66 \text{ kPa}$  unter Kraftregelung für 2600 s untersucht. Im Anschluss an den Kriecherholungsversuch wurde eine Nadelindentation zur Dickenmessung an einer Stelle direkt neben der Indentationslokalisierung durchgeführt. Hierfür wurde eine schräg angeschliffene Kanüle der Firma Braun mit einem Durchmesser von  $0,9 \text{ mm}$  geschwindigkeitsgeregelt mit  $1 \text{ mm/min}$  ( $7 \text{ rounds per minute (rpm)}$ ) auf einen Krafttrigger von  $5 \text{ N}$  gefahren und anschließend positionsgeregelt mit  $5 \text{ mm/min}$  ( $35 \text{ rpm}$ ) auf die Ausgangsposition zurückgefahren. Die Auswertung wurde gemäß JURVELIN 1995 durch das Ablesen des Wegverlaufs beim ersten Kraftver-

zeichnung und beim Durchstoßen der Tidemark durchgeführt (Abbildung 36) (JURVELIN 1995 [113]).

In der Auswertung wurde die Erholung und das Kriechverhalten für die 1., 2., 30. und 60. s, im Zeitintervall bis 10 min minütlich und anschließend alle 5 min bestimmt. Analog wurde die Steigung der Kriech- und Erholungskurve in den Zeitintervallen 0-1, 0-2, 0-30, 30-60, 0-60 s, hierauf minütlich und schließlich im 5-Minuten-Intervall erhoben. Für die statistische Auswertung wurde der gepaarte T-Test zweier unabhängiger Proben gleicher Varianz verwendet und Kriechen und Erholung sowie die Steigungen zu den erhobenen Zeitpunkten verglichen.

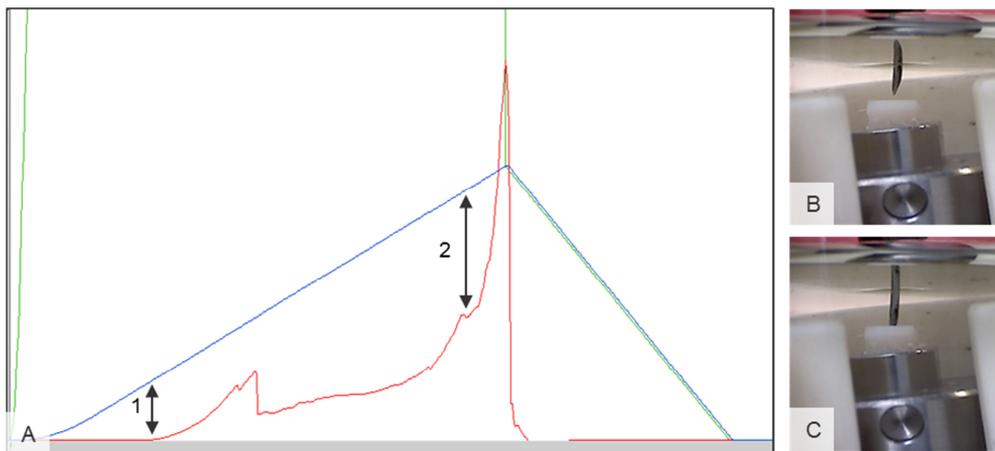


Abbildung 36: A) Typische Nadelindentation; Pfeil 1: Knorpeloberfläche; Pfeil 2: Durchbrechen der Tidemark, B) Kamerasicht vor und C) während der Dickenmessung.

### 3.2.3 Zyklischer Kriecherholungsversuch

In einem weiteren Vorversuch sollte der Verlauf der Knorpelerholung *in vitro* und *in vivo* verglichen werden. In einer 1999 veröffentlichten *in vivo* Studie ermittelte ECKSTEIN das Erholungsverhalten des humänen Patellarknorpels nach Kniebeugen. Dabei wurde bei 7 Probanden ohne Symptome einer Gelenkerkrankung die Knorpeldicke der Patella nach 1 h körperlicher Ruhe mittels MRT-Bildgebung bestimmt. Danach ließ er 100 Kniebeugen bis zu einem Beugewinkel im Kniegelenk von 90° in etwa 3 min absolvieren. Anschließend erhob er erneut Daten mittels MRT in einem 10-Minuten-Zeitintervall von 3-7 bis 83-87 min nach Durchführung der Kniebeugen. Hierbei fand er heraus, dass der Knorpel 45 min benötigte, um 50 % seines Flüssigkeitsverlustes auszugleichen und mehr als 90 min, um sich vollständig von den Kniebeugen zu erholen (ECKSTEIN 1999 [67]). Ziel dieser Studie war es, die *in vivo* Versuche im Rahmen unserer *in vitro* Bedingungen nachzustellen und die jeweiligen Ergebnisse hinsichtlich des Erholungsverhaltens des Knorpels zu vergleichen.

7 Patellae frisch geschlachteter Jungbullen (15 Monate) wurden innerhalb von 10 h aus intakten Kniegelenken freipräpariert und bei  $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$  im Vakuumbbeutel eingelagert. An den Versuchstagen wurde ein Präparat bei Raumtemperatur für 1 h aufgetaut und für 0,5 h in PBS gelegt, um einen Flüssigkeitsverlust auszugleichen. Anschließend wurden mittels Bohrröhrchen an der Standbohrmaschine KKZ (d = 5 mm) aus der lateralen (n = 7) und medialen (n = 7) Gelenkfläche entnommen (Abbildung 37).

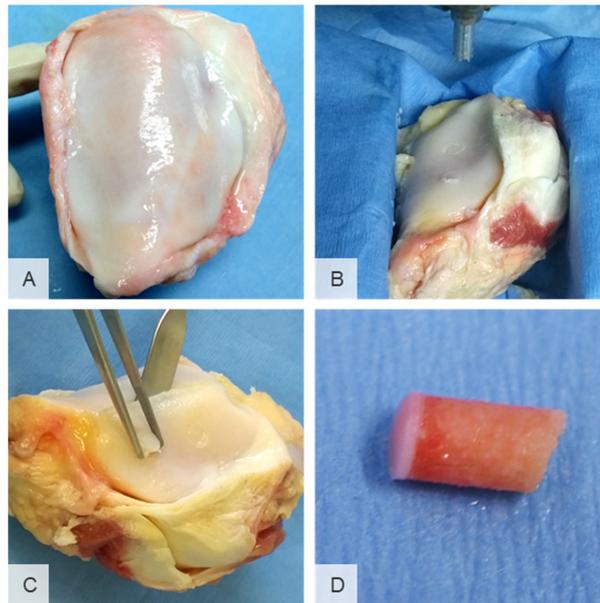


Abbildung 37: A) Patella, B) gestanzte Patella, C) Entnahme der Stanze, D) KKZ.

Der knöcherner Bereich der Probe wurde in die Aufnahme platziert und die Knorpeloberfläche unter Kamerasicht orthograd zum soliden Zylinderstempel (d = 1,5 mm) ausgerichtet (Abbildung 38).

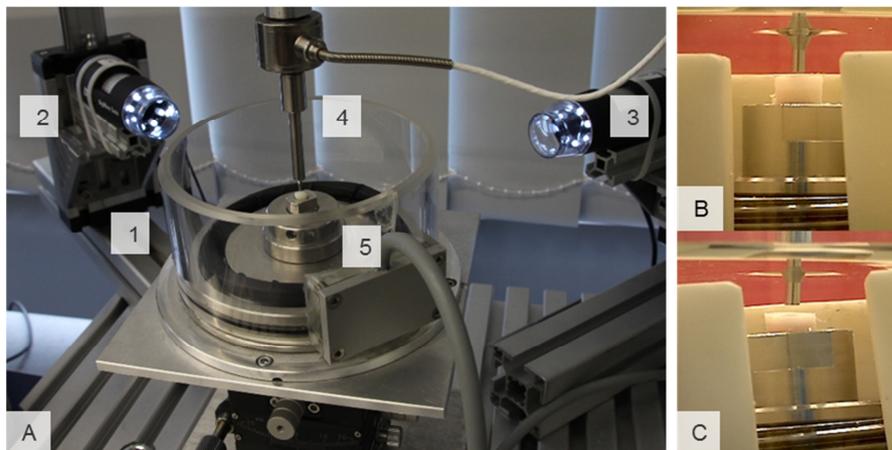


Abbildung 38: A) 1) Probenkammer mit 2) Kamera A, 3) Kamera B, 4) solider Zylinderstempel, 5) Probe, B) aus Perspektive A, C) aus Perspektive B.

Anschließend wurde die Probe für 15 min in PBS bei Raumtemperatur equilibriert. Unter Überwachung des Kraftsensors wurde die Knorpeloberfläche im manuellen Modus angefahren und die Position des Prüfstempels für 5 min gehalten. Hierauf wurden 100 Zyklen mit einer aus Vorversuchen ermittelten oberen Schwelllast (OS) von 350,88 kPa (0,62 N) (untere Schwelllast (US) 33,96 kPa (0,06 N)) innerhalb von 3 min kraft geregelt appliziert. Nach den Zyklen wurde das Erholungsverhalten der Probe bei kraftgeregeltem Halten von 5,66 kPa für 87 min gemessen und aufgezeichnet ( $f = 100/s$ ) (Abbildung 39). Zuletzt erfolgte eine Dickenmessung mittels Nadelindentation an derselben Prüflokalisation ( $d = 0,9$  mm, Vorschub = 1 mm/min (35 rpm), Krafttrigger 5 N). Die Auswertung wurde gemäß JURVELIN 1995 durch das Ablesen des Wegverlaufs beim ersten Kraftverzeichnen und beim Durchstoßen der Tidendemark durchgeführt (JURVELIN 1995 [113]) (Abbildung 36).

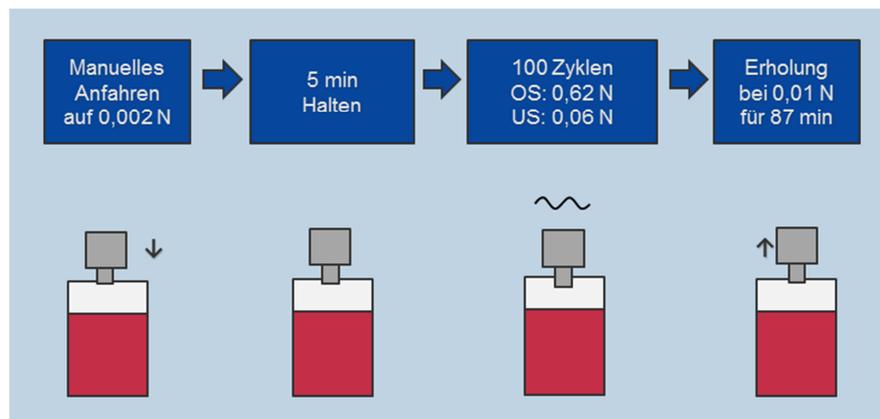


Abbildung 39: Schematischer Prüfablauf des dynamischen Kompressionsversuchs mit Simulation von 100 Kniebeugen und Knorpelerholung.

Aufgrund der unbekanntten Kraft, die bei Kniebeugen auf die Patella wirkt, wurde in Vorversuchen eine Kraft aus 12 zusätzlichen Zylinderproben gemittelt. Anhaltspunkt war dabei, dass die Knorpeldicke nach 3-7 min gemäß der Angaben von ECKSTEIN 1999 zwischen 2,4 und 8,5 % der Ausgangsdicke betrug (ECKSTEIN 1999 [67]). Dabei wurde zunächst mittels Messschieber an vier Stellen die Knorpeldicke eruiert und ein Mittelwert gebildet. Nun wurden frei gewählte Dehnungen appliziert, die resultierenden Kräfte notiert und überprüft, ob nach einem zyklischen Belastungstest (100 Zyklen; OS: ermittelte Kraft; US: 10 % der ermittelten Kraft) das Erholungsverhalten des Knorpels nach 3-7 min bei etwa 5,5 % (Mittelwert aus 2,4 % und 8,5 %) der Ausgangsdicke lag. In der Annahme, dass weicherer Knorpel 3-7 min nach den Zyklen 8,5 %, Knorpel mit höherer Steifigkeit 2,4 % Dehnung aufweist, wurde aus den 12 Versuchen eine Kraft von 0,62 N gemittelt. In der Auswertung wurde das Kriechverhalten nach 3 min, die Erholung jeweils medial und lateral für die 1., 2., 30. und 60. s, im Zeitintervall bis 10 min minütlich, anschließend alle 5 min und ab 40 min alle 10 min bestimmt. Ebenso wurde die Steigung der Kriech- und Erholungskurve in den Zeitintervallen

0-1, 0-2, 0-30, 30-60, 0-60 s, im Zeitintervall bis 10 min minütlich, schließlich im 5-Minuten-Intervall und nach 40 min im 10-Minuten-Intervall erhoben. Dabei wurden analog zu den Messzeitpunkten von ECKSTEIN 1999 die Zeitpunkte 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73 und 87 min sowie die Intervalle bestimmt. Für die statistische Auswertung wurde der gepaarte T-Test zweier unabhängiger Proben gleicher Varianz verwendet und Knorpeldicke, Kriechen, Erholung sowie die Steigungen zu den erhobenen Zeitpunkten zwischen der medialen und lateralen Patella verglichen.

### 3.3 Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch

Sieben Kniegelenke vom frisch geschlachteten, adulten, zweijährigen Schaf wurden von einem Schäfer akquiriert und bei geschlossener Kapsel im Vakuumbbeutel bei  $-28\text{ }^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren. Vierundzwanzig Stunden vor dem Versuchstag wurden die Kniegelenke bei  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  im Kühlschrank aufgetaut. Am ersten Tag der Versuchsreihe erfolgte die Präparation unter permanenter Befeuchtung mit PBS. Mittels Pinzette und Skalpell wurde das Muskelgewebe entfernt und die Kapsel seitlich eröffnet (Abbildung 40). Es erfolgte unter Schonung des artikulären Knorpels und der Menisken die Darstellung der intrakapsulären Strukturen (Abbildung 41) sowie die Durchtrennung der ligamentären Strukturen (Abbildung 42).

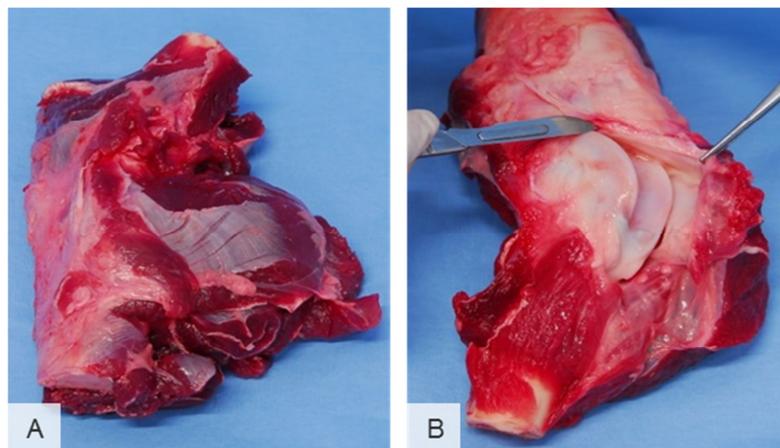


Abbildung 40: A) Oviner Kniegelenk bei geschlossener Kapsel und umgebendem Weichteilgewebe, B) seitliche Eröffnung der Gelenkkapsel.



Abbildung 41: Intrakapsuläre Strukturen des ovinen Kniegelenks A) von ventral, B) von posterior, C) von lateral und D) von medial.

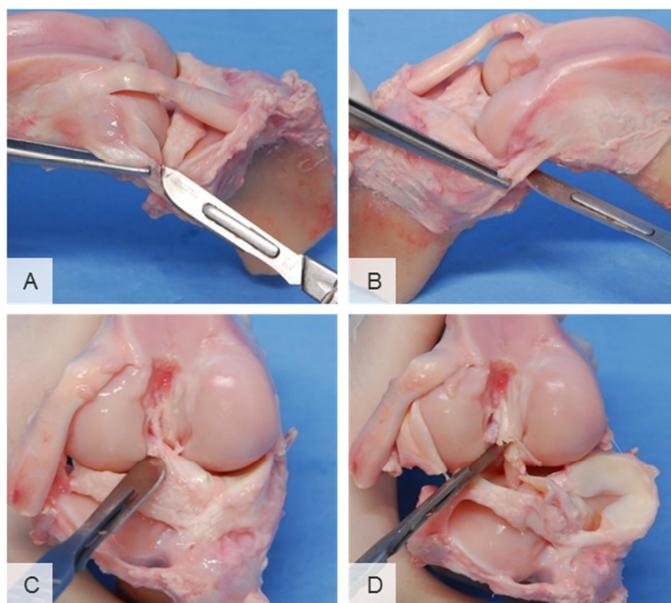


Abbildung 42: Durchtrennung der ligamentären Strukturen A) Lig. femorotibiale laterale, B) Lig. femorotibiale mediale, C) Lig. cruciatum anterior, D) Lig. cruciatum posterior.

Anschließend wurden die Menisken reseziert und das intakte Tibiaplateau mit ca. 1 cm Knochen mittels elektrischer Handsäge entnommen (Abbildung 43). Ebenso wurden die mediale und laterale Femurkondyle abgetrennt und verbliebenes Weichteilgewebe entfernt (Abbildung 44).

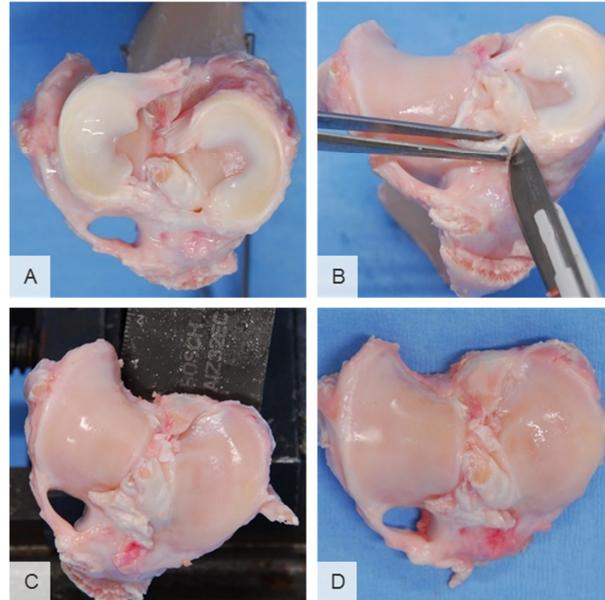


Abbildung 43: A) Aufsicht auf das Tibiaplateau, B) Resektion des medialen Meniskus, C) osteochondrale Entnahme, D) präpariertes Tibiaplateau.

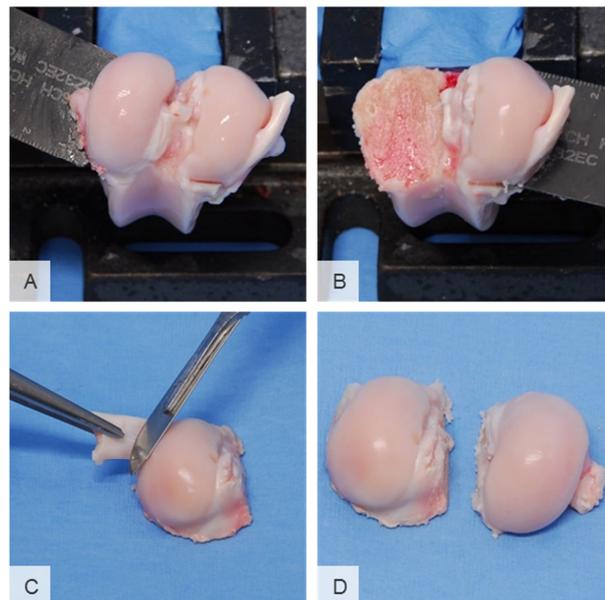


Abbildung 44: Osteochondrale Entnahme des A) medialen und B) lateralen Femurkondylus, C) Entfernung von Weichgewebe, D) präparierte Femurkondylen.

Bei der Resektion der Trochlea wurde auf eine möglichst parallele Schnitfführung zur Knorpeloberfläche des medialen und lateralen Patellagleitlagers geachtet (Abbildung 45). Auch der ossäre Anteil der präparierten Patella wurde parallel zur Knorpelschicht gesägt, um später eine orthograde Ausrichtung zum Stempel gewährleisten zu können (Abbildung 46). Zuletzt wurden die Proben zur Orientierung auf der Rückseite beschriftet. Die Testreihe wurde am Tag der Präparation mit der Tibia begonnen, das Femur wurde am Tag nach der Präparation untersucht, Trochlea und Patella am dritten Tag. Die Proben wurden bis 1 h vor Ver-

suchsbeginn in PBS bei 4 °C gelagert.

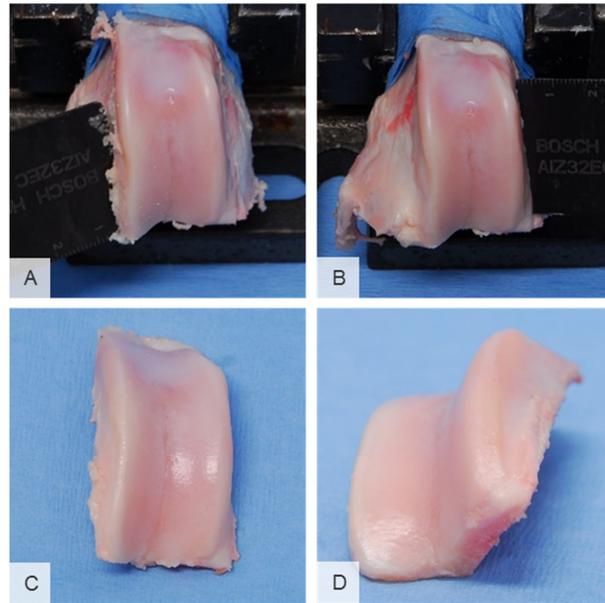


Abbildung 45: Osteochondrale Entnahme der A) lateralen und B) medialen Trochlea, C) Aufsicht und D) seitliche Ansicht der Trochlea.

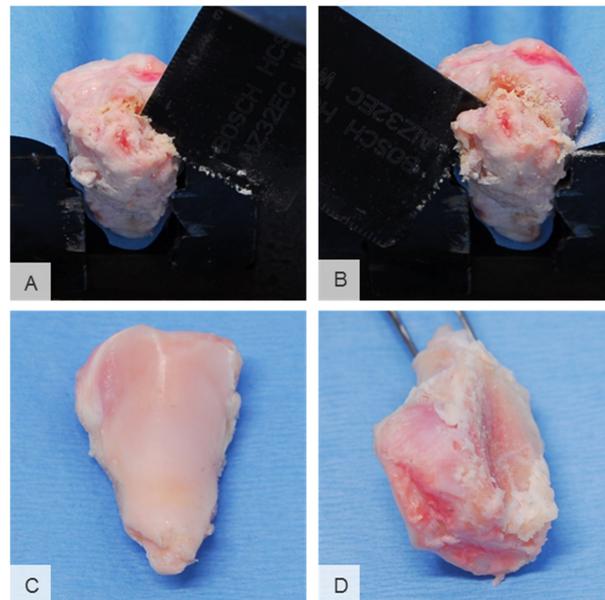


Abbildung 46: Präparation der Patella mit paralleler Schnitfführung zur A) medialen und B) lateralen Gelenkfläche, C) Aufsicht, D) Rückansicht der präparierten Patella.

### 3.3.1 Versuchsdurchführung

Das Tibiaplateau und das Femur wurden medial und lateral an je 3 Prüfstellen, anterior, zentral und posterior, getestet. Die Trochlea wurde ebenfalls medial und lateral an je 3 Prüfstellen, proximal, zentral und distal, die Patella aus Platzgründen jeweils proximal und distal untersucht. Somit wurden an Tibia, Femur und Trochlea 6 Lokalisationen, an der Patella vier

Lokalisationen getestet (Abbildung 47).

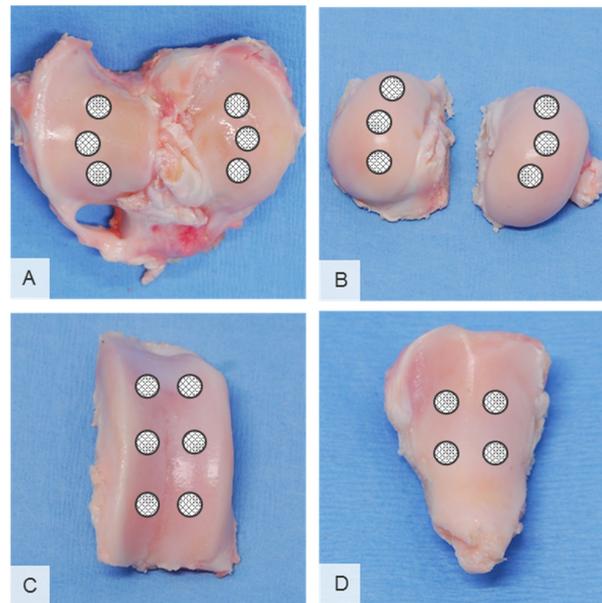


Abbildung 47: Schematisches Prüfschema mit den verschiedenen Prüfstellen in A) Tibia, B) Femurkondylen, C) Trochlea und D) Patella.

Für jede der Prüfstellen wurde ein poröser Zylinderindenter aus Glas ( $d = 1,5 \text{ mm}$  (Standardabweichung (SA)  $0,2 \text{ mm}$ ); Porengröße:  $16\text{-}40 \text{ }\mu\text{m}$ ; Porosität  $50 \%$ ) verwendet (Abbildung 48).



Abbildung 48: Poröser Zylinderindenter aus Glas ( $d = 1,5 \text{ mm}$  (SA  $0,2 \text{ mm}$ ); Porengröße:  $16\text{-}40 \text{ }\mu\text{m}$ ; Porosität  $50 \%$ ).

In der Tibia waren alle Lokalisationen, mit Ausnahme der zentralen Prüfstelle der medialen Tibia, von Meniskus bedeckt. Bei der Auswahl der Prüfstellen von Tibia und Femur wurde auf eine Deckungsgleichheit mit der korrespondierenden Kontaktstelle geachtet. Die Prüfstellen lagen jeweils im Kontaktbereich zwischen Femur und Tibia bei physiologischer Belastung im Stand, also bei  $30^\circ$  Beugung.

Somit wurden 22 Indentationen pro Kniegelenk und insgesamt 154 Versuche durchgeführt.

Zunächst wurden die einzelnen Proben mittels Schrauben und Beilagplättchen in der Probenkammer fixiert (Abbildung 49) und diese unterhalb des Indentors in das Prüfsystem integriert.

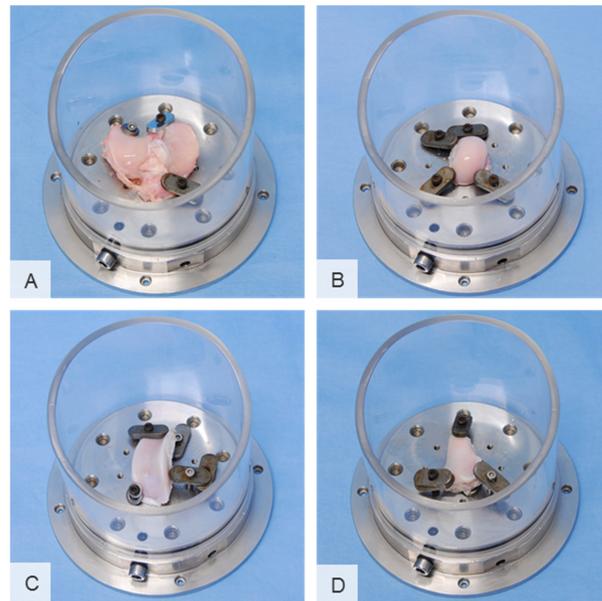


Abbildung 49: Mit Beilagplättchen und Schrauben fixierte Proben in der Probenkammer: A) Tibia, B) mediale Femurkondyle, C) Trochlea und D) Patella.

Mit Hilfe eines Kamerasystems wurde der Stempel orthograd zur Knorpeloberfläche der Testlokalisierung ausgerichtet und die Probenkammer mit PBS befüllt (Abbildung 50). Um einen eventuellen Flüssigkeitsverlust während der Probenpositionierung auszugleichen, wurde 15 min bis zum Versuchsbeginn gewartet.

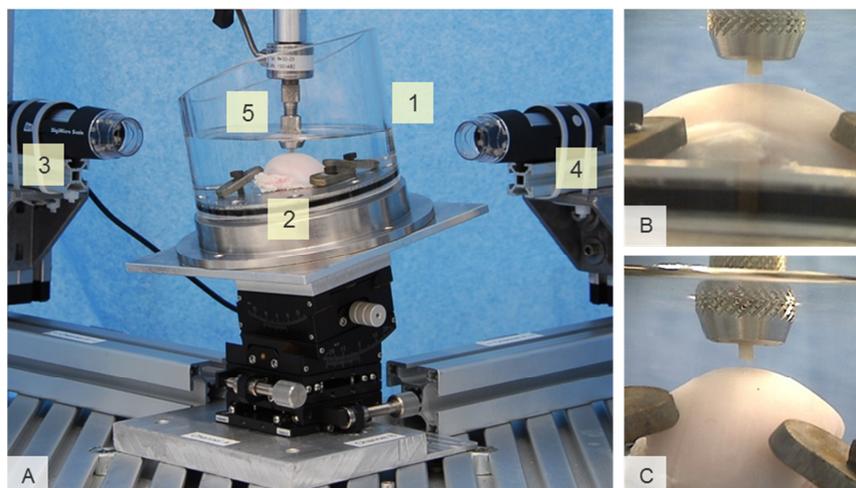


Abbildung 50: A) Positionierung der Probe in der Prüfmaschine und orthograde Ausrichtung zum Indentor: Detailansicht auf die Probenkammer (1) mit Femurkondyle (2), Kameras (3,4), poröser Zylinderindenter (5), B) Kamerasicht A und C) Kamerasicht B.

Anschließend wurden Probe, Testlokalisierung und Indentortyp dokumentiert und das Prüfprofil geladen. Zunächst wurde die Knorpeloberfläche angefahren ( $v = 1 \text{ mm/min}$ ;  $5,66 \text{ kPa}$ ) und die Tarierlast für  $5 \text{ min}$  kraftgeregelt gehalten, um ein Equilibrium des Knorpelgewebes zu erreichen. Dabei wurde in Vorversuchen die Geschwindigkeit der Lastaufbringung eruiert, bei welcher die Knorpeloberfläche möglichst wenig Kriechverhalten zeigt und zudem die Zielkraft von  $0,01 \text{ N}$  ( $5,66 \text{ kPa}$ ) möglichst genau erreicht wird. Hierauf erfolgten fünf Belastungszyklen. Dabei wurde je Zyklus die Last auf  $0,11 \text{ MPa}$  (Mow 1989 [189]) erhöht, für  $60 \text{ s}$  gehalten und der Knorpel bei  $5,66 \text{ kPa}$  für  $60 \text{ s}$  entlastet. Die Erholungszeit nach der letzten Lastapplikation betrug, entsprechend der fünf Belastungen,  $5 \text{ min}$  (Tabelle 2). Während der Versuche wurden die Kraft-Weg-Verläufe aufgezeichnet und nach Versuchsende mittels Screenshots gespeichert (Abbildung 54). Anschließend wurden in einer Excel-Tabelle Probennummer, Präparat, Testlokalisierung, Versuchszeit und die exakte Einstellung des Kipptisches dokumentiert.

*Tabelle 2: Prüfschema des quasistatischen zyklischen Indentationsversuchs.*

Prüfprofil			Geschwindigkeit	Kraft (Last)/ Position	Zeit	
1. Präkonditionierung		Anfahren der Oberfläche	$1 \text{ mm/min}$	$0,01 \text{ N}$ ( $5,66 \text{ kPa}$ )		
		Halten		$0,01 \text{ N}$ ( $5,66 \text{ kPa}$ )	$300 \text{ s}$	
2. Fünf Belastungszyklen	Kriechen	Krafterhöhung	$0,01 \text{ N/s}$	$0,196 \text{ N}$ ( $0,11 \text{ MPa}$ )		
		Halten		$0,196 \text{ N}$ ( $0,11 \text{ MPa}$ )	$60 \text{ s}$	
	Erholung	Kraftminderung	$0,01 \text{ N/s}$	$0,01 \text{ N}$ ( $5,66 \text{ kPa}$ )		
		Halten		$0,01 \text{ N}$ ( $5,66 \text{ kPa}$ )	$60 \text{ s}$	$300 \text{ s}$
3. Erholung		Halten	$0,01 \text{ N}$ ( $5,66 \text{ kPa}$ )	$240 \text{ s}$		
4. Herausfahren			$5 \text{ mm/min}$	Position 0		
		Halten		Position 0	$60 \text{ s}$	

Die Dickenmessung erfolgte via Nadelindentation ( $d = 0,9 \text{ mm}$ , Vorschub =  $1 \text{ mm/min}$  ( $35 \text{ rpm}$ ), Krafttrigger =  $5 \text{ N}$ ) (Abbildung 51). Hierfür wurde die Nadel eingespannt und das Prüfprofil für die Dickenmessung geladen. Auch hier wurden die Kraft-Weg-Verläufe aufgezeichnet und mittels Screenshots festgehalten (Abbildung 52).

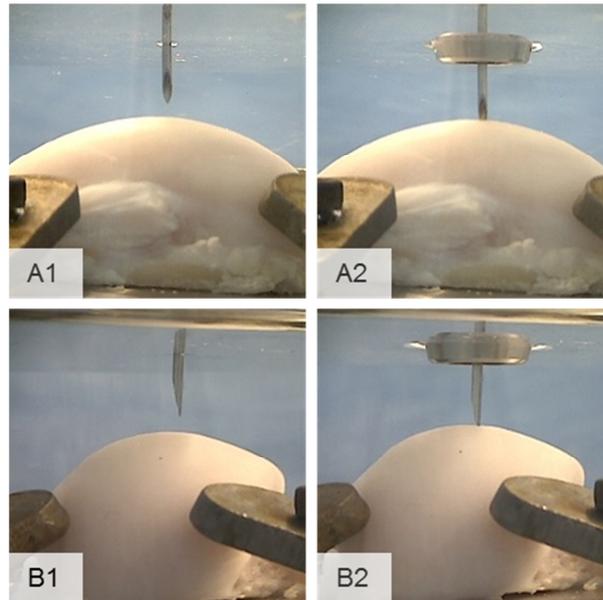


Abbildung 51: Dickenmessung: Nadelpositionierung A1) und B1) vor und A2) und B2) während der Nadelindentation aus Kamerasicht A und B.

### 3.3.2 Auswertung

Die Auswertung wurde mit der Erhebung der Knorpeldicke begonnen. Aus dem Kraft-Weg-Diagramm der Nadelindentation wurde der Wegverlauf der Nadel durch das Knorpelgewebe bestimmt. Als Kriterium für den Kontakt der Nadel mit der Knorpeloberfläche wurde ein Kraftverzeichnis von 0,03 N am Kraftsensor postuliert und die entsprechende Position der Nadel notiert. Das Durchstoßen der kalzifizierten Knorpelzone wurde gemäß JURVELIN 1995 am tiefsten Punkt des Kraftverlaufs vor dem Kraftanstieg definiert und erneut die entsprechende Nadelposition aus den erhobenen Daten abgelesen (JURVELIN 1995 [113]) (Abbildung 52). Die Differenz der beiden Wegpunkte ergab die Dicke des Knorpels. Für die erhobenen Daten wurden je Testlokalisierung der Mittelwert sowie die SA berechnet.

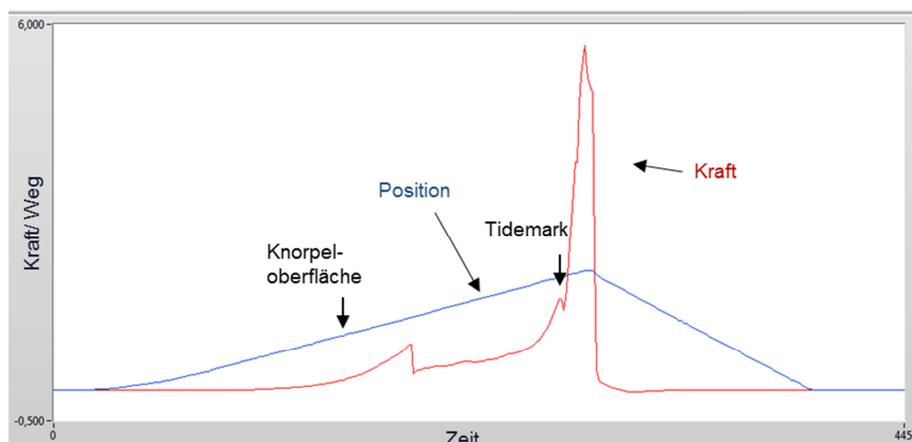


Abbildung 52: Typischer Kraftwegverlauf der Nadelindentation.

### 3.3.2.1 Bestimmung der Steifigkeit

Die Steifigkeit des Knorpelgewebes wurde aus der Steigung des linearen Abschnitts des Kraft-Weg-Diagramms zwischen 0,05 N und 0,15 N für alle 5 Zyklen bestimmt (Abbildung 53).

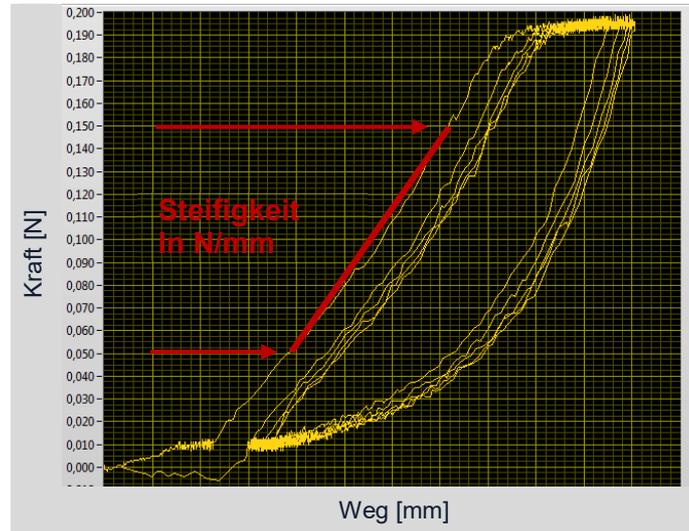


Abbildung 53: Auswertung der Steifigkeit aus der Steigung zwischen 0,05 N und 0,15 N im Kraft-Weg-Diagramm des zyklischen Indentationsversuchs.

### 3.3.2.2 Bestimmung des Kriechverhaltens und der Erholung

Die Eindringtiefe wurde aus der Stempelposition am Ende der Belastung im Weg-Diagramm für alle 5 Zyklen abgelesen und durch Subtraktion der Stempelposition am Ende der Präkonditionierung berechnet (Abbildung 54).

Die Dehnungen wurden mit Hilfe der Knorpeldicke bestimmt und ebenfalls die Mittelwerte und SAs gebildet. Ebenso wurde die Knorpelerholung für alle fünf Zyklen am Ende der Entlastung sowie 5 min nach der letzten Belastung aus dem Weg-Diagramm abgelesen, berechnet, die Dehnungen bestimmt und die Mittelwerte und SAs ermittelt. Um eine bessere Vergleichbarkeit mit der Literatur zu erhalten, wurden die Dehnungen in % der initialen Knorpeldicke angegeben. Zusätzlich wurde das Erholungsverhalten relativ zum Kriechverhalten jeweils für den 1., 3. und 5. Zyklus sowie die Erholung nach 5 min relativ zur maximalen Eindringtiefe ausgewertet. In der medial-zentralen Trochlea wurden zudem der exakte Kurvenverlauf der Mittelwerte von Kriechen und relativer Erholung mit SA bestimmt, da die Trochlea hinsichtlich der Knorpeldicke und Steifigkeit die homogensten Ergebnisse erzielte. Zudem wurde im 3. Zyklus die Differenz zwischen Kriechen und Erholung erhoben, Kriechen und Erholung für 1, 2, 30 und 60 s bestimmt sowie die Steigungen zwischen 0-1, 0-2, 2-30, 30-60 und 0-60 s erhoben. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die Daten von Steifigkeit, Kriechen und Erholung auf den 1., 3. und 5. Zyklus reduziert.

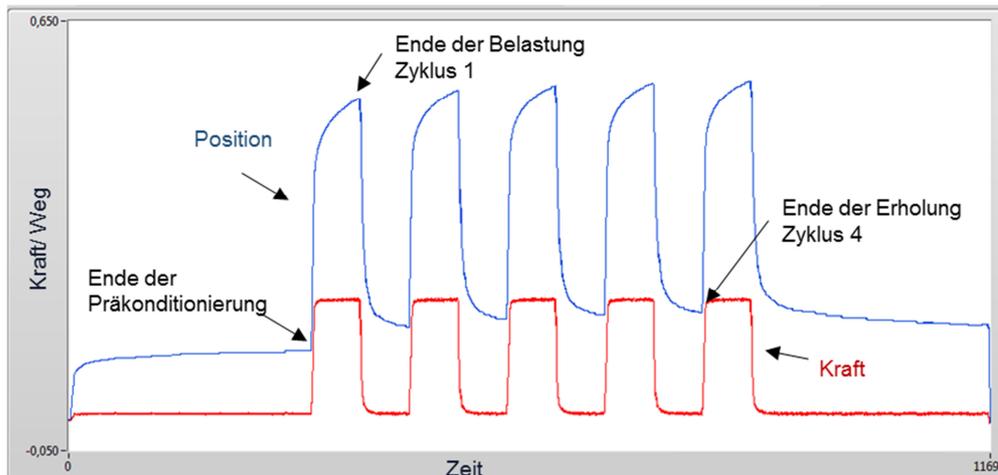


Abbildung 54: Typischer Kraftwegverlauf des zyklischen Indentationsversuchs.

Für den Vergleich der Testlokalisationen innerhalb einer Probe und zwischen den Proben wurden die Ergebnisse der Steifigkeit, des Kriechens und der Erholung des 3. Zyklus verwendet.

### 3.3.2.3 Statistische Auswertung

Die Lokalisationen innerhalb einer Seite einer Probe wurden hinsichtlich Dicke, Steifigkeit, Eindringtiefe und Erholung mittels ANOVA verglichen. Bei signifikanten Ergebnissen wurde der Turkey's Test verwendet. Gegenüberliegende Testlokalisationen innerhalb einer Probe wurden mittels gepaarten T-Tests zweier unabhängiger Variablen gleicher Varianz verglichen. Gegenüberliegende Lokalisationen zweier Proben wurden ebenfalls mittels gepaarten T-Tests zweier unabhängiger Variablen gleicher Varianz auf ihre Signifikanz überprüft.

Im dritten Zyklus wurden Kriechen und Erholung zu den erhobenen Zeitpunkten sowie die Steigungen der Kriech- und der Erholungskurve mittels gepaarten T-Tests zweier unabhängiger Variablen gleicher Varianz auf ihre Signifikanz untersucht.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Statischer Kriecherholungsversuch

Nach dem Applizieren der Vorlast wurde bei allen Versuchen ( $n = 10$ ) ein Equilibrium erreicht. Nach Halten der Testlast für 7200 s konnte ein Plateau im Kriechverhalten des Knorpels beobachtet werden. Der Knorpel sank dabei um 12,95 % (SA 8,18 %) ein.

Der Knorpel konnte seine volle Ausgangshöhe in allen Versuchen nicht wieder erreichen. Im zeitlichen Vergleich der Mittelwerte aller 10 Versuche lag die Erholung initial deutlich hinter dem Kriechverhalten von Knorpelgewebe zurück (Abbildung 55).

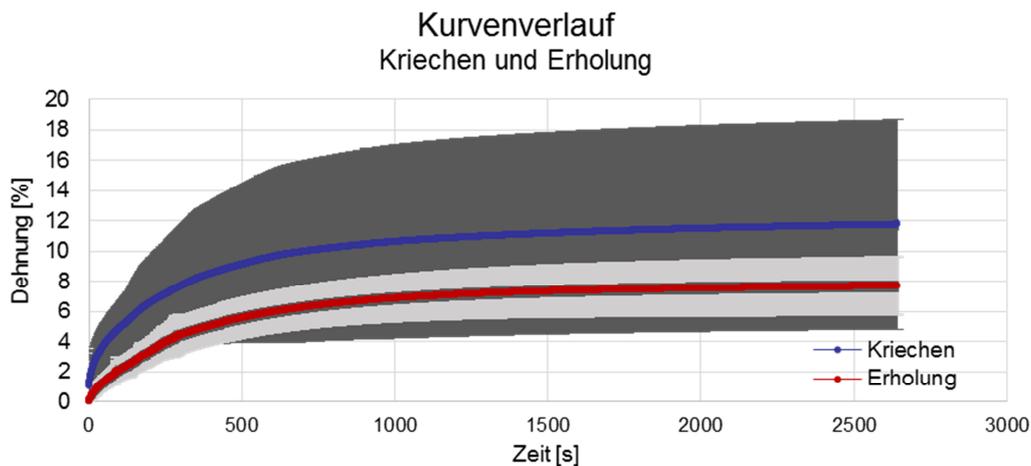


Abbildung 55: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin,  $n = 10$ ): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich für alle 10 Versuche.

Bildet man eine Differenz des Kriechverhaltens zum Erholungsverhalten zum gleichen Zeitpunkt, so zeigte sich auch hier initial ein deutlicher Rückstand, der sich mit zunehmender Versuchsdauer um einen konstanten Unterschied einpendelte. Nach bereits 10 s wurde der Knorpel 1,64 % (SA 0,90 %) tiefer eingedrückt, als er sich in dieser Zeit erholte. Nach 7 min stellte sich allmählich ein Gleichgewicht zwischen Kriechen und Erholung ein. Die Erholung lag relativ konstant bei 3,50 % (SA 4,91 %) zurück. Zwischen 7 min und 42 min stieg der Unterschied lediglich um 0,50 % auf am Ende 4,06 % (SA 7,18 %) (Abbildung 56).

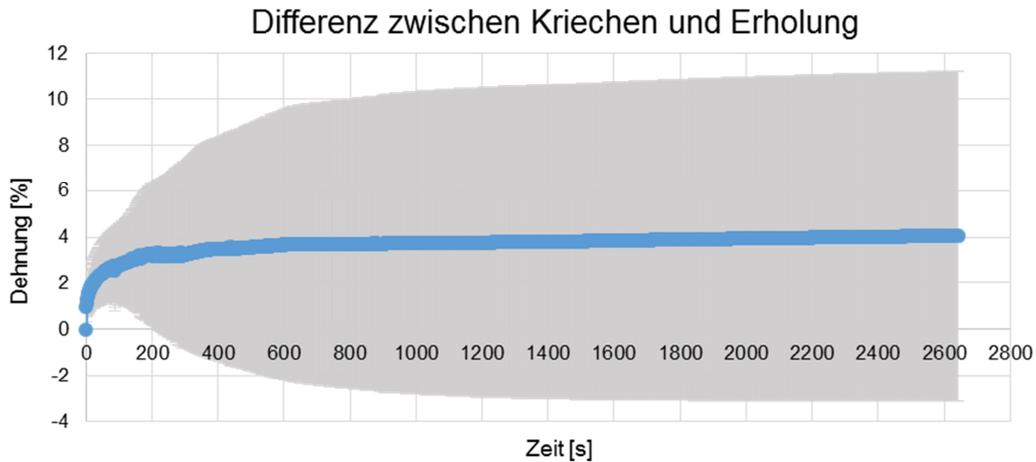


Abbildung 56: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung der Differenz zwischen Kriechen und Erholung in %.

So konnte sich der Knorpel im Vergleich zum Kriechverhalten in den ersten 50 s lediglich zu 36,52 % (SA 14,01 %) und nach 2500 s zu 76,96 % (SA 9,08 %) im Vergleich zum Kriechverhalten erholen. In unseren Betrachtungen überstieg die Knorpelerholung zu keinem Observationszeitpunkt das Kriechverhalten (Abbildung 57).

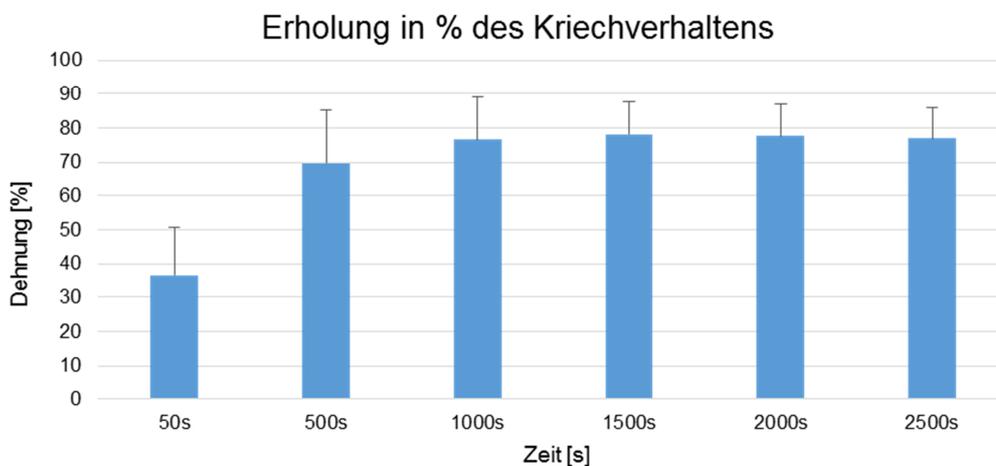


Abbildung 57: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Erholungsverhalten der Knorpelproben in % des jeweiligen Kriechverhaltens. In den ersten 50 s konnte sich der Knorpel zu 36,52 % (SA 14,01 %) erholen, nach 2500 s zu 76,96 % (SA 9,08 %).

Kriechen und Erholung unterschieden sich bis 540 s statistisch signifikant. So kroch der Knorpel nach 1 s mit 1,01 % (SA 0,66 %) signifikant mehr als er sich mit 0,06 % (SA 0,04 %) erholte. Entsprechend unterschieden sich auch hier die Steigungen mit 1,01 %/s (SA 0,66 %/s) und 0,06 %/s (SA 0,04 %/s) statistisch signifikant (T-Test, p jeweils < 0,01). Auch kroch der Knorpel nach 2 s mit 1,22 % (SA 0,60 %) mehr als er sich mit 0,09 % (SA 0,05 %) erholte. Die Steigung des Kriechverhaltens zwischen 0-2 s sank dabei auf 0,61 %/s (SA

0,30 %/s), die der Erholung auf 0,05 %/s (SA 0,03 %/s). Kriechen und Erholung sowie die Steigungen unterschieden sich statistisch signifikant (T-Test,  $p$  jeweils  $< 0,01$ ). Nach 30 s lag das Kriechverhalten bei 2,65 % (SA 1,00 %), das Erholungsverhalten bei 0,93 % (SA 0,35 %). Die Steigung zwischen 2-30 s betrug für die Kriechkurve 0,07 %/s (SA 0,03 %/s), für die Erholungskurve 0,03 %/s (SA 0,01 %/s). Der Knorpel kroch nach 60 s 3,74 % (SA 1,29 %) und konnte 1,45 % (SA 0,46 %) wieder aufrichten. Die Steigungen betrugen zwischen 30-60 s 0,03 %/s (SA 0,01 %/s) und 0,02 %/s (SA 0,00 %/s) und zwischen 0-60 s 0,05 %/s (SA 0,02 %/s) und 0,02 %/s (SA 0,01 %/s). Kriechen und Erholung sowie die Steigungen zwischen 2-30 s und 0-60 s unterschieden sich statistisch signifikant (T-Test,  $p$  jeweils  $< 0,01$ ). Nach 120 s betrug das Kriechverhalten 5,22 % (SA 1,75 %), das Erholungsverhalten 2,32 % (SA 0,69 %). Nach 540 s kroch der Knorpel 9,34 % (5,40 %) und konnte 5,73 % (SA 1,31 %) wieder aufrichten. Während der minütlichen Messungen zwischen 120 und 540 s unterschieden sich Kriechen und Erholung jeweils statistisch signifikant (T-Test,  $p < 0,05$ ). Die Steigungen der Kriechkurve betrugen für 60-120 s und 120-180 s 0,02 %/s (SA 0,01 %/s; 0,02 %/s) und anschließend 0,01 %/s (SA 0,01 %/s), die Steigungen der Erholungskurve lagen pro Minute bei 0,01 %/s (SA 0,00 %/s; 0,01 %/s). Ab der 60. Sekunde unterschieden sich die Steigungen der Kriech- und Erholungskurve nicht mehr signifikant (T-Test,  $p > 0,05$ ). Ab 480 s konnte in der Erholungskurve mit 0,00 %/s (SA 0,00 %/s) keine Steigung mehr verzeichnet werden, in der Kriechkurve ab 540 s mit 0,00 %/s (SA 0,00 %/s). Der Knorpel befand sich im Equilibrium (Kriterium: Steigung  $< 0,005$  %/min) (Anhang Seite 137)). Nach 2600 s lag das Kriechen bei 11,74 % (SA 6,91 %) und die Erholung bei 7,69 % (SA 1,91 %). Eine Steigung sowie eine Wegänderung konnte, wie bereits erwähnt, nicht mehr verzeichnet werden und lag in beiden Kurven bei 0,00 %/s (SA 0,00 %/s) (Abbildung 90 (Anhang Seite 138); Tabelle 23 (Anhang Seite 139)). Der Knorpel hatte somit jeweils ein Equilibrium erreicht.

## 4.2 Zyklischer Kriecherholungsversuch

Im zyklischen Kriecherholungsversuch wies die mediale Patella eine signifikant geringere Dicke (1,50 mm (SA 0,21 mm)) als die laterale Patella (2,15 mm (SA 0,42 mm)) auf (T-Test,  $p < 0,01$ ) (Abbildung 58; Tabelle 24 (Anhang Seite 140)).

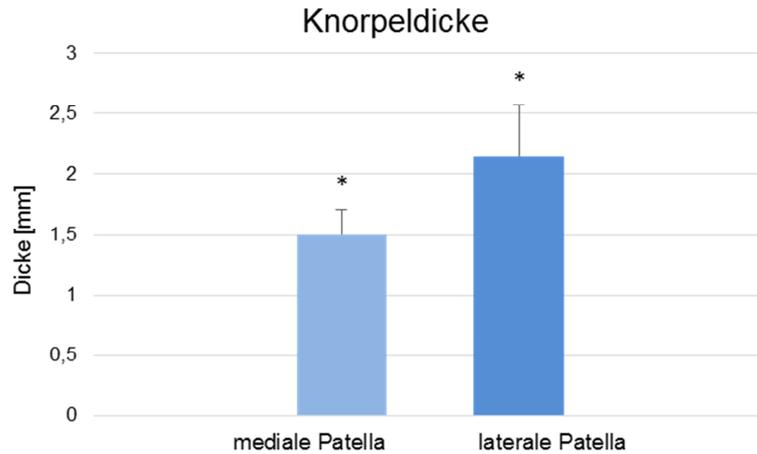


Abbildung 58: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial  $n = 7$ , lateral  $n = 7$ ): Knorpeldicke der medialen und lateralen Patella (\* signifikanter Unterschied der Knorpeldicken (T-Test,  $p < 0,01$ )).

Es zeigte sich ein nicht linearer Kurvenverlauf der Knorpelerholung. Die Knorpelerholung fand vor allem in den ersten 13 min nach Belastung statt und ging dann in ein Plateau über (Abbildung 59). Die Eindringtiefe nach 3 min zyklischer Belastung betrug medial 9,17 % (SA 2,15 %) und lateral 11,78 % (SA 1,70 %) der initialen Knorpeldicke und differierte somit statistisch signifikant (T-Test,  $p < 0,04$ ) (Abbildung 60).

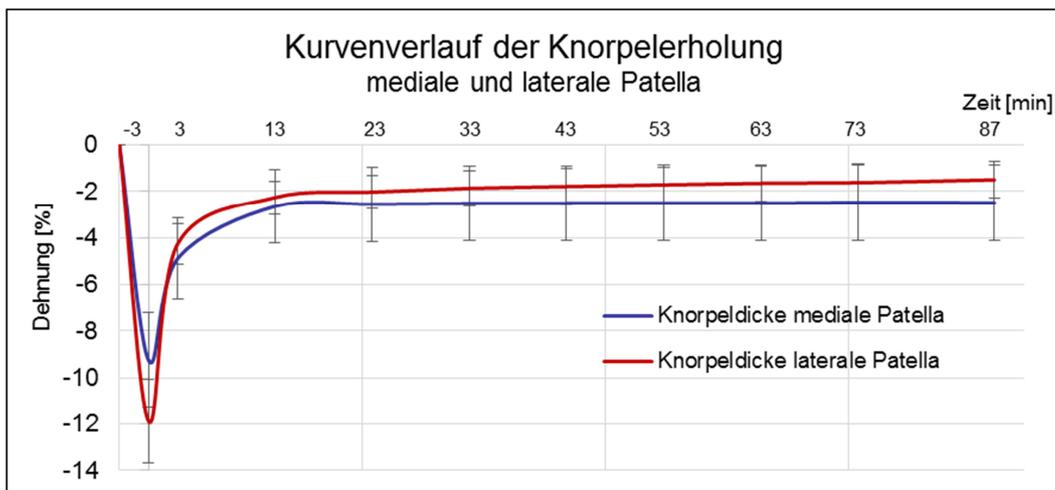


Abbildung 59: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial  $n = 7$ , lateral  $n = 7$ ): Kurvenverlauf der Knorpelerholung der medialen und lateralen Patella.

Im Vergleich des Erholungsverhaltens zwischen medial und lateral konnte sich die laterale Patella schneller und mehr als die mediale Patella erholen. Da sich die laterale Patella im Vergleich zur medialen Patella mehr erholte, bestand hinsichtlich der Reduktion der Knorpeldicke zu keinem der Messzeitpunkte ein signifikanter Unterschied (T-Test,  $p > 0,05$ ), während sich das Erholungsverhalten im direkten Vergleich der umgekehrten Erholungen lateral und medial zu jedem der Messzeitpunkte bis zur 87. Minute statistisch signifikant unterschied

(T-Test,  $p < 0,02$ ). Die Steigungen der beiden Kurven unterschieden sich nur zwischen 0-1 s und 0-2 s statistisch signifikant (T-Test,  $p < 0,02$ ) (Abbildung 59; Abbildung 91 (Anhang Seite 141); Abbildung 92 (Anhang Seite 142); Tabelle 24 (Anhang Seite 140); Tabelle 25 (Anhang Seite 143); Tabelle 26 (Anhang Seite 145)).

Nach 1 s fehlten medial noch 7,70 % (SA 2,57 %) und lateral 8,24 % (SA 2,74 %) zur ursprünglichen Knorpelhöhe. Somit erholte sich der Knorpel medial um 1,47 % (SA 1,03 %) und lateral um 3,54 % (SA 1,57 %). Die Steigung der Kurven betrug dabei medial 1,33 %/s (SA 1,07 %/s) und lateral 3,45 %/s (SA 1,41 %/s) und unterschied sich ebenfalls statistisch signifikant (T-Test,  $p < 0,02$ ). Nach 2 s fehlten dem Knorpel zur Ausgangshöhe medial 7,67 % (SA 2,47 %) und lateral 7,65 % (SA 2,83 %), somit konnte der laterale Knorpel, obgleich tiefer eingedrückt, seine Ausgangshöhe mehr als der mediale Knorpel wieder erreichen. Dabei konnte der Knorpel medial 1,50 % (SA 0,91 %) und lateral 4,13 % (SA 1,80 %) wieder aufrichten. Die Steigung war lateral mit 2,04 %/s (SA 1,39 %/s) signifikant höher als medial mit 0,40 %/s (0,24 %/s) (T-Test,  $p < 0,02$ ). Im weiteren Kurvenabschnitt zwischen 2-30 s betrug die Steigung medial 0,03 %/s (SA 0,00 %/s) und lateral 0,65 %/s (SA 1,60 %/s). Nach 30 s fehlten medial 6,76 % (SA 2,41 %) und lateral 6,12 % (SA 2,77 %) zur Ausgangshöhe, der Knorpel konnte also bei 30 s medial 2,41 % (SA 1,00 %) und lateral 5,65 % (SA 1,96 %) an Höhe gewinnen. Die Steigung war ab diesem Zeitpunkt lateral mit 0,55 %/s (SA 1,40 %/s) noch immer größer als medial mit 0,02 %/s (SA 0,00 %/s). Sie unterschied sich im Seitenvergleich ab diesem Messzeitpunkt jedoch nicht mehr statistisch signifikant (T-Test,  $p > 0,05$ ). Nach 60 s konnte der Knorpel medial 6,23 % (SA 2,43 %) und lateral 5,54 % (SA 2,68 %) nicht wieder aufrichten. Obgleich der Knorpel lateral ein höheres Kriechverhalten nach der zyklischen Belastung zeigte, konnte er sich nach 1 min somit mehr als medial erholen. Die mediale Patella erholte sich in 60 s 2,95 % (SA 0,92 %), die laterale Patella 6,23 % (SA 1,89 %). Die durchschnittliche Reduktion der Knorpeldicke nach 3 min Entlastung betrug medial 4,52 % (SA 2,15 %) und lateral 4,15 % (SA 2,29 %). Der Knorpel konnte bereits nach 3 min seine initiale Knorpelhöhe medial zu 50,71 % (SA 8,78 %), lateral zu 64,77 % (SA 13,01 %) wieder aufrichten. Die mediale Patella konnte somit 4,65 % (SA 0,87 %), die laterale Patella 7,62 % (SA 1,49 %) wieder aufrichten. Nach 13 min (180 s) fehlten medial noch 2,24 % (SA 2,09 %) und lateral 2,35 % (SA 2,08 %) der Ausgangshöhe, der Knorpel konnte sich also medial zu 75,57 % (SA 11,60 %) und lateral zu 80,05 % (SA 15,84 %) wieder aufrichten. Medial konnte nach 13 min (180 s) ein Höhengewinn von 6,93 % (SA 0,92 %) und lateral von 9,43 % (SA 1,84 %) verzeichnet werden (Abbildung 91 (Anhang Seite 141)). Im Zeitintervall zwischen 23 min (1380 s) und 87 min (5220 s) konnte der Knorpel medial zwischen 6,99 % (87 min (5220 s); SA 0,87 %) und 7,03 % (40 min (2400 s); SA 0,91 %) wieder aufrichten, lateral zwischen 9,69 % (23 min (1380 s); SA 1,63 %) und 10,12 % (87 min (5220 s); SA 2,11 %). In der medialen Patella konnte ab 8 min (480 s) keine Steigung mehr

festgestellt werden, lateral konnte auch im letzten Messintervall zwischen 73 min (4380 s) und 87 min (5220 s) eine Steigung von 0,05 %/s (SA 0,12 %/s) gemessen werden. Somit befand sich der Knorpel der medialen Patella im Equilibrium (Kriterium: Steigung < 0,005 %/s), während sich der Knorpel der lateralen Patella weiterhin erholte. 87 min (5220 s) nach der zyklischen Belastung fehlten medial 2,18 % (SA 2,13 %) und lateral 1,66 % (SA 2,38 %) zum Wiedererreichen der initialen Knorpeldicke. Der Knorpel konnte somit insgesamt medial 76,22 % (SA 11,69 %) und lateral 85,90 % (SA 18,03 %) des Höhenverlusts ausgleichen (Abbildung 60).

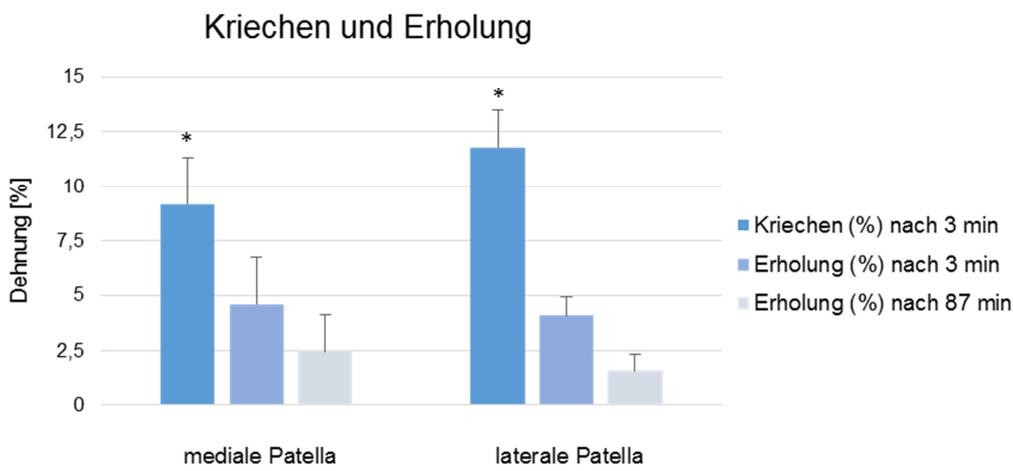


Abbildung 60: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Kriechverhalten und Knorpelerholung, gemessen als Reduktion der ursprünglichen Knorpeldicke, im Vergleich nach 3 min und 87 min (\* signifikanter Unterschied im Kriechverhalten zwischen medial und lateral (T-Test,  $p < 0,05$ )).

In den Daten von ECKSTEIN 1999 lag 3-7 min nach zyklischer Belastung eine Reduktion des Knorpelvolumens von etwa 5 % vor, in unseren Versuchen medial 4,52 % (SA 2,15 %) und lateral 4,15 % (SA 2,29 %). Sowohl *in vivo* als auch in unserer Studie konnte nach 87 min Entlastung keine vollständige Knorpelerholung beobachtet werden. In den Versuchen von ECKSTEIN 1999 erreichte der Knorpel um weniger als 1 % seine initiale Ausgangsdicke, während in unseren Versuchen nach 87 min medial 2,18 % (SA 2,13 %) und lateral 1,66 % (SA 2,38 %) fehlten. Im Gegensatz zu den *in vivo* erhobenen Untersuchungen fand die Knorpelerholung *in vitro* hauptsächlich innerhalb der ersten Minuten nach Belastung statt und ging ab 13 min in ein Plateau über. In den Untersuchungen von ECKSTEIN 1999 fand in den ersten Minuten nach Belastung kaum eine Erholung statt (Abbildung 61; Tabelle 24 (Anhang Seite 140)) (ECKSTEIN 1999 [67]).

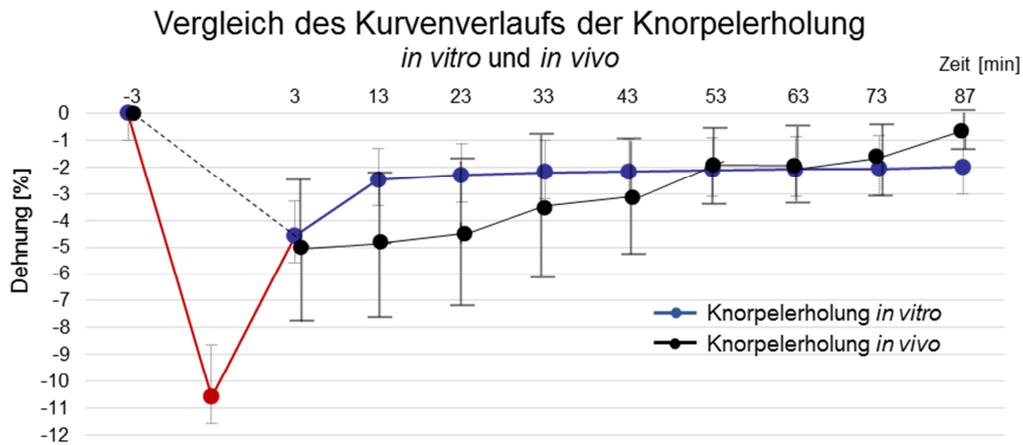


Abbildung 61: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial  $n = 7$ , lateral  $n = 7$ ): Vergleich des Kurvenverlaufs der Knorpelerholung der *in vivo* und *in vitro* erhobenen Daten. Schwarz: Ortsverlauf der Knorpelerholung mittels MRT nach ECKSTEIN 1999 (ECKSTEIN 1999 [67]). Blau: Ortsverlauf der Knorpelerholung mittels Indentation. Rot: Zusätzlich gewonnene Daten aus der Indentation: Eindringtiefe nach 3 min Belastung und Kurvenverlauf der Erholung bis 3 min.

## 4.3 Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch

### 4.3.1 Knorpeldicke

Im gesamten Kniegelenk wurde die dünnste Knorpeldicke in der lateralen Tibia (posterior 0,36 mm (SA 0,16 mm)) gemessen. Der dickste Knorpel wurde in der Patella (medial-distal 1,14 mm (SA 0,45 mm); lateral-proximal 1,14 mm (SA 0,40 mm)) bestimmt (Tabelle 3).

Die geringsten Knorpeldicken innerhalb der Tibia wurden lateral und medial jeweils posterior (lateral 0,36 mm (SA 0,16 mm); medial 0,47 mm (SA 0,18 mm)) gemessen, die dickste medial-anterior (0,88 mm (SA 0,31 mm)). Die Knorpeldicke der lateralen Tibia war signifikant dünner als die der medialen Tibia (T-Test,  $p < 0,01$ ). Die gegenüberliegenden Testlokalisationen anterior und zentral unterschieden sich in der Dicke jeweils signifikant (T-Test,  $p < 0,04$ ).

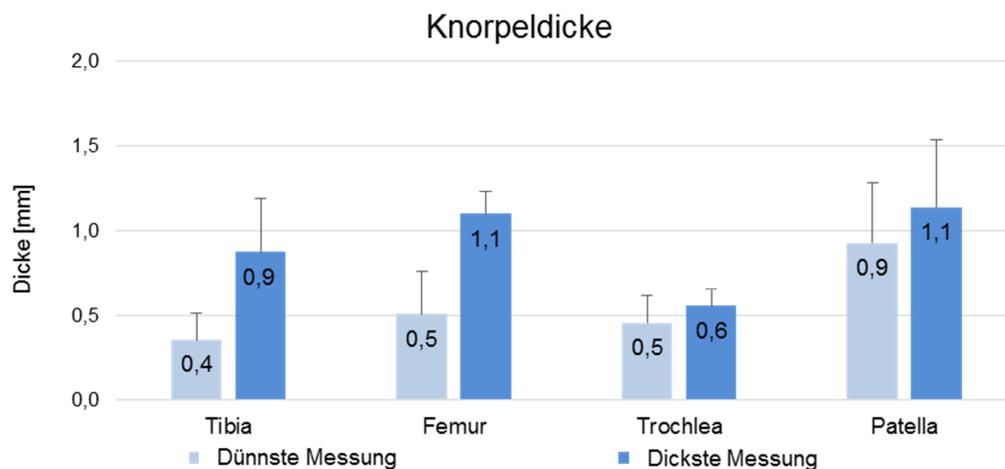
Ebenso wurden im lateralen Femur dünnere Knorpeldicken als medial gemessen. Die Dicken variierten zwischen 0,51 mm (SA 0,26 mm) lateral-posterior und 1,10 mm (SA 0,13 mm) medial-zentral. Im Femur zeigten die gegenüberliegenden Testlokalisationen anterior und posterior signifikante Unterschiede (T-Test,  $p < 0,04$ ).

Die Knorpeldicken innerhalb der Trochlea und Patella waren sowohl innerhalb jeder Seite als auch in der gesamten Probe relativ homogen. Die Knorpeldicke der Trochlea variierte zwischen 0,46 mm (SA 0,16 mm) lateral-proximal und 0,56 mm (SA 0,10 mm) medial-distal. Die geringste Knorpeldicke in der Patella wurde medial-proximal bei 0,93 mm (SA 0,36 mm), die

höchste Knorpeldicke medial-distal bzw. lateral-proximal bei jeweils 1,14 mm (SA 0,45 mm; lateral-proximal SA 0,40 mm) ermittelt. Somit zeigten sich große Unterschiede zwischen der dünnsten und der höchsten Knorpeldicke in Tibia und Femur, während in Trochlea und Patella geringfügige Unterschiede gemessen wurden (Abbildung 62).

*Tabelle 3: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Knorpeldicke der verschiedenen Testlokalisationen für die poröse Indentation, jeweils Mittelwert und SA in mm.*

Probe	Medial anterior/proximal	Medial zentral	Medial posterior/distal	Lateral anterior/proximal	Lateral zentral	Lateral posterior/distal
Tibia	0,88 (SA 0,31)	0,79 (SA 0,15)	0,47 (SA 0,18)	0,42 (SA 0,13)	0,48 (SA 0,16)	0,36 (SA 0,16)
Femur	0,90 (SA 0,32)	1,10 (SA 0,13)	0,90 (SA 0,29)	0,57 (SA 0,21)	0,54 (SA 0,12)	0,51 (SA 0,26)
Trochlea	0,50 (SA 0,17)	0,54 (SA 0,22)	0,56 (SA 0,10)	0,46 (SA 0,16)	0,49 (SA 0,09)	0,51 (SA 0,15)
Patella	0,93 (SA 0,36)		1,14 (SA 0,45)	1,14 (SA 0,40)		1,03 (SA 0,23)



*Abbildung 62: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der jeweils geringsten und höchsten Knorpeldicken in Tibia, Femur, Trochlea und Patella.*

## 4.3.2 Steifigkeit

### 4.3.2.1 Lokalisationsintern

Mit Ausnahme im lateral-zentralen und lateral-posterioren Femur sowie der lateral-proximalen Trochlea konnte ein Steifigkeitsanstieg während der Zyklen festgestellt werden. In der Trochlea nahm die Steifigkeit zwischen 1. und 5. Zyklus am deutlichsten zu. In einigen Versuchen konnte ein Anstieg zwischen 3. und 5. Zyklus verzeichnet werden, in anderen

Versuchen änderte sich die Steifigkeit nur marginal. Der Steifigkeitsanstieg war für den 1. und 3. Zyklus sowie für den 3. und 5. Zyklus nicht signifikant (T-Test,  $p > 0,05$ ) (Tabelle 4).

**Tabelle 4: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisierung): Steifigkeiten der verschiedenen Testlokalisationen in der porösen Indentation, jeweils Mittelwert und SA in N/mm für den 1., 3. und 5. Zyklus.**

Probe	Zyklus	Medial anterior/proximal	Medial zentral	Medial posterior/distal	Lateral anterior/proximal	Lateral zentral	Lateral posterior/distal
Tibia	Zyklus 1	3,87 (SA 1,80)	2,96 (SA 1,41)	4,57 (SA 2,72)	5,16 (SA 2,20)	8,00 (SA 3,06)	9,04 (SA 2,33)
	Zyklus 3	4,99 (SA 1,98)	3,07 (SA 1,63)	6,22 (SA 4,24)	7,89 (SA 2,97)	10,28 (SA 4,89)	12,61 (SA 3,17)
	Zyklus 5	5,11 (SA 2,20)	3,06 (SA 1,69)	6,63 (SA 4,89)	8,22 (SA 2,91)	10,33 (SA 4,95)	13,88 (SA 3,60)
Femur	Zyklus 1	6,12 (SA 3,84)	5,04 (SA 2,80)	5,41 (SA 4,25)	6,50 (SA 3,44)	9,25 (SA 3,08)	7,89 (SA 2,42)
	Zyklus 3	7,38 (SA 4,83)	5,54 (SA 2,41)	5,82 (SA 3,63)	7,86 (SA 3,61)	10,28 (SA 2,25)	10,69 (SA 3,02)
	Zyklus 5	7,48 (SA 4,78)	5,91 (SA 2,54)	5,83 (SA 3,64)	8,79 (SA 3,89)	9,80 (SA 2,01)	10,27 (SA 2,31)
Trochlea	Zyklus 1	5,46 (SA 1,75)	7,10 (SA 1,20)	6,23 (SA 2,79)	7,50 (SA 3,85)	5,76 (SA 2,04)	6,06 (SA 2,28)
	Zyklus 3	7,09 (SA 2,85)	8,32 (SA 2,15)	7,23 (SA 3,55)	8,47 (SA 3,48)	9,04 (SA 4,79)	8,21 (SA 4,01)
	Zyklus 5	7,36 (SA 2,90)	9,45 (SA 3,74)	8,30 (SA 4,71)	7,93 (SA 2,56)	9,28 (SA 4,94)	8,39 (SA 4,33)
Patella	Zyklus 1	3,03 (SA 1,53)		2,99 (SA 1,34)	2,10 (SA 0,66)		3,94 (SA 1,29)
	Zyklus 3	4,79 (SA 3,44)		3,90 (SA 1,73)	3,56 (SA 3,10)		4,77 (SA 1,65)
	Zyklus 5	5,17 (SA 4,01)		3,94 (SA 1,82)	3,55 (SA 2,66)		4,89 (SA 1,58)

### 4.3.2.2 Tibia

Der weichste Knorpel innerhalb der Tibia wurde medial-zentral (Zyklus 1: 2,96 N/mm (SA 1,41 N/mm); Zyklus 3: 3,07 N/mm (SA 1,63 N/mm); Zyklus 5: 3,06 N/mm (SA 1,69 N/mm)) gemessen. Der härteste Knorpel wurde lateral-posterior (Zyklus 1: 9,04 N/mm (SA 2,33 N/mm); Zyklus 3: 12,61 N/mm (SA 3,17 N/mm); Zyklus 5 13,88 N/mm (SA 3,60 N/mm)) verzeichnet. Insgesamt waren die Lokalisationen in der lateralen Tibia steifer als in der medialen Tibia (Abbildung 63; Tabelle 4). Im Vergleich der Testlokalisationen innerhalb der medialen und lateralen Tibia zeigte sich jeweils kein signifikanter Unterschied in der Steifigkeit (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ).

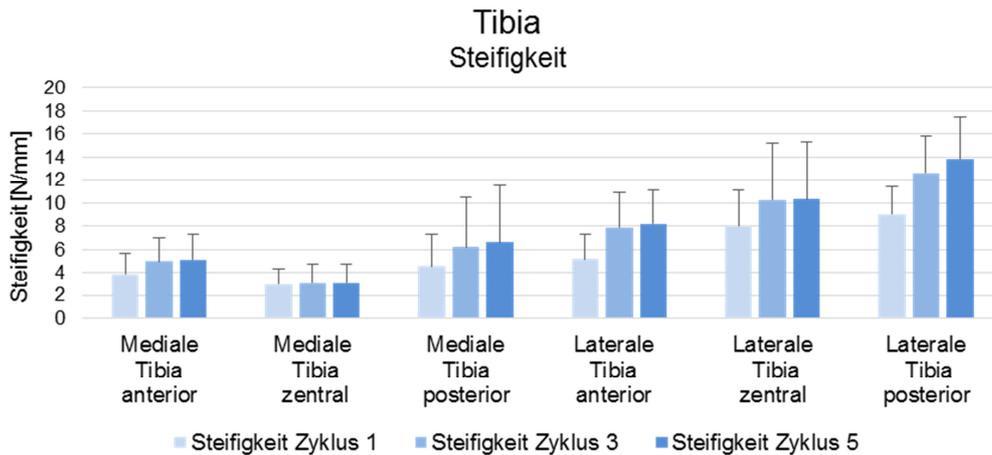


Abbildung 63: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten in der Tibia. Es konnte ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl verzeichnet werden.

### 4.3.2.3 Femur

Auch im Femur wurden medial geringere Steifigkeiten als lateral gemessen. Auch hier wurde medial-zentral der weichste Knorpel (Zyklus 1: 5,04 N/mm (SA 2,80 N/mm); Zyklus 3: 5,54 N/mm (SA 2,41 N/mm); Zyklus 5: 5,91 N/mm (SA 2,54 N/mm)), der härteste lateral-zentral (Zyklus 1: 9,25 N/mm (SA 3,08 N/mm); Zyklus 3: 10,28 N/mm (SA 2,25 N/mm); Zyklus 5: 9,80 N/mm (SA 2,01 N/mm)) gemessen (Abbildung 64; Tabelle 4). Auch im Femur wurden medial und lateral jeweils keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Steifigkeit festgestellt (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ).

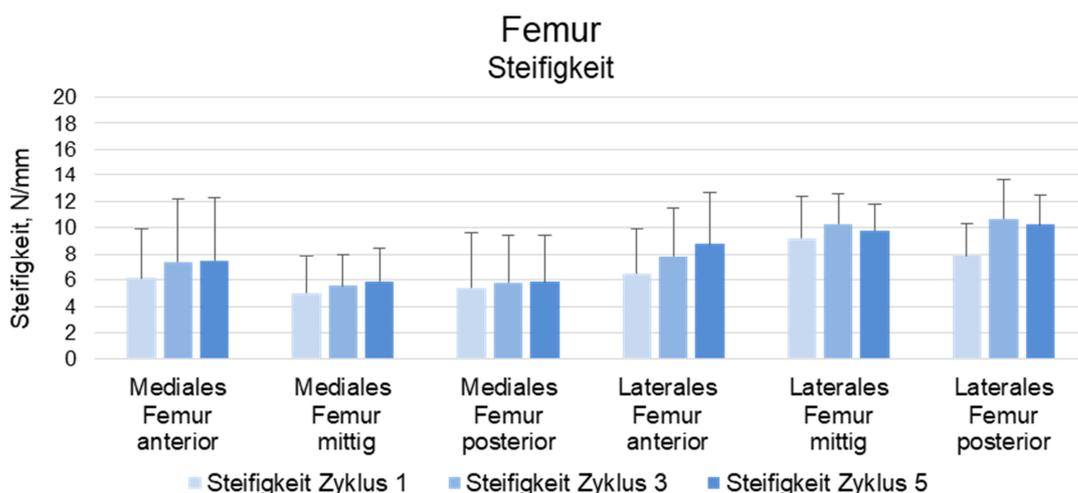


Abbildung 64: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten im Femur. Es konnte im Allgemeinen ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl mit Ausnahme im lateral-zentralen und lateral-posterioren Femur verzeichnet werden.

#### 4.3.2.4 Trochlea

Die Trochlea war hinsichtlich ihrer Steifigkeit zwischen den Lokalisationen homogener als Tibia und Femur. Es konnte jeweils kein signifikanter Unterschied in den medialen und lateralen Testlokalisationen gefunden werden (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ). Wie bereits zuvor erwähnt, stieg die Steifigkeit während der Zyklen in dieser Probe am stärksten an (Abbildung 65; Tabelle 4).

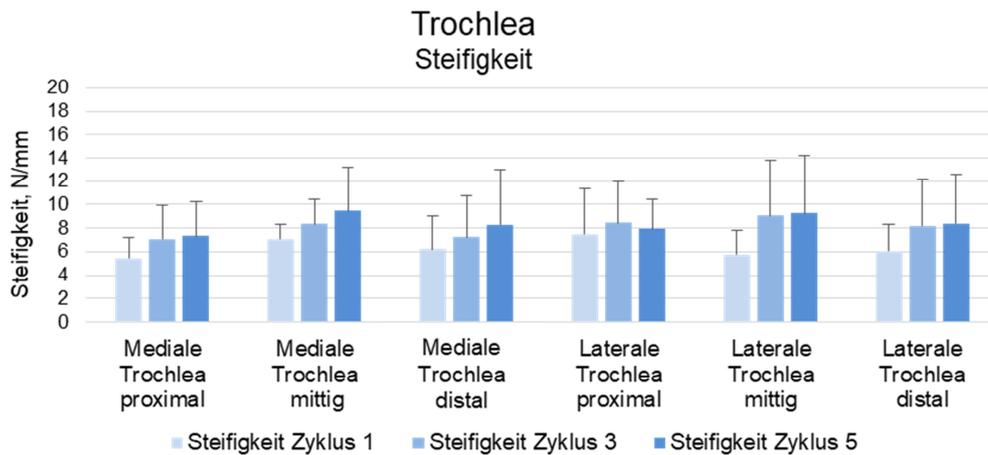


Abbildung 65: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten in der Trochlea. Es konnte ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl verzeichnet werden.

#### 4.3.2.5 Patella

In der Patella wurden im Gesamten die geringsten Steifigkeiten verzeichnet. Die weichste Testlokalisation lag dabei in der lateral-proximalen Patella (Zyklus 1: 2,10 N/mm (SA 0,66 N/mm); Zyklus 3: 3,56 N/mm (SA 3,10 N/mm); Zyklus 5: 3,55 N/mm (SA 2,66 N/mm)), die steifste in der lateral-distalen Patella (Zyklus 1: 3,94 N/mm (SA 1,29 N/mm); Zyklus 3: 4,77 N/mm (SA 1,65 N/mm); Zyklus 5: 4,89 N/mm (SA 1,58 N/mm)) (Abbildung 66; Tabelle 4). Die Patella zeigte ebenfalls homogene Ergebnisse und im statistischen Vergleich keine Signifikanz (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ).

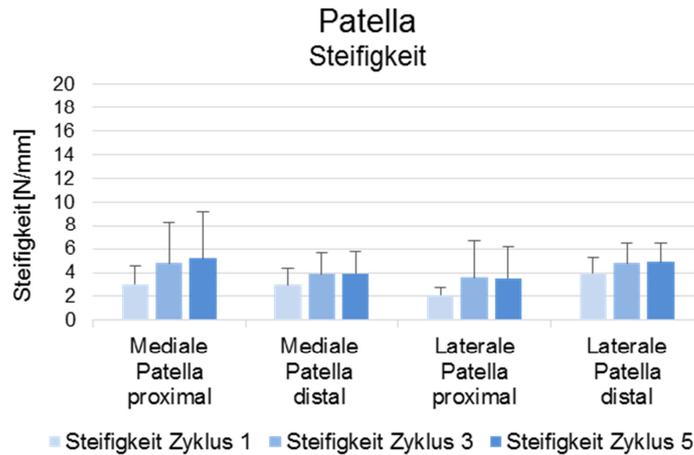


Abbildung 66: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten in der Patella. Es konnte im Allgemeinen ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl verzeichnet werden.

### 4.3.3 Kriechen

Auch im Kriechverhalten zeigte sich ein leichter Anstieg der Eindringtiefe zwischen 1. und 5. Zyklus in allen Versuchen (Tabelle 5).

Tabelle 5: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Kriechverhalten der verschiedenen Testlokalisationen in der porösen Indentation, jeweils Mittelwert und SA in % der Ausgangsdicke für den 1., 3. und 5. Zyklus.

Probe	Zyklus	Medial anterior/proximal	Medial zentral	Medial posterior/distal	Lateral anterior/proximal	Lateral zentral	Lateral posterior/distal
Tibia	Zyklus 1	13,99 (SA 8,03)	15,04 (SA 6,20)	28,12 (SA 9,04)	25,75 (SA 9,08)	14,77 (SA 4,57)	24,06 (SA 9,74)
	Zyklus 3	15,21 (SA 10,32)	15,59 (SA 6,67)	31,30 (SA 11,24)	27,37 (SA 9,99)	15,37 (SA 5,05)	26,02 (SA 10,51)
	Zyklus 5	15,63 (SA 10,76)	15,71 (SA 6,75)	31,86 (SA 11,36)	27,85 (SA 10,54)	15,77 (SA 5,46)	26,61 (SA 10,66)
Femur	Zyklus 1	10,61 (SA 4,76)	7,95 (SA 2,46)	11,06 (SA 5,70)	15,97 (SA 6,68)	11,78 (SA 2,73)	19,37 (SA 13,00)
	Zyklus 3	10,74 (SA 4,70)	8,10 (SA 2,49)	11,39 (SA 5,95)	17,41 (SA 8,31)	12,18 (SA 3,13)	20,83 (SA 14,91)
	Zyklus 5	10,92 (SA 4,77)	8,13 (SA 2,51)	11,64 (SA 6,37)	17,63 (SA 8,43)	13,38 (SA 3,23)	21,06 (SA 15,16)
Trochlea	Zyklus 1	15,30 (SA 8,85)	13,33 (SA 3,32)	17,59 (SA 8,20)	13,85 (SA 9,01)	19,03 (SA 3,59)	19,69 (SA 7,45)
	Zyklus 3	16,17 (SA 9,84)	13,73 (SA 3,27)	18,57 (SA 8,41)	13,60 (SA 8,11)	20,57 (SA 4,09)	21,03 (SA 8,11)
	Zyklus 5	16,39	13,85	18,78	13,51	21,19	21,33

		(SA 10,11)	(SA 3,38)	(SA 8,39)	(SA 7,77)	(SA 4,52)	(SA 8,53)
Patella	Zyklus 1	15,15 (SA 7,97)		12,07 (SA 1,34)	16,20 (SA 7,49)		10,83 (SA 3,53)
	Zyklus 3	16,08 (SA 9,55)		12,45 (SA 2,77)	18,17 (SA 9,08)		11,43 (SA 4,07)
	Zyklus 5	16,56 (SA 10,49)		12,56 (SA 2,82)	18,98 (SA 10,04)		11,62 (SA 4,24)

### 4.3.3.1 Tibia

Das Knorpelgewebe der Tibia wurde zwischen 13,99 % (medial-anterior; 1. Zyklus (SA 8,03 %)) und 31,86 % (medial-posterior; 5. Zyklus (SA 11,36 %)) eingedrückt. Im Vergleich der Lokalisationen für den 3. Zyklus wurde der Knorpel medial-anterior und lateral-zentral am wenigsten tief (3. Zyklus: medial-anterior 15,21 % (SA 10,32 %); lateral-zentral 15,37 % (SA 5,05 %) und medial-posterior am tiefsten eingedrückt (3. Zyklus: medial-posterior 31,30 % (SA 11,24 %)) (Abbildung 67; Tabelle 5). Die Dehnung des Kriechverhaltens innerhalb des medialen Tibiaplateaus zeigte signifikante Unterschiede (3. Zyklus; ANOVA,  $p < 0,01$ ). Es unterschied sich die medial-posteriore Testlokalisierung jeweils von der medial-anterioren und medial-zentralen Testlokalisierung statistisch signifikant (3. Zyklus; Turkey's,  $F(2,18) = 6,489$ ,  $p = 0,007$ ).

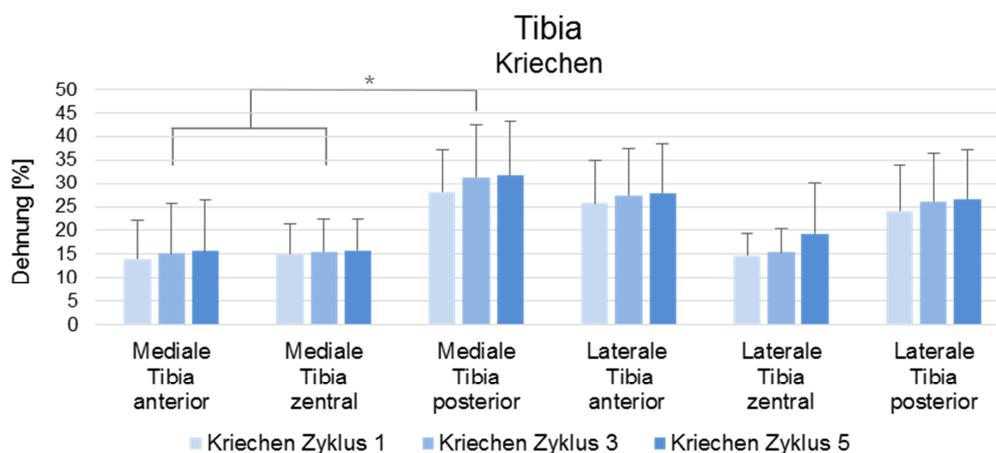


Abbildung 67: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisierung): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Tibia. Es zeigte sich ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl (\* signifikanter Unterschied (3. Zyklus; Turkey's,  $F(2,18) = 6,489$ ,  $p = 0,007$ )).

### 4.3.3.2 Femur

Im Femur wurden deutlich homogenere Ergebnisse in der Eindringtiefe der verschiedenen Lokalisationen gefunden. Diese variierte zwischen 7,95 % (medial-zentral; 1. Zyklus (SA

2,46 %) und 21,06 % (lateral-posterior; 5. Zyklus (SA 15,16 %)). Im Vergleich der Testlokalisationen innerhalb des Femurs wurde die geringste Eindringtiefe medial-zentral (3. Zyklus 8,10 % (SA 2,49 %)), die höchste lateral-posterior (3. Zyklus 20,83 % (SA 14,91 %)) gemessen (Abbildung 68; Tabelle 5). Die Dehnungen des Kriechverhaltens innerhalb des jeweils medialen und lateralen Femurs zeigten keine signifikante Unterschiede (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ).

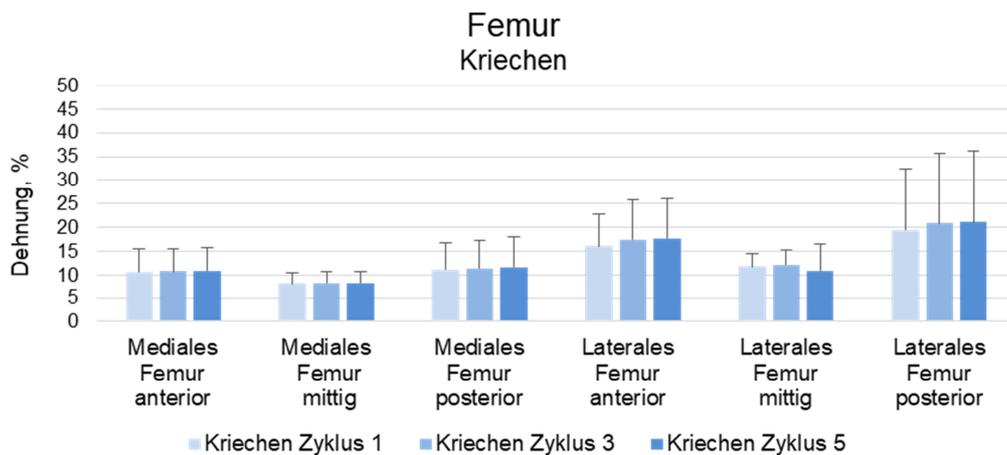


Abbildung 68: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb des Femurs. Es zeigte sich im Allgemeinen ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl.

#### 4.3.3.3 Trochlea

Die Trochlea zeigte die höchste Homogenität im Kriechverhalten der verschiedenen Prüfstellen. Dieses lag zwischen 13,33 % (medial-zentral; 1. Zyklus (SA 3,32 %)) und 21,33 % (lateral-distal; 5. Zyklus (SA 8,53 %)). Die geringste Eindringtiefe wurde im Vergleich der Lokalisationen lateral-proximal bei 13,60 % (3. Zyklus (SA 8,11 %)); die höchste lateral-distal bei 21,03 % (3. Zyklus (SA 8,11 %)) bestimmt (Abbildung 69; Tabelle 5). Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied innerhalb der jeweils medialen und lateralen Prüfstellen (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ).

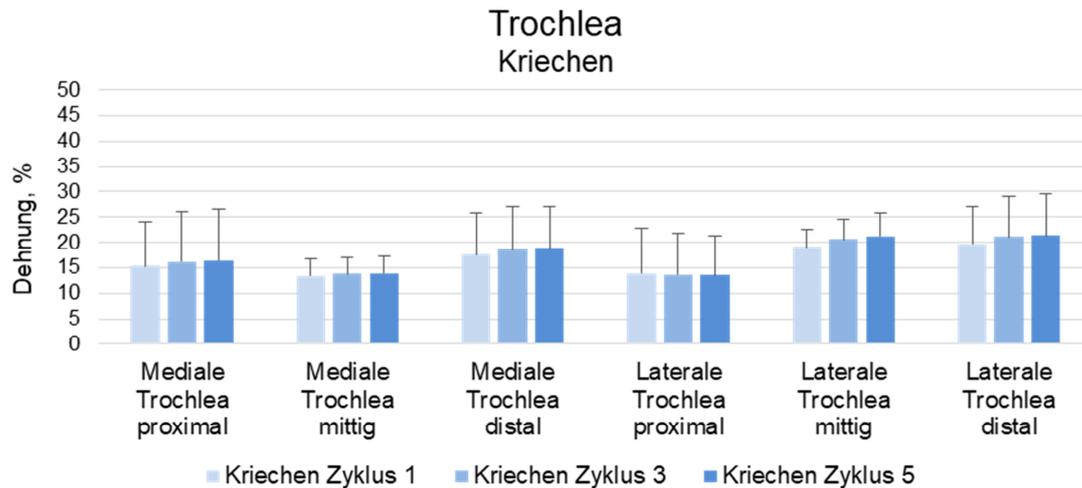


Abbildung 69: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Trochlea. Es zeigte sich im Allgemeinen ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl.

#### 4.3.3.4 Patella

In der Patella wurde ebenfalls eine sehr hohe Homogenität im Kriechverhalten festgestellt. Dabei wurde die Patella zwischen 10,83 % (lateral-distal; 1. Zyklus (SA 3,53 %)) und 18,98 % (lateral-proximal; 5. Zyklus (SA 10,04 %)) eingedrückt. Im Vergleich der Lokalisationen für den 3. Zyklus zeigte sich die geringste Tiefe im Kriechverhalten lateral-distal (3. Zyklus 11,43 % (SA 4,07 %)); die höchste lateral-proximal (3. Zyklus 18,17 % (SA 9,08 %)) (Abbildung 70; Tabelle 5). Auch hier wurde im Vergleich der Testlokalisationen innerhalb der medialen und lateralen Patella keine Signifikanz gefunden (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ).

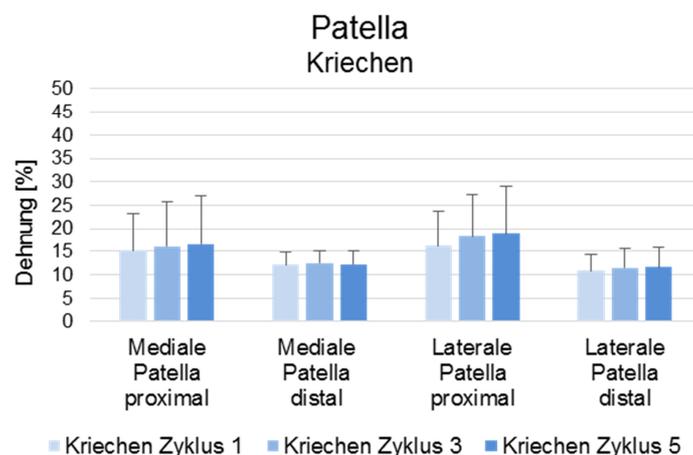
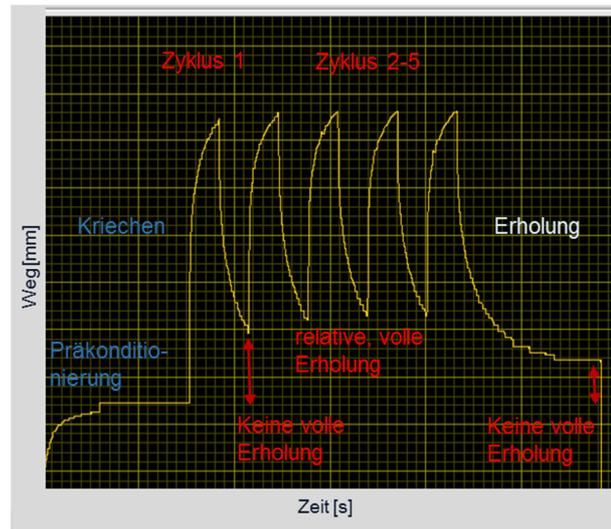


Abbildung 70: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Patella. Es zeigte sich ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl.

### 4.3.4 Erholung

Es zeigte sich bereits graphisch im Wegverlauf, dass sich der Knorpel vor allem im 1. Zyklus relativ zum Kriechverhalten nicht vollständig erholte. In den restlichen Zyklen 2-5 konnte sich der Knorpel relativ zum jeweiligen Kriechen hingegen nahezu voll erholen. Nach 5 min konnte der Knorpel eine nicht ganz vollständige Erholung erreichen (Abbildung 71).



*Abbildung 71: Beispielhafter Wegverlauf des quasistatischen zyklischen Indentationsversuchs: Während der Präkonditionierung wurde ein Equilibrium erreicht. Im 1. Zyklus zeigte der Knorpel höheres Kriechverhalten als Erholungsverhalten, er konnte seine Ursprungsdicke nicht erreichen. Während des 2.-5. Zyklus zeigte der Knorpel nahezu elastisches Verhalten. Auch nach 5 min Erholung konnte die Ausgangshöhe nicht ganz erreicht werden.*

Der Energieverlust während des 1. Zyklus sowie das vorwiegend elastische Verhalten während des 2.-5. Zyklus kann anhand des Kraft-Weg-Diagramms als Hysteresekurve veranschaulicht werden (Abbildung 72). Im 2.-5. Zyklus war die Höhe des Kriechverhaltens und der Erholung annähernd gleich

Aufgrund der geringen beeinflussenden Faktoren hinsichtlich Indentorausrichtung sowie aufgrund der homogenen Ergebnisse hinsichtlich Dicke, Steifigkeit, Kriechen und Erholung wurden die Kurvenverläufe von Kriechen und umgekehrter Erholung in der medial-zentralen Trochlea für den 1., 3. und 5. Zyklus verglichen.



Abbildung 72: Beispielhaftes Kraft-Weg-Diagramm des quasistatischen zyklischen Indentationsversuchs. Im 1. Zyklus konnte der Knorpel seine Ausgangshöhe nicht wieder erreichen. Im 2.-5. Zyklus war die Höhe des Kriechverhaltens und der Erholung annähernd gleich. Weiterhin ist der unterschiedliche Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechverhaltens ersichtlich.

Im 1. Zyklus lag die Erholungskurve während des Zyklus und am Ende deutlich unterhalb der Kriechkurve (Abbildung 73). Bereits nach 1 s wurde der Knorpel während der Belastung 1,72 % (SA 1,31 %), nach 2 s 2,88 % (SA 2,42 %) tiefer eingedrückt, als er sich in dieser Zeit erholen konnte. Nach 3 s konnte sich der Knorpel zu 3,20 % (SA 2,65 %) im Vergleich nicht wieder aufrichten. Im 1. Zyklus lag die Erholung maximal bei 3,43 % (SA 3,15 %) nach 8,3 s zurück. Zwischen 20 und 60 s verringert sich die Differenz zwischen Kriechen und Erholung auf 2,2 % (SA 4,39 %) am Zyklusende.

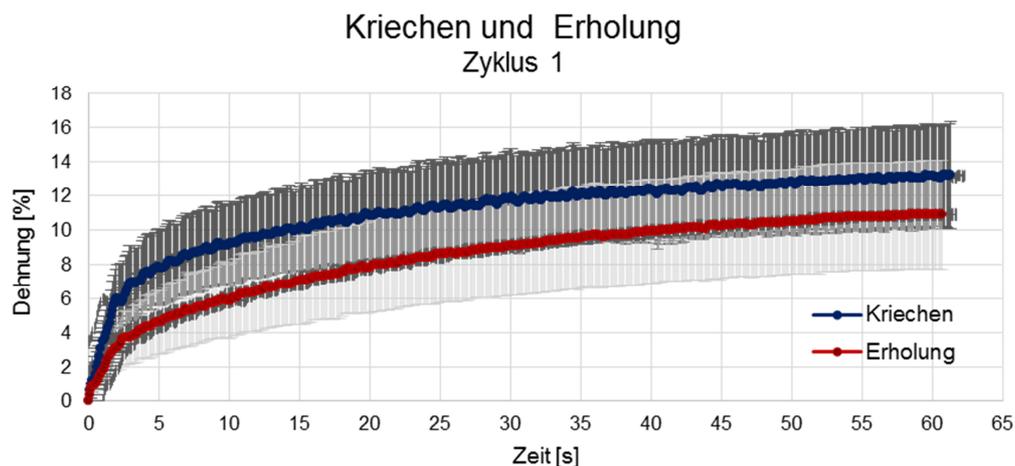


Abbildung 73: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea im 1. Zyklus.

Im 3. Zyklus konnte unabhängig von der Testlokalisierung in allen Versuchen eine nahezu vollständige Erholung erreicht werden (Tabelle 7). Daher wurden für den 3. Zyklus nähere Betrachtungen hinsichtlich der Unterschiede von Kriech- und Erholungsverhalten erhoben und zudem die Steigungen der Kurvenverläufe ausgewertet. Auch im 3. Zyklus lag die Erholungskurve initial hinter der Kriechkurve zurück, erreichte jedoch am Ende des Zyklus eine volle Erholung. Am Zyklusende entsprach also die Höhe des Kriechverhaltens der des Erholungsverhaltens (Abbildung 74).

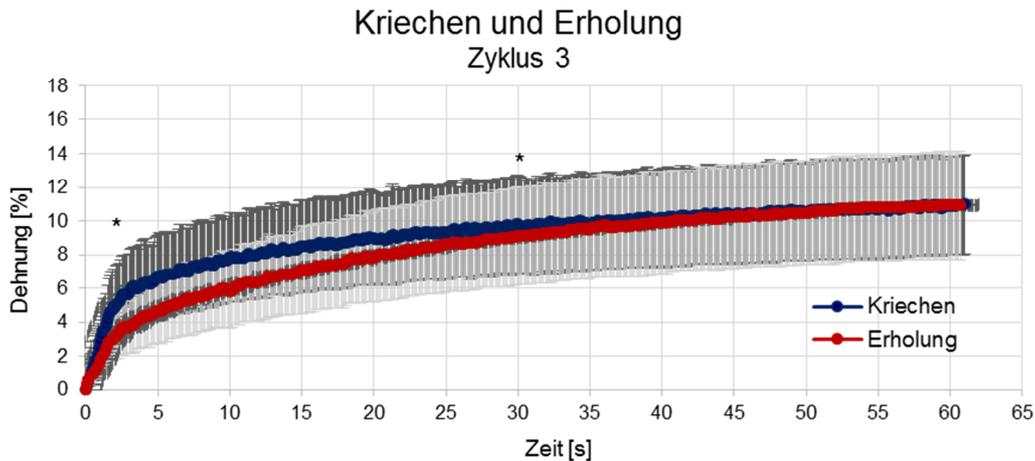


Abbildung 74: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisierung): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea im 3. Zyklus. Bei 2 s und 30 s lag ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Kriechen und Erholung vor (\* signifikanter Unterschied (T-Test,  $p < 0,05$ )).

Somit wurde die initial deutliche Differenz der ersten Sekunden im Verlauf kontinuierlich kleiner, bis die Knorpelerholung nach etwa 50 s nur noch minimal hinter dem Kriechverhalten zurücklag (Abbildung 75).

Nach 1 s kroch der Knorpel bereits 1,10 % (SA 1,82 %) und nach 2 s 1,79 % (SA 2,58 %) mehr, als er sich erholte. Nach 3 s lag die Erholung 1,83 % hinter dem Kriechverhalten zurück. Während des 3. Zyklus wurde der Knorpel um das Maximum von 2,25 % (SA 2,89 %) nach bereits 3,3 s mehr eingedrückt als er sich zu dieser Zeit wieder aufrichten konnte. Zwischen 3,3 und 6,7 s lag die Erholung zwischen 2,25 % und 1,90 % zurück. Nach etwa 6,7 s wurde der Rückstand kontinuierlich ausgeglichen bis die Knorpelerholung nach 49,9 s bei 0,04 % (SA 4,24 %) etwa dem Kriechverhalten entsprach und am Ende vollständig ausglich (0,00 % (SA 4,34 %)). Auch am Ende des 3. Zyklus überstieg das Erholungsverhalten das Kriechverhalten nicht (Abbildung 76).

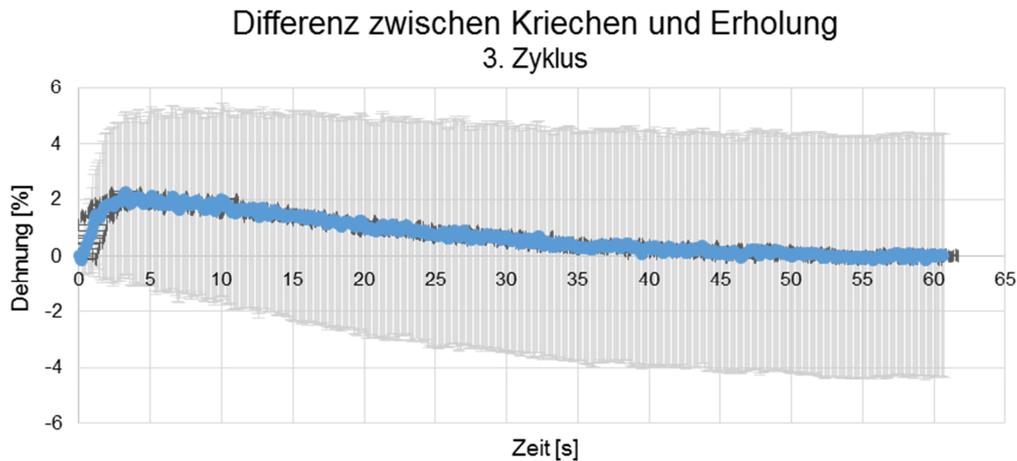


Abbildung 75: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der Differenz zwischen Kriechen und Erholung für den 3. Zyklus in der medial-zentralen Tibia.

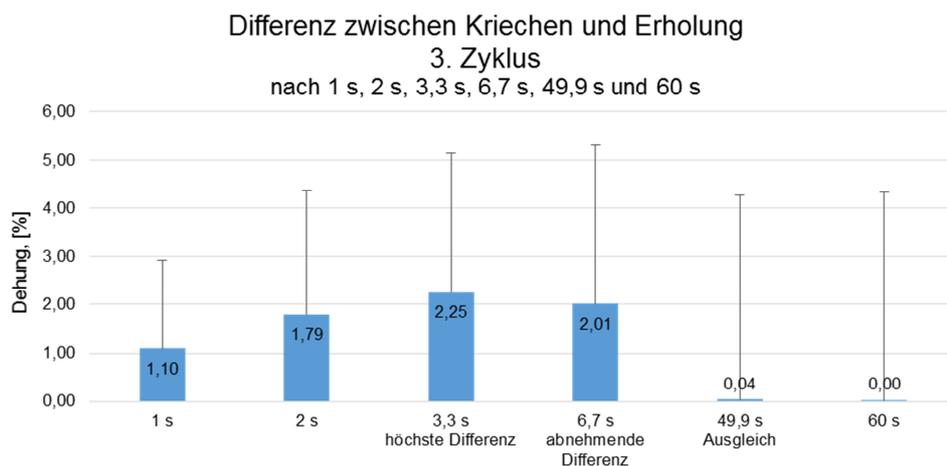
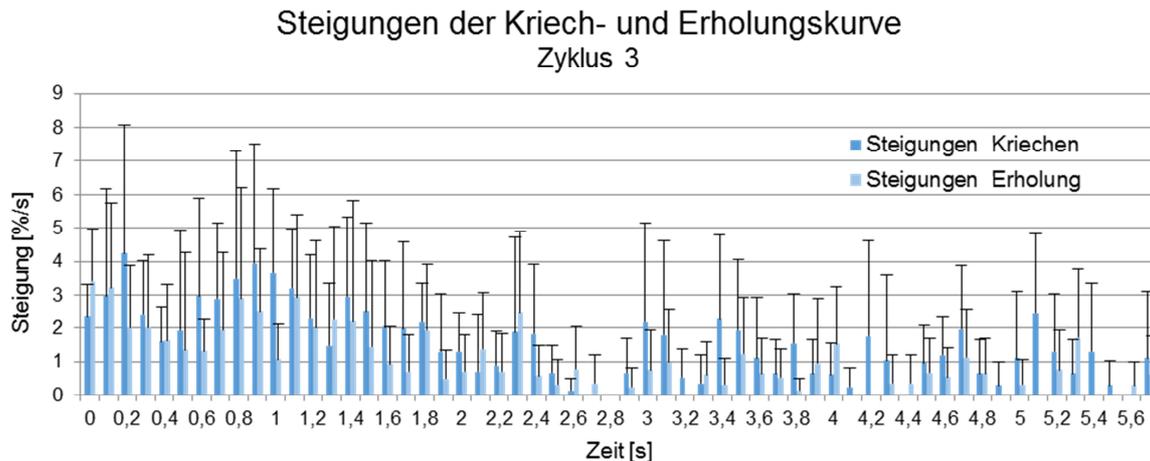


Abbildung 76: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der Differenz zwischen Kriechen und Erholung bei 1 s, 2 s, 3,3 s, 6,7 s, 49,9 s und 60 s. Nach 3,3 s bestand der höchste Unterschied zwischen Kriechen und Erholung. Nach 6,7 s verringerte sich der Unterschied zwischen Kriechen und Erholung kontinuierlich bis nach 49,9 s die Knorpelerholung dem Kriechverhalten entsprach. Am Ende des Zyklus entsprach die Erholung dem Kriechverhalten.

Betrachtet man die Steigungen zwischen den einzelnen Messwerten aus Kriechen und Erholung, so konnte festgestellt werden, dass die Steigungen zu Beginn von Kriechen und Erholung höher als am Ende ausfielen (Abbildung 77).



**Abbildung 77:** Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der Steigungen für die Kriech- und Erholungskurve im Vergleich. Zu Beginn konnten für beide Kurven initial höhere Steigungen zwischen zwei Messpunkten als am Ende gemessen werden.

Im Vergleich von Kriechen und Erholung wurde der Knorpel nach 1 s 2,88 % (SA 1,73 %) eingedrückt und konnte sich in dieser Zeit um 1,78 % (SA 0,55 %) erholen. Dabei lag auch die Steigung des Kriechens mit 2,76 %/s (SA 1,68 %/s) über der Steigung der Erholung mit 1,54 %/s (SA 0,40 %/s). Der Unterschied war dabei jeweils statistisch nicht signifikant (T-Test,  $p$ -Wert  $> 0,05$ ). Nach 2 s zeigte der Knorpel der medial-zentralen Trochlea ein Kriechverhalten von 4,89 % (SA 2,23 %), die Erholung lag mit 3,09 % (SA 1,28 %) statistisch signifikant hinter dem Kriechverhalten zurück (T-Test,  $p$ -Wert  $< 0,02$ ). Die Steigung der Kriechkurve lag zwischen 0-2 s bei 2,60 %/s (SA 1,29 %/s), die Steigung der Erholungskurve bei 1,69 %/s (SA 1,07 %/s). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied (T-Test,  $p$ -Wert  $> 0,05$ ). Nach 30 s unterschieden sich das Kriechverhalten mit 9,81 % (SA 2,91 %) und das Erholungsverhalten mit 9,10 % (SA 2,90 %) statistisch signifikant (T-Test,  $p$ -Wert  $< 0,02$ ). Während zwischen 0-2 s das Kriechverhalten eine höhere Steigung zeigte, wies die Erholung im Intervall zwischen 2-30 s mit 0,18 %/s (SA 0,05 %/s) eine statistisch signifikant höhere Steigung als das Kriechverhalten mit 0,14 %/s (SA 0,04 %/s) auf (T-Test,  $p$ -Wert  $< 0,05$ ). Am Zyklusende bei 60 s zeigte der Knorpel ein Kriechverhalten von 10,91 % (SA 2,93 %) und der Knorpel konnte sich mit 10,92 % (SA 3,20 %) voll erholen. Zwischen 30-60 s wiesen Erholungs- und Kriechkurve mit 0,04 %/s (SA 0,02 %/s) und 0,06 %/s (SA 0,03 %/s) eine annähernd gleiche Steigung auf, wobei die der Erholungskurve leicht höher war. Es unterschieden sich weder Kriechen und Erholung bei 60 s noch die Steigung der zweiten Zyklushälfte statistisch signifikant (T-Test,  $p$ -Wert  $> 0,05$ ). Initial lag also die Steigung der Erholungskurve deutlich hinter der Kriechkurve zurück, während die Steigung der Erholungskurve im mittleren Kurvenabschnitt statistisch signifikant überwog und im letzten Kurvenab-

schnitt nahezu identisch war. Während des gesamten dritten Zyklus zwischen 0-60 s lag die Steigung der Kriechkurve mit 0,09 %/s (SA 0,03 %/s) statistisch signifikant über der Erholungskurve mit 0,08 %/s (SA 0,02 %/s) (T-Test, p-Wert < 0,00). Beide Kurven erreichten kein Equilibrium (Kriterium: Steigung < 0,005 %/s) (Abbildung 78; Tabelle 6).

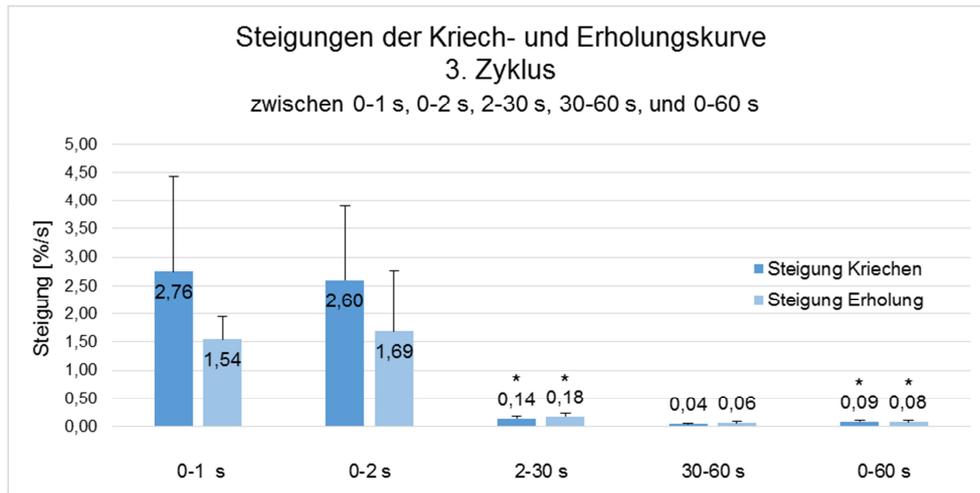


Abbildung 78: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der Steigungen der Kriech- und Erholungskurve zwischen 0-1 s, 0-2 s, 2-30 s und 30-60 s. Initial überwog die Steigung der Kriechkurve. Im mittleren Achsenabschnitt zwischen 2-30 s war die Erholungskurve steiler als im hinteren Kurvenverlauf. Im Zeitintervall zwischen 2-30 s wies die Erholung eine signifikant höhere Steigung auf, während die Steigung des Kriechverhaltens über die gesamte Zyklusdauer statistisch signifikant überwog (\* signifikanter Unterschied (T-Test, p < 0,05)).

Tabelle 6: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der Ergebnisse der medial-zentralen Trochlea: Kriechen und Erholung mit SA in %, Steigungen Kriechen und Erholung mit SA in %/s; statistischer Vergleich Kriechen und Erholung und Steigungen Kriechen und Erholung.

	Erholung 1 s	Erholung 2 s	Erholung 30 s	Erholung 60 s	
	Steigung 0-1 s	Steigung 0-2 s	Steigung 2-30 s	Steigung 30-60 s	Steigung 0-60 s
Kriechen, % SA	2,88 1,73	4,89 2,23	9,10 2,91	10,91 2,93	
Erholung, % SA	1,78 0,55	3,09 1,28	9,10 2,90	10,92 3,20	
Steigung Kriechen, %/s SA	2,76 1,68	2,60 1,29	0,14 0,04	0,04 0,02	0,09 0,03
Steigung Erholung, %/s SA	1,54 0,40	1,69 1,07	0,18 0,05	0,06 0,03	0,08 0,02
p-Wert Kriechen und Erholung	0,09	0,01	0,01	0,97	
p-Wert Steigung Kriechen und Erholung	0,10	0,31	0,04	0,07	0,00

Im 5. Zyklus lag die Erholung nach 1 s um 1,82 % (SA 1,44 %) und nach 2 s um 2,61 % (SA 2,41 %) hinter dem Kriechen zurück. Im 5. Zyklus war die höchste Differenz bereits nach 1,6 s bei 2,69 % (SA 2,18 %) zu verzeichnen. Nach 3 s kroch der Knorpel 2,26 % (SA 2,91 %) mehr als er sich erholte. Die Differenz zwischen Kriechen und Erholung verringerte sich weiter, bis am Zyklusende ein Unterschied von 1,13 % (SA 4,22 %) bestand. Somit konnte auch im 5. Zyklus eine nahezu volle Erholung erhoben werden (Abbildung 80). Nach 5 min konnte sich der Knorpel in der medial-zentralen Trochlea 1,78 % (SA 4,22 %) mehr erholen als er im 5. Zyklus kroch (Abbildung 79).

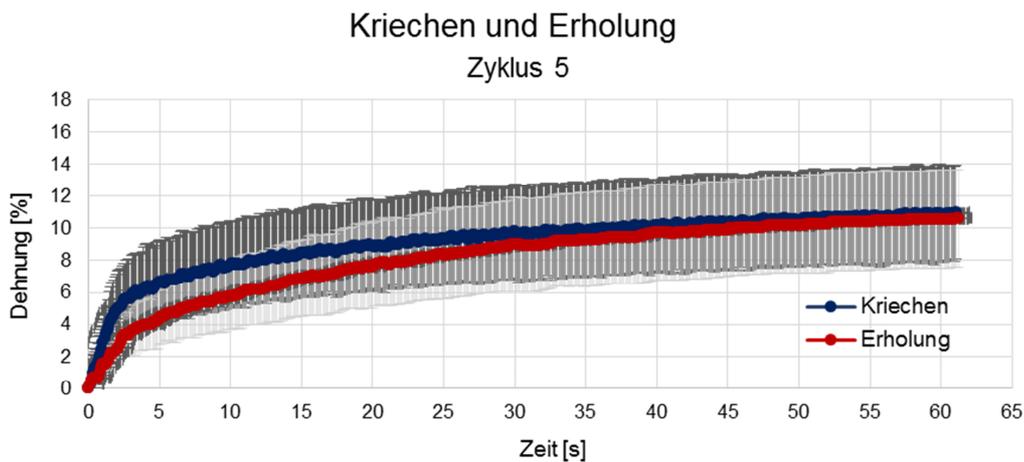


Abbildung 80: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea im 5. Zyklus.

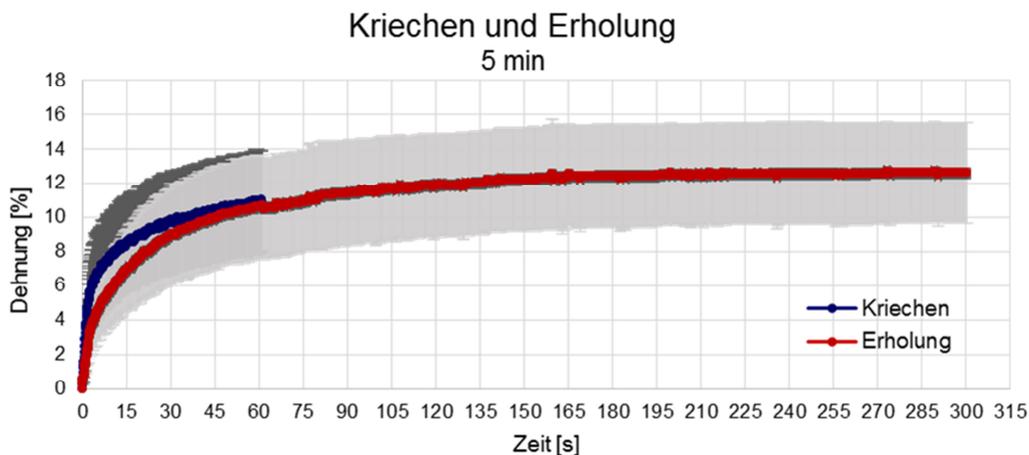


Abbildung 79: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Kurvenverlauf der Erholung für 5 min und des Kriechens im 5. Zyklus im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea.

#### 4.3.4.1 Vergleich von Kriechen und Erholung in den verschiedenen Testlokalisationen

Im Vergleich der Erholung in % des Kriechverhaltens am Ende eines jeden Zyklus zeigte sich erneut eine unvollständige relative Erholung im 1. Zyklus und eine volle relative Erholung im 3. Zyklus. So konnte in der Tibia am Ende des 1. Zyklus zwischen 66,93 % (lateral-posterior; SA 17,04 %) und 92,62 % (medial-zentral; SA 5,76 %) der Eindringtiefe wieder ausgeglichen werden. Im 3. Zyklus konnte sich der Knorpel relativ zum Kriechverhalten zwischen 99,99 % (lateral-posterior; SA 0,01 %) und 100,02 % (lateral-anterior; SA 0,06 %) erholen. Im 5. Zyklus erholte sich der Knorpel relativ zum Kriechverhalten zwischen 95,93 % (lateral-posterior; SA 1,37 %) und 100,08 % (medial-zentral; SA 1,37 %).

Auch im Femur konnte sich der Knorpel im 1. Zyklus relativ zum Kriechverhalten zwischen 74,88 % (lateral-posterior; SA 15,92 %) und 91,06 % (medial-zentral; SA 10,68 %) erholen. Im 3. Zyklus konnte mit 99,98 % (lateral-anterior; SA 0,01 %) und 100,00 % (medial-anterior und lateral-posterior; SA 0,02 %) eine nahezu vollständige relative Erholung beobachtet werden. Im 5. Zyklus fand ebenfalls mit 97,49 % (lateral-posterior; SA 2,02 %) und 100,43 % (lateral-anterior; SA 2,73 %) eine nahezu volle relative Erholung statt.

Auch in der Trochlea konnte im 1. Zyklus mit 70,56 % (lateral-zentral; SA 20,54 %) und 89,44 % (lateral-distal; SA 11,77 %) keine volle relative Erholung stattfinden, während im 3. Zyklus mit 99,98 % (lateral-zentral; SA 0,01 %) und 100,00 % (lateral-proximal; SA 0,01 %) sowie im 5. Zyklus mit 95,64 % (lateral-zentral; SA 5,19 %) und 99,06 % (medial-distal; SA 3,06 %) eine nahezu volle relative Erholung vorlag.

Analog zu Tibia, Femur und Trochlea fand auch in der Patella mit 74,34 % (lateral-proximal; SA 22,68 %) und 82,05 % (lateral-distal; SA 6,32 %) keine volle relative Erholung im 1. Zyklus statt. Im 3. Zyklus konnte sich der Knorpel im Vergleich zum Kriechverhalten zwischen 99,97 % (medial-distal; SA 0,04 %) und 99,99 % (medial-distal; SA 0,01 % und lateral-distal; SA 0,02 %) erholen. Im 5. Zyklus lag mit 96,10 % (lateral-proximal; SA 5,14 %) und 98,13 % (lateral-posterior; SA 2,09 %) eine nahezu volle relative Erholung vor.

Wie bereits erwähnt, konnte die unvollständige Erholung des 1. Zyklus auch nach 5 min nicht ausgeglichen werden. In der Tibia lag die Knorpelerholung zwischen 78,69 % (lateral-posterior; SA 10,93 %) und 95,77 % (medial-zentral; SA 3,40 %). Im Femur konnte sich der Knorpel nach 5 min zwischen 82,54 % (lateral-posterior; SA 17,64 %) und 95,13 % (lateral-zentral; SA 6,46 %) erholen. Die Knorpelerholung in der Trochlea lag nach 5 min zwischen 84,79 % (lateral-zentral; SA 12,43 %) und 91,38 % (medial-zentral; SA 6,12 %), die der Patella zwischen 76,32 % (lateral-proximal; SA 19,45 %) und 91,94 % (lateral-distal; SA 2,13 %) (Tabelle 7).

*Tabelle 7: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisation): Erholungsverhalten in % des Kriechverhaltens am Ende jedes Zyklus für alle Testlokalisationen mit Mittelwert und SA in % für den 1., 3. und 5. Zyklus und nach 5 min.*

Probe	Zyklus	Medial anterior/ proximal	Medial zentral	Medial posterior/ distal	Lateral anterior/ proximal	Lateral zentral	Lateral posterior/ distal
Tibia	Zyklus 1	81,64 (SA 17,42)	92,62 (SA 5,76)	69,93 (SA 17,04)	67,60 (SA 16,15)	86,24 (SA 6,77)	65,93 (SA 17,84)
	Zyklus 3	100,00 (SA 0,02)	100,00 (SA 0,00)	99,99 (SA 0,01)	100,02 (SA 0,06)	100,01 (SA 0,03)	99,99 (SA 0,01)
	Zyklus 5	98,66 (SA 3,21)	100,08 (SA 1,37)	97,45 (SA 2,59)	97,74 (SA 3,89)	98,47 (SA 2,70)	95,93 (SA 1,37)
	5 min	88,94 (SA 11,00)	95,77 (SA 3,40)	80,30 (SA 16,19)	90,92 (SA 19,59)	91,64 (SA 8,59)	78,69 (SA 10,93)
Femur	Zyklus 1	84,83 (SA 12,88)	91,06 (SA 10,68)	88,53 (SA 7,27)	75,58 (SA 15,13)	88,56 (SA 9,45)	74,88 (SA 15,92)
	Zyklus 3	100,00 (SA 0,02)	99,98 (SA 0,03)	99,99 (SA 0,01)	99,98 (SA 0,01)	99,99 (SA 0,01)	100,00 (SA 0,02)
	Zyklus 5	97,76 (SA 1,55)	98,97 (SA 2,42)	98,29 (SA 2,72)	100,43 (SA 2,73)	99,78 (SA 1,84)	97,49 (SA 2,02)
	5 min	92,01 (SA 8,15)	88,87 (SA 9,39)	88,13 (SA 15,28)	83,52 (SA 16,59)	95,13 (SA 6,46)	82,54 (SA 17,64)
Trochlea	Zyklus 1	83,45 (SA 11,32)	81,17 (SA 15,35)	76,28 (SA 17,76)	89,44 (SA 11,77)	70,56 (SA 20,54)	76,25 (SA 18,63)
	Zyklus 3	99,99 (SA 0,01)	99,99 (SA 0,01)	99,99 (SA 0,01)	100,00 (SA 0,01)	99,98 (SA 0,01)	99,99 (SA 0,02)
	Zyklus 5	97,07 (SA 2,56)	98,56 (SA 1,54)	99,06 (SA 3,06)	98,73 (SA 3,25)	95,64 (SA 5,19)	96,47 (SA 4,17)
	5 min	89,37 (SA 6,12)	91,38 (SA 6,12)	86,70 (SA 14,75)	96,84 (SA 7,89)	84,79 (SA 12,43)	88,18 (SA 10,86)
Patella	Zyklus 1	76,08 (SA 13,74)		80,32 (SA 7,42)	74,34 (SA 22,68)		82,05 (SA 6,32)
	Zyklus 3	99,98 (SA 0,02)		99,99 (SA 0,01)	99,97 (SA 0,04)		99,99 (SA 0,02)
	Zyklus 5	97,14 (SA 4,03)		97,95 (SA 1,66)	96,10 (SA 5,14)		98,13 (SA 2,09)
	5 min	84,89 (SA 11,77)		90,06 (SA 5,80)	76,32 (SA 19,45)		91,94 (SA 2,13)

#### 4.3.4.2 Erholungsverhalten der verschiedenen Testlokalisationen

Im Vergleich des Erholungsverhaltens relativ zur initialen Knorpeldicke ließ sich insgesamt feststellen, dass der Knorpel während des 1. Zyklus seine ursprüngliche Dicke zwischen 0,88 % (medial-zentrales Femur; 1. Zyklus; SA 1,13 %) und 9,67 % (medial-posteriore Tibia; 1. Zyklus; SA 6,89 %) nicht wieder erreichen konnte. In der medial-posterioren Tibia fehlten

im 5. Zyklus 13,71 % (medial-posteriore Tibia; 5. Zyklus; SA 9,39 %). Auch nach 5 min Entlastung konnte in keiner der Lokalisationen eine vollständige Erholung des Knorpels verzeichnet werden. Der Höhenverlust der Präkonditionierung und des 1. Zyklus konnten also auch nach 5 min nicht vollständig ausgeglichen werden. Dabei fehlten zwischen 0,08 % (lateral-proximale Trochlea; SA 1,17 %) und 7,35 % (medial-posteriore Tibia; SA 8,31 %) zum vollständigen Wiedererreichen der ursprünglichen Knorpeldicke (Tabelle 8). Im Mittel wurde die ursprüngliche Knorpelhöhe zu 97,85 % (SA 1,98 %) nahezu wieder aufgerichtet. Besonders interessant ist, dass sich der Knorpel im 3. Zyklus in jeder Testlokalisierung relativ zum Kriechen voll erholen konnte.

*Tabelle 8: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Erholungsverhalten der verschiedenen Testlokalisierungen in der porösen Indentation, jeweils Mittelwert und SA in % der Ausgangsdicke für den 1., 3. und 5. Zyklus sowie nach 5 min.*

Probe	Zyklus	Medial anterior/proximal	Medial zentral	Medial posterior/distal	Lateral anterior/proximal	Lateral zentral	Lateral posterior/distal
Tibia	Zyklus 1	3,62 (SA 5,85)	1,27 (SA 1,55)	9,67 (SA 6,89)	9,42 (SA 6,81)	2,13 (SA 1,41)	8,69 (SA 6,30)
	Zyklus 3	4,84 (SA 8,83)	1,58 (SA 1,81)	12,93 (SA 9,56)	11,14 (SA 8,45)	2,49 (SA 2,57)	10,53 (SA 7,93)
	Zyklus 5	5,28 (SA 8,94)	1,74 (SA 2,03)	13,71 (SA 9,39)	11,28 (SA 8,99)	3,09 (SA 2,81)	11,80 (SA 7,83)
	5 min	2,47 (SA 3,95)	0,66 (SA 0,71)	7,35 (SA 8,31)	3,99 (SA 8,18)	1,56 (SA 2,04)	6,10 (SA 4,71)
Femur	Zyklus 1	1,86 (SA 1,59)	0,88 (SA 1,13)	1,41 (SA 1,19)	4,57 (SA 3,79)	1,50 (SA 1,40)	4,01 (SA 6,79)
	Zyklus 3	1,96 (SA 1,60)	1,17 (SA 1,13)	1,73 (SA 1,58)	6,36 (SA 5,72)	1,91 (SA 1,98)	4,85 (SA 8,63)
	Zyklus 5	2,44 (SA 2,02)	1,32 (SA 1,02)	2,05 (SA 1,77)	6,50 (SA 5,78)	2,08 (SA 1,98)	5,35 (SA 9,20)
	5 min	1,07 (SA 1,43)	0,99 (SA 1,16)	1,25 (SA 1,39)	3,92 (SA 5,58)	0,70 (SA 1,01)	3,26 (SA 8,45)
Trochlea	Zyklus 1	3,05 (SA 3,67)	2,40 (SA 1,85)	5,05 (SA 5,14)	1,65 (SA 2,34)	5,62 (SA 4,04))	4,42 (SA 3,96)
	Zyklus 3	4,50 (SA 6,03)	2,97 (SA 2,37)	6,10 (SA 5,83)	1,63 (SA 2,60)	7,53 (SA 5,47)	5,88 (SA 6,16)
	Zyklus 5	5,05 (SA 6,88)	3,20 (SA 2,46)	6,48 (SA 6,12)	1,91 (SA 2,32)	8,44 (SA 6,12))	6,53 (SA 6,52)
	5 min	2,12 (SA 2,12)	1,13 (SA 0,74)	3,39 (SA 5,17)	0,08 (SA 1,17)	3,52 (SA 3,45)	2,91 (SA 4,01)
Patella	Zyklus 1	4,19 (SA 3,99)		2,40 (SA 1,16)	4,50 (SA 4,36)		2,03 (SA 1,18)
	Zyklus 3	5,71 (SA 6,16)		2,96 (SA 1,44)	6,72 (SA 6,82)		2,72 (SA 1,76)

	Zyklus 5	6,42 (SA 7,31)		3,15 (SA 1,59)	7,79 (SA 8,00)		3,05 (SA 1,97)
	5 min	3,45 (SA 5,19)		1,23 (SA 0,82)	5,05 (SA 4,94)		0,96 (SA 0,48)

#### 4.3.4.2.1 Tibia

Im Vergleich der Testlokalisationen innerhalb der Tibia zeigte Knorpelgewebe, das tiefer eingedrückt wurde, eine unvollständigere Erholung. Innerhalb der medialen Tibia konnten für den 3. Zyklus signifikante Unterschiede im Erholungsverhalten festgestellt werden (3. Zyklus; ANOVA,  $p < 0,05$ ). Es unterschieden sich die medial-zentrale und die medial-posteriore Testlokalisation statistisch signifikant (Turkey's,  $F(2,18) = 4,203$ ,  $p = 0,032$ ). Medial-zentral erreichte der Knorpel lediglich um 1,58 % (SA 1,81 %) seine ursprüngliche Dicke nicht. In der medial-posterioren Tibia fehlten 12,93 % (SA 9,56 %). Auffällig dabei war, dass die meniskusfreie Tibia (medial-zentral) sich auch relativ zur Eindringtiefe mehr erholte als die anderen Testlokalisationen. Nach 5 min Entlastung erholte sich der Knorpel zwischen 0,66 % (medial-zentral; (SA 0,71 %)) und 7,35 % (medial-posterior; (SA 8,31 %)) (Abbildung 81).

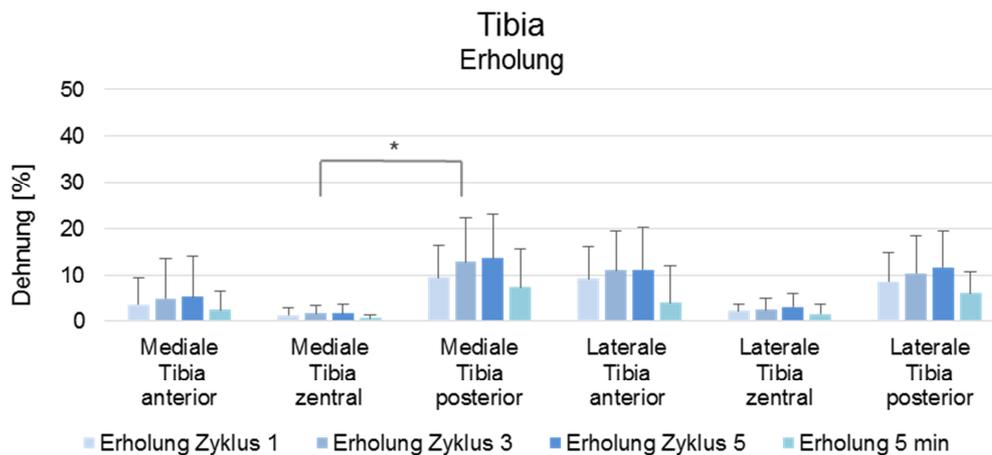


Abbildung 81: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Tibia (\* signifikanter Unterschied (Turkey's,  $F(2,18) = 4,203$ ,  $p = 0,032$ )).

#### 4.3.4.2.2 Femur

Auch im Femur erholte sich tiefer eingedrücktes Gewebe unvollständiger. Hier konnte sich das mediale Femur stärker aufrichten als das laterale Femur. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der jeweils medialen und lateralen Kondyle (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ). Es fehlten im 3. Zyklus zwischen 1,17 % (medial-zentral; SA 1,13 %) und 6,36 % (lateral-anterior; SA 8,63 %) zur Ausgangsdicke. Zentral erholte sich der Knorpel jeweils mehr als anterior und posterior. Im lateral-anterioren Femur konnte sich der Knorpel nach 5 min

Entlastung am wenigsten wieder aufrichten (Abbildung 82).

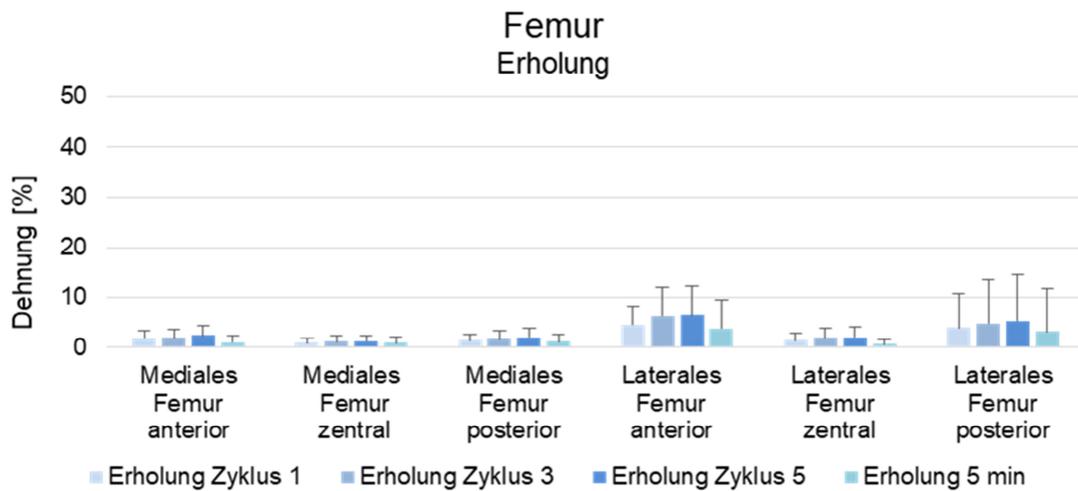


Abbildung 82: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb des Femurs.

#### 4.3.4.2.3 Trochlea

Das Erholungsverhalten in der Trochlea war homogener als in der Tibia und im Femur. Dem Knorpel fehlten im 3. Zyklus zwischen 1,63 % (medial-distal; SA 2,60 %) und 7,53 % (lateral-zentral; SA 5,47 %) zur Ausgangsdicke. Es konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden (3. Zyklus; ANOVA,  $p > 0,05$ ). Nach 5 min variierte die Knorpelerholung zwischen 0,08 % (lateral-proximal; SA 1,17 %) und 3,52 % (lateral-zentral; SA 3,45 %) (Abbildung 83).

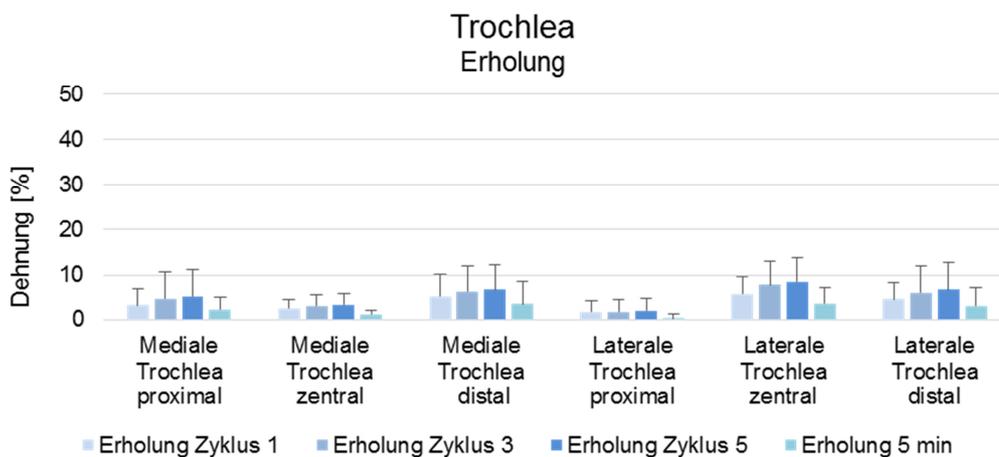


Abbildung 83: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Trochlea.

#### 4.3.4.2.4 Patella

Die proximale Patella erholte sich medial und lateral weniger als distal. Es konnten keine signifikanten Unterschiede im Lokalisationsvergleich gefunden werden. Im 3. Zyklus fehlten zwischen 2,72 % (lateral-distal; SA 1,76 %) und 6,72 % (lateral-proximal; SA 6,82 %) zur ursprünglichen Knorpeldicke. 5 min nach Entlastung konnte der Knorpel seine Ausgangshöhe zwischen 0,96 % (lateral-distal; SA 0,48 %) und 5,05 % (lateral-proximal; SA 4,94 %) nicht wieder erreichen (Abbildung 84).

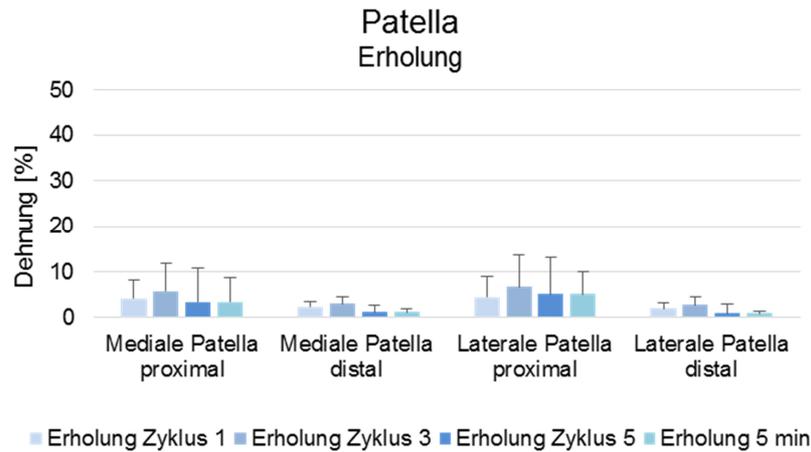


Abbildung 84: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Patella.

#### 4.3.5 Probenübergreifender Vergleich

Für den probenübergreifenden Vergleich wurde für Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten jeweils der 3. Zyklus verwendet (Tabelle 9).

Tabelle 9: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Probenübergreifender Vergleich von Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten des 3. Zyklus in N/mm und % der Ausgangsdicke.

	Probe	Medial anterior/proximal	Medial zentral	Medial posterior/distal	Lateral anterior/proximal	Lateral zentral	Lateral posterior/distal
Steifigkeit Zyklus 3	Tibia	4,99 (SA 1,98)	3,07 (SA 1,63)	6,22 (SA 4,24)	7,89 (SA 2,97)	10,28 (SA 4,89)	12,61 (SA 3,17)
	Femur	7,38 (SA 4,83)	5,54 (SA 2,41)	5,82 (SA 3,63)	7,86 (SA 3,61)	10,28 (SA 2,25)	10,69 (SA 3,02)
	Trochlea	7,09 (SA 2,85)	8,32 (SA 2,15)	7,23 (SA 3,55)	8,47 (SA 3,48)	9,04 (SA 4,79)	8,2 (SA 4,01)
	Patella	4,79 (SA 3,44)		3,90 (SA 1,73)	3,56 (SA 3,10)		4,77 (SA 1,65)

Kriechen Zyklus 3	Tibia	15,21 (SA 10,32)	15,59 (SA 6,67)	31,30 (SA 11,24)	27,37 (SA 9,99)	15,37 (SA 5,05)	26,02 (SA 10,51)
	Femur	10,74 (SA 4,70)	8,10 (SA 2,49)	11,39 (SA 5,95)	17,41 (SA 8,31)	12,18 (SA 3,13)	20,83 (SA 14,91)
	Trochlea	16,17 (SA 9,84)	13,73 (SA 3,27)	18,57 (SA 8,41)	13,60 (SA 8,11)	20,57 (SA 4,09)	21,03 (SA 8,11)
	Patella	16,08 (SA 9,55)		12,45 (SA 2,77)	18,17 (SA 9,08)		11,43 (SA 4,07)
Erholung Zyklus 3	Tibia	4,84 (SA 8,83)	1,58 (SA 1,81)	12,93 (SA 9,56)	11,14 (SA 8,45)	2,49 (SA 2,57)	10,53 (SA 7,93)
	Femur	1,96 (SA 1,60)	1,17 (SA 1,13)	1,73 (SA 1,58)	6,36 (SA 5,72)	1,91 (SA 1,98)	8,63 (SA 8,98)
	Trochlea	4,50 (SA 6,03)	2,97 (SA 2,37)	6,10 (SA 5,83)	1,63 (SA 2,60)	7,53 (SA 5,47)	5,88 (SA 6,16)
	Patella	5,71 (SA 6,16)		2,96 (SA 1,44)	6,72 (SA 6,82)		2,72 (SA 1,76)

#### 4.3.5.1 Steifigkeit

Die höchste Inhomogenität hinsichtlich der Steifigkeit wurde in der Tibia verzeichnet. In der Tibia wurde sowohl die höchste als auch die geringste Steifigkeit gemessen. Die laterale Tibia war dabei steifer als die mediale Tibia. Im Femur wurden im Vergleich zur Tibia im Allgemeinen diskret höhere Steifigkeiten bestimmt. Auch hier wurden lateral höhere Steifigkeiten als medial verzeichnet (Abbildung 85). Im Vergleich zweier gegenüberliegender Lokalisationen von Femur und Tibia konnte in den medial-zentralen Testlokalisationen ein signifikanter Unterschied festgestellt werden (T-Test,  $p < 0,05$ ) (Abbildung 87). Die Trochlea wies geringere Steifigkeiten als Tibia und Femur auf. Insgesamt wurden in der Patella die geringsten Steifigkeiten erhoben. Trochlea und Patella zeigten homogenere Steifigkeiten als Tibia und Femur (Abbildung 85; Abbildung 88).

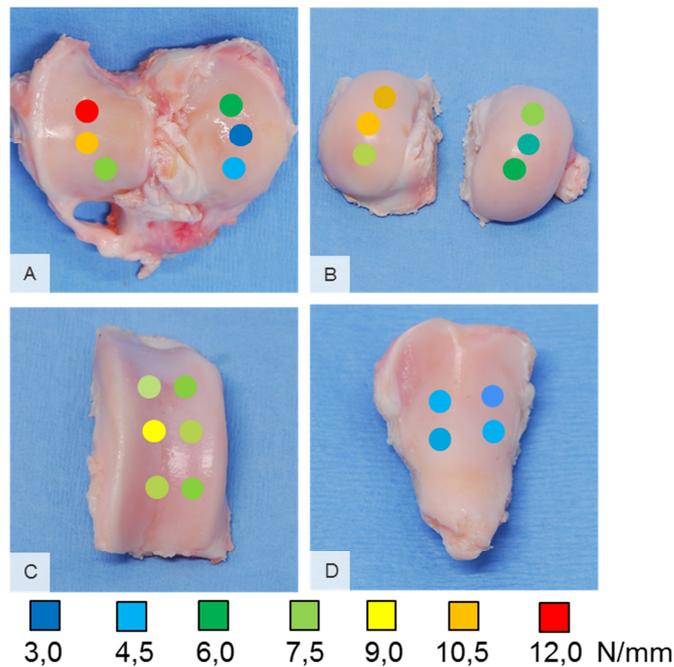


Abbildung 85: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine,  $n = 7$  je Testlokalisierung): Schematische Darstellung der Kartographierung der Steifigkeiten im ovinen Kniegelenk für die erhobenen Prüfstellen. Hohe Inhomogenität wurde in A) Tibia und B) Femur gefunden. Geringere und homogenere Steifigkeiten wurden in C) Trochlea und D) Patella erhoben.

#### 4.3.5.2 Kriechen

Das Femur und die Tibia wurden auch in ihrem Kriechverhalten in gegenüberliegenden Testlokalisationen verglichen. Im Femur wurde jede Testlokalisierung weniger als die korrespondierende Prüfstelle in der Tibia eingedrückt. Hier zeigte sich in allen Lokalisationen, mit Ausnahme medial-anterior und lateral-zentral, ein signifikanter Unterschied (T-Test,  $p < 0,05$ ) (Abbildung 87). Trochlea und Patella zeigten im Vergleich des Kriechverhaltens homogenere Ergebnisse (T-Test,  $p > 0,05$ ) (Abbildung 86; Abbildung 88).

#### 4.3.5.3 Erholung

Im Vergleich zweier gegenüberliegender Testlokalisationen von Femur und Tibia konnte medial-posterior ein signifikanter Unterschied im Erholungsverhalten festgestellt werden (T-Test,  $p < 0,05$ ) (Abbildung 87). Auch im Erholungsverhalten zeigten Trochlea und Patella homogene Ergebnisse (T-Test,  $p > 0,05$ ) (Abbildung 86; Abbildung 88).

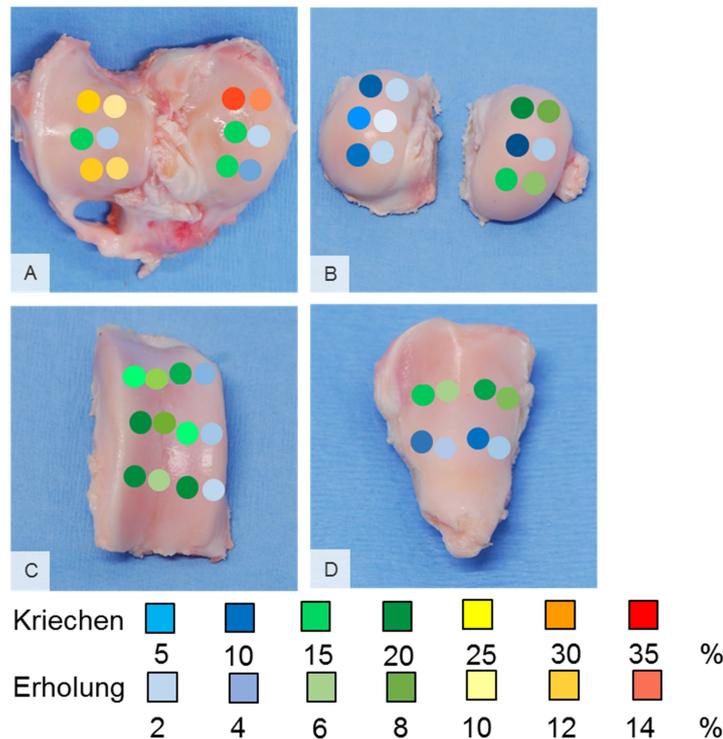


Abbildung 86: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Schematische Darstellung der Kartographierung des Kriechverhaltens und Erholungsverhaltens im ovinen Kniegelenk für die erhobenen Prüfstellen in % der Ausgangsdicke. Hohe Inhomogenität wurde in A) Tibia und B) Femur gefunden. Geringere und homogenere Ergebnisse wurden in C) Trochlea und D) Patella erhoben.

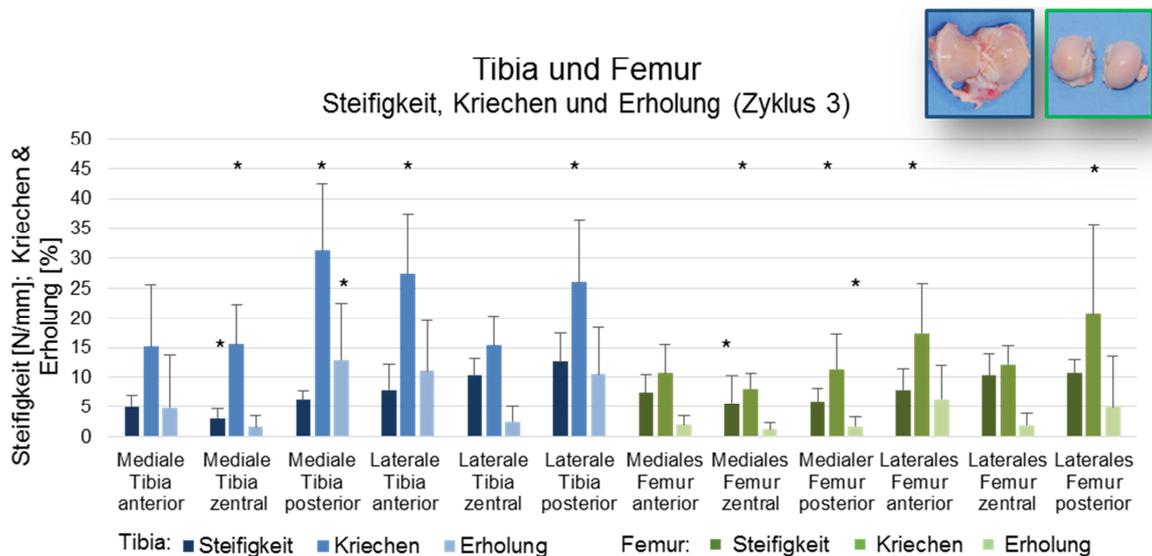


Abbildung 87: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten für den 3. Zyklus aller Testlokalisationen in Femur und Tibia (\* signifikanter Unterschied im Vergleich zweier gegenüberliegender Lokalisationen zwischen Tibia und Femur (T-Test,  $p < 0,05$ )).

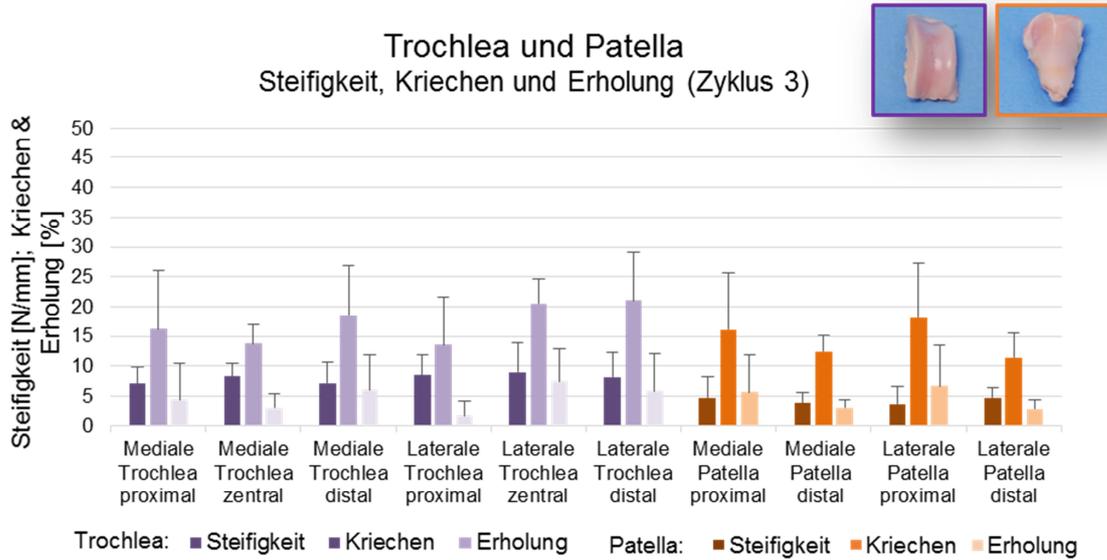


Abbildung 88: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin,  $n = 7$  je Testlokalisation): Darstellung der Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten für den 3. Zyklus aller Testlokalisationen in Trochlea und Patella.

## 5 Diskussion

In den letzten Jahrzehnten wurde in der Forschung zunehmend der Fokus auf die künstliche Herstellung von Knorpelregeneraten als Ersatz von degenerativ verändertem Knorpelgewebe gelegt (MANSOUR 2013 [170]). Neben Richtlinien zur Biotoxizität und Biokompatibilität soll zukünftig auch eine mechanische Charakterisierung erfolgen (KLEEMANN 2006 [127]; MANSOUR 2013 [170]). Dafür muss zunächst gesunder Gelenkknorpel untersucht werden, um entsprechende Vergleichsparameter für Ersatzmaterial aufzustellen. Diesen Untersuchungen kommt vor allem aufgrund der einzigartigen, komplexen Biomechanik gesunden Knorpelgewebes eine besondere Bedeutung zu.

In dieser Arbeit erfolgte zunächst eine umfassende Literaturrecherche. Anschließend wurde ein statisches und ein zyklisches Testverfahren zur Untersuchung des Erholungsverhaltens an bovinem Knorpel erprobt. In einem Hauptversuch wurde ein quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch an ovinem Knorpel durchgeführt. Der Schwerpunkt wurde dabei auf das Erholungsverhalten des gesunden Knorpels gelegt, welches durch das Schwellverhalten von Knorpel bedingt ist. Eines der frühesten Zeichen von geschädigtem Knorpelgewebe ist vermehrtes Schwellverhalten. Dieses stellt somit einen entscheidenden Funktionsparameter zur frühzeitigen Beurteilung der Knorpelqualität dar (ALTMAN 1984 [6]; MAROUDAS 1977 [177]; MUIR 1977 [194]; NARMONEVA 2002 [195]).

Das Schwellverhalten wurde bisher zumeist durch den Austausch hypertoner und hypotoner Versuchsmedien untersucht (FLAHIFF 2002 [73]; KORHONEN 2010 [131]; MAROUDAS 1977 [177]; NARMONEVA 2002 [195]; NARMONEVA 2001 [196]; SETTON 1999 [228]; TREPPO 2000 [258]; WANG 2008 [262]). Während der Kompression wird interstitielle Flüssigkeit aus der porösen Matrix gepresst (LU 2010 [161]; LU 2008 [162]). Während der Erholung folgt die ausgepresste Flüssigkeit dem durch die negativ geladenen Seitenketten der PGs ausgelösten osmotischen Druckgradienten zurück (KEMPSON 1971 [122]; LU 2008 [162]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MOW 2002 [190]; TORZILLI 1976 [255]). Die Untersuchung des Hystereseverhaltens stellt in neueren Betrachtungen eine vielversprechende Methode dar, die viskoelastischen Eigenschaften des Knorpelgewebes zu beurteilen (BIECHLER 2013 [30]; KELM 2002 [120]; SZARKO 2010 [251]).

Nur wenige Publikationen befassen sich mit der Knorpelerholung nach Belastung. Die Datenerhebung erfolgte *in vivo* mittels MRT, welche einer hohen auflösungsbedingten und zeitlichen Limitierung unterliegt (ECKSTEIN 1999 [67]; GREAVES 2009 [84]). Das Erholungsverhalten von artikulärem Knorpel wurde unserer Kenntnis nach aufgrund der hohen technischen Herausforderung noch nie mit einer minimalen Tastlast von 5,66 kPa untersucht. Der Knorpel wurde dann zumeist vollständig entlastet, was zu einem Verlust des Oberflächenkontakts

führte, daher wurden bisher kaum Aussagen über den Kurvenverlauf getroffen (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; BARKER 2001 [22]; KEMPSON 1971 [122]; SAUERLAND 2003 [221]; SCHMIDT-ROHLFING 2004 [226]; SETTON 1993 [229]; STEINMEYER 1999 [243]; WILSON 2005 [266]).

Da Knorpelgewebe lokalisationspezifische mechanische Eigenschaften zeigt, erfolgte zudem eine Kartographierung des ovinen Kniegelenks hinsichtlich der Dicke, der Steifigkeit, des Kriechverhaltens und des Erholungsverhaltens (APPLEYARD 2003 [7]; LYYRA 1999 [164]).

## 5.1 Testverfahren

### 5.1.1 Indentationsversuch

Ein Teilziel dieser Dissertation war die Erstellung eines standardisierten Testverfahrens. In der bisherigen Literatur erfolgte die biomechanische Charakterisierung gesunden und künstlichen Knorpels und der einzelnen Bestandteile sowohl *in vivo* als auch *in vitro*. Dabei wurden diverse Untersuchungsmethoden wie das MRT, die Rasterkraftmikroskopie und andere *in vitro* Prüfsysteme angewandt. Die Evaluierung des Knorpelgewebes erfolgte mittels vieler verschiedener Prüfprotokolle und unter diversen Randbedingungen (DARLING 2010 [56]; LOPARIC 2010 [157]; MAROUDAS 1968 [171]) (Tabelle 13 - Tabelle 22 (Anhang Seite 122 ff.)). Die Entwicklung eines Standards angesichts der umfangreichen Literaturlage und der hohen Diversität der verwendeten Methoden stellte eine besondere Herausforderung dar.

In unserem Versuchsprotokoll wurde der Kompressionsversuch verwendet (Tabelle 13 (Anhang Seite 122)). Zudem wurde der Kompressionsversuch aufgrund der frei wählbaren Probengeometrie sowie der häufigen Anwendung in der Literatur im Rahmen einer Indentation durchgeführt (HORI 1976 [98]; KORHONEN 2002 [134]; LE 2008 [142]; LI 2006 [150]; LYYRA 1999 [164]; MOW 2005 [192]; WARNER 2001 [264]). Die Indentation stellt ein effektives Verfahren zur Erhebung biomechanischer Eigenschaften und zur frühen Differenzierung von intaktem und geschädigtem Knorpelgewebe dar (HOSSEINI 2013 [99]).

In der Literatur wird eine Vielzahl verschiedener Indentorgrößen, Geometrien und Materialien verwendet (Tabelle 21 (Anhang Seite 133)). In unseren Versuchen wurde ein flacher, zylindrischer Indentor verwendet. Der Kugelindentor wird zwar für dünnen Knorpel empfohlen, jedoch kann beim Kugelindentor die Kontaktfläche zwischen Knorpelgewebe und Prüfstempel nicht exakt bestimmt werden (BAE 2006 [18]; LYYRA-LAITINEN 1999 [165]). Ein scharfkantiger zylindrischer Indentor würde im Vergleich höhere Dehnungen in den meisten Knorpelschichten hervorrufen und somit leichter eine Überschreitung physiologischer Dehnungen bewirken (BAE 2006 [18]). Daher waren die Kanten des Stempels in unseren Versuchen leicht angeschrägt, um Spitzendehnungen und einer eventuellen Schädigung des Gewebes am Indentorrand vorzubeugen (LU 2010 [161]; WARNER 2001 [264]).

In dieser Arbeit wurden sowohl solide als auch poröse Indentoren verwendet. Durch die Verwendung eines porösen Indentors kann ein freier Flüssigkeitsfluss an der Prüfstelle erfolgen (LI 2006 [150]; LU 2004 [160]; Mow 1989 [189]). Der Durchmesser wurde nach einer etablierten Publikation mit 1,5 mm gewählt (Mow 1989 [189]). Für einen noch freieren Flüssigkeitsfluss an der Knorpeloberfläche hätte eventuell ein poröser Indentor mit kleinerem Durchmesser verwendet werden können (LI 2006 [150]). Zudem sollte nach jedem Versuch eine Reinigung der Poren im Ultraschallbad erfolgen, um einen jeweils vergleichbaren freien Flüssigkeitsfluss in jedem Versuch gewährleisten zu können (LU 2004 [160]; Mow 1989 [189]). Die Relation von Indentorradius und Knorpeldicke konnte aufgrund der verschiedenen Lokalisationen und Knorpeldicken nicht berücksichtigt werden (HAYES 1972 [94]; LU 2004 [158]). Hierfür hätte vorab eine nichtinvasive Dickenmessung mittels Ultraschall erfolgen müssen (JURVELIN 1995 [113]). Die in unserem Versuch verwendeten Indentoren waren aus Glas gefertigt. Der Durchmesser variierte herstellungsbedingt zwischen 1,3 mm und 1,7 mm. In künftigen Versuchen könnte ein poröser Stahlindentor verwendet werden, der zudem widerstandsfähiger ist (KEENAN 2009 [117]). Eine orthograde Ausrichtung des Indentors zur Knorpeloberfläche wurde zusätzlich zum bloßen Auge unter Kamerasicht vorgenommen (BARKER 2001 [22]). So konnte eine annähernd gleiche Kontaktfläche in jedem Versuch gewährleistet werden.

### 5.1.2 Tiermodelle

Das bovine Tiermodell stellt ein etabliertes, häufig verwendetes Tiermodell in der Erhebung mechanischer Knorpelparameter dar (Tabelle 19 (Anhang Seite 130)). Das ovine Kniegelenk gewinnt zunehmend an Bedeutung in der OA-Forschung (BURGER 2007 [40]). Obligat war zudem die Verwendung adulter Schafe, da unreifes Knorpelgewebe von Jungtieren unterschiedliche mechanische, biochemische und strukturelle Eigenschaften aufweist (JULKUNEN 2009 [105]).

### 5.1.3 Probengeometrie

In der Literatur werden sowohl intakte Kniegelenke, ganze Proben, KKZ oder lediglich Knorpelzylinder verwendet. KKZ stellen dabei eine sehr häufige geometrische Rahmenbedingung zur mechanischen Charakterisierung von nativem und behandeltem Knorpelgewebe dar (Tabelle 20 (Anhang Seite 132)). In unseren Versuchen wurden die KKZ in die Probenkammer so eingespannt, dass der Knorpel frei an seinen Rändern war, um das Schwellverhalten nicht zu inhibieren (BARKER 2001 [22]). Um die mechanischen Eigenschaften des Knorpels unter möglichst physiologischen Bedingungen zu testen, wurden in dieser Arbeit zusätzlich ganze Präparate verwendet (ATHANASIOU 1991 [14]; CHIRAVARAMBATH 2009 [51]; KIVIRANTA

2006 [126]; LÉGARÉ 2002 [147]; MOW 1989 [189]). So konnte beispielsweise ein möglicher Einfluss der eventuell geschädigten Randarchitektur des Kollagennetzwerkes ausgeschlossen werden. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass explantierter Knorpel verstärktes Schwellverhalten zeigt und somit nicht mehr voll physiologisches Gewebe darstellt (TORZILLI 1997 [254]).

Es wurden nur Proben mit makroskopisch unauffälligem Knorpelgewebe untersucht. Dabei kann makroskopisch unauffälliges Knorpelgewebe bereits oberflächliche Fibrillationen, eine veränderte Zellanordnung sowie biomechanische Eigenschaften aufweisen (BALDASSARRI 2007 [20]; FRANZ 2001 [76]; MEACHIM 1972 [182]). In unseren Versuchen könnte also sowohl gesunder als auch geringgradig degenerativ veränderter Knorpel getestet worden sein. In künftigen Versuchen könnte vor Versuchsbeginn eine Evaluierung der Oberflächenintegrität, beispielsweise mit einem *Indian ink* Test erfolgen (BULLOUGH 1968 [39]; MEACHIM 1972 [182]).

### 5.1.4 Lagerung, Auftaumodalität und Versuchsmedium

Aufgrund der experimentellen Praktikabilität mussten die Proben zur Lagerung einem Einfrierzyklus ausgesetzt werden. Da bei tieferen Temperaturen ein Einfluss auf die mechanische Charakterisierung bewiesen werden konnte, wurde eine Lagerungstemperatur von -28 °C gewählt (SZARKO 2010 [251]). Ebenfalls konnte kein Einfluss bei der Lagerung für wenige Tage bei 4 °C festgestellt werden (CHANGOOR 2010 [47]). Da die Auftaumodalität, insbesondere zu hohe Temperaturen, ebenfalls eine Veränderung der mechanischen Eigenschaften haben könnte, wurden die geschlossenen Kniegelenke bei 4 °C über 24 h aufgetaut (CHANGOOR 2010 [47]).

Als Lagerungs- und Versuchsmedium wurde aufgrund seines physiologischen PH-Werts und der häufigen Verwendung in der Literatur PBS gewählt (BURGIN 2008 [41]; HUANG 2003 [100]; PARK 2008 [209]). Bei längerer Versuchsdauer sollte die Verwendung von PIs in Erwägung gezogen werden (BURSAC 1999 [42]; MILLER 2010 [183]; SCHINAGL 1997 [225]).

### 5.1.5 Temperatur

Die Versuche wurden ebenfalls aufgrund der häufigen Verwendung in der Literatur bei Raumtemperatur durchgeführt (LU 2004 [160]; MOW 1989 [189]). Einige wenige Publikationen führten die Versuche bei 37 °C, also Körpertemperatur, durch (BARKER 1997 [21]; KATAKAI 2009 [115]; KEMPSON 1971 [124]). Ein weiterer spannender Ansatz könnte eine Testtemperatur bei 31,9 °C sein. Diese Temperatur wurde intraartikulär im Knie gemessen (OOSTERVELD 1992 [204]).

## 5.1.6 Prüfprotokoll

In der bisherigen Literatur werden sowohl statische als auch dynamische Prüfprotokolle verwendet. Es konnte in verschiedenen Publikationen gezeigt werden, dass unterschiedliche Belastungen stimulierende und inhibierende Effekte auf den Metabolismus des Knorpels zur Folge haben (ACKERMANN 2005 [1]; BACHRACH 1995 [16]; KIM 1994 [125]; SAUERLAND 2007 [222]; WOLF 2006 [268]). Dies findet auch in der Züchtung von Knorpelkonstrukten Anwendung (SHELTON 2003 [232]). Die biomechanische Testung erfolgte mittels Kriech- und Spannungsrelaxationstests, seltener mittels sinusoidaler Prüfverfahren (MOW 1980 [193]) (Tabelle 14 (Anhang Seite 124), Tabelle 15 (Anhang Seite 126), Tabelle 16 (Anhang Seite 127)). *In vitro* wurde das Erholungsverhalten in einem statischen oder quasistatischen Versuchsaufbau evaluiert (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; KEMPSON 1971 [122]; MOW 1989 [189]). Zur Eruierung der mechanischen Eigenschaften von nativem Knorpelgewebe wurde in unseren Versuchen eine Kriecherholung durchgeführt. Dabei wurde ein statisches, ein dynamisches und ein quasistatisches Prüfprotokoll angewandt (Tabelle 14 (Anhang Seite 124)).

## 5.1.7 Dickenmessung

Die Dickenmessung via Nadel stellt neben der optischen und der Bestimmung mittels Ultraschall und MRT ein bereits etabliertes Verfahren dar (BARTHES 2007 [23]; COHEN 1999 [52]; ECKSTEIN 1997 [62]; ECKSTEIN 1992 [66]; HAUBNER 1997 [93]; JURVELIN 1995 [113]; KOFF 2010 [129]; MODEST 1989 [184]; SHEPHERD 1999 [234]; SONG 2006 [239]; YOON 2008 [273]). Die Dickenbestimmung via Nadelindentation wurde aufgrund ihrer häufigen Anwendung und der einfachen Praktikierbarkeit gewählt (JURVELIN 1995 [113]). Da unser Versuch unter Kraftregelung und nicht Positionsregelung durchgeführt wurde, war eine Dickenbestimmung vor Testbeginn nicht notwendig. Bei Anfahren von prozentualen Dehnungen wäre eine nichtinvasive Messung mittels Ultraschall der destruktiven Nadelindentation vorzuziehen (JURVELIN 1995 [113]; MODEST 1989 [184]; YAO 1999 [272]).

## 5.2 Vorversuche

### 5.2.1 Statischer Kriecherholungsversuch

In einem Vorversuch wurde zunächst ein statisches Versuchsschema gewählt, um die Kriecherholung des Knorpels zu untersuchen. Für die Präkonditionierung wurde eine möglichst geringe Last von 5,66 kPa zur Sicherstellung des Oberflächenkontakts zwischen Probe und Stempel gewählt (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; SZARKO 2010 [251]). Die Höhe

der Belastung von 0,11 MPa richtete sich nach einer etablierten Publikation von MOW 1989 (MOW 1989 [189]). Wie bereits in der Literatur beschrieben, zeigte sich auch in unserem Kurvenverlauf biphasisches Materialverhalten (KEENAN 2011 [116]; MAK 1987 [167]; MOW 1989 [189]; Mow 1980 [193]).

Zwischen 0-1 s und 0-2 s konnten im Kurvenverlauf von Kriechen und Erholung deutlich höhere Steigungen als am Ende verzeichnet werden. Die Steigungen der Kriechkurve lagen bis 60 s statistisch signifikant über denen der Erholungskurve. In unserer Studie konnte nach 7200 s keine Steigung mehr im Kriechverhalten verzeichnet werden, somit wurde ein Equilibrium erreicht. In der Veröffentlichung von MOW 1989 ist eine genaue Definition des Kriechgleichgewichts nicht gegeben (MOW 1989 [189]).

Die in unseren Versuchen aufgezeichneten Verläufe von Kriech- und Erholungsverhalten differieren von den Ergebnissen von MOW 1989. In den Versuchen von MOW 1989 zeigte der Knorpel initial ein höheres Erholungs- als Kriechverhalten (MOW 1989 [189]). Das Erholungsverhalten überstieg in unserer Studie zu keinem Zeitpunkt das Kriechverhalten. Bis zu 540 s lag das Erholungsverhalten statistisch signifikant hinter dem Kriechverhalten zurück. Der Wasserfluss bei Kompression aus der EZM ist in unseren Versuchen also stärker als der osmotisch bedingte Rückstrom des Wassers nach Entlastung (KEMPSON 1971 [122]; MAROUDAS 1977 [177]; TORZILLI 1976 [255]). Der osmotische Druck sinkt im Verlauf der Zeit und somit auch der Rückfluss der Flüssigkeit in die solide Matrix (MAROUDAS 1977 [177]; TORZILLI 1976 [255]). Es zeichnete sich bereits nach zehn Versuchen ab, dass das Ausgangsniveau der Knorpeldicke dabei nicht wieder erreicht wird. Im Gegensatz zu unserer Studie konnte MOW 1989 eine volle Erholung im Allgemeinen beobachten (MOW 1989 [189]). Unsere Ergebnisse decken sich mit MRT-Studien sowie mit Studien an Bandscheiben, in welchen eine deutlich längere Erholungszeit im Vergleich zur Belastung beschrieben wurde (ECKSTEIN 1999 [67]; VAN DER VEEN 2007 [259]). In einem statischen Kriecherholungsversuch fand O'CONNELL 2011 heraus, dass die Erholung von Bandscheiben etwa drei- bis viermal langsamer als das Kriechverhalten ist (O'CONNELL 2011 [200]).

Ursächlich für die unterschiedlichen Ergebnisse im Vergleich zu MOW 1989 könnten die unterschiedlichen Randbedingungen der Versuchsreihe sein. So beschreibt MOW 1989 nicht, ob das Erholungsverhalten völlig entlastet oder mit einer minimalen Tastkraft untersucht wird. Obgleich MOW 1989 keine Unterschiede in der Verwendung eines soliden und eines porösen Indentors beschreibt, könnte ein poröser Stempel einen anderen Einfluss auf den Flüssigkeitsfluss nehmen (MOW 1989 [189]). Dieser könnte zum einen schneller erfolgen und zudem eine vollständige Knorpelerholung ermöglichen (LI 2006 [150]). Ebenso könnte eine Zylindergröße von lediglich 5 mm hinsichtlich der Randarchitektur der Kollagenfasern die Ergebnisse beeinflussen (TORZILLI 1997 [254]). Letztlich mag bei Versuchen von mehreren

Stunden die Verwendung von PIs von entscheidender Bedeutung sein (MILLER 2010 [183]; MOW 1989 [189]; SCHINAGL 1997 [225]).

### 5.2.2 Zyklischer Kriecherholungsversuch

Um das Erholungsverhalten in einem physiologischeren Versuchsaufbau zu untersuchen, wurde in einem weiteren Versuch das Erholungsverhalten nach dynamischer Belastung in einem zyklischen Kriecherholungsversuch untersucht. Hierfür wurde eine *in vivo* Studie von ECKSTEIN 1999 an humanen Patellae in eine *in vitro* Studie an bovinen Patellae übertragen. Die dynamische Belastung diente dabei der Simulation von Kniebeugen (ECKSTEIN 1999 [67]). Boviner Knorpel stellt ein sehr häufiges Untersuchungsobjekt in der Erhebung mechanischer Eigenschaften von Knorpelgewebe sowie als OA-Modell dar (HARGRAVE-THOMAS 2013 [92]) (Tabelle 19 (Anhang Seite 130)).

Hinsichtlich der Dickenmessung konnten auch in der bisherigen Literatur lateral höhere Knorpeldicken als in der medialen humanen Patellafacette gemessen werden (COHEN 1999 [52]).

Wie in den Versuchen nach MOW 1989 konnte auch nach dynamischer Belastung nach 87 min keine volle Erholung verzeichnet werden (MOW 1989 [189]). In der Literatur wurden unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich der vollständigen Erholung beschrieben (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1994 [12]; ECKSTEIN 1999 [67]; O'CONNELL 2011 [200]; VAN DER VEEN 2007 [259]). Ein Großteil der Knorpelerholung fand in unseren *in vitro* Versuchen in den ersten Sekunden nach Belastung statt. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass sich bei Entlastung das Kollagenetzwerk entfaltet. Hierdurch sinkt die Limitation der Wasserresorption und Wasser kann aufgrund des osmotischen Druckes zurückfließen (MAROUDAS 1977 [177]; TORZILLI 1976 [255]). Wie bereits erwähnt, sinkt der osmotische Druck im Verlauf der Zeit und somit auch der Rückfluss der Flüssigkeit in die solide Matrix. Ähnlich dem Kriechverhalten stellt sich ein Gleichgewicht ein, der Kurvenverlauf endet in einem Plateau (MAROUDAS 1977 [177]; TORZILLI 1976 [255]; VAN DER VEEN 2007 [259]). Erstaunlich war, dass die laterale Patella tiefer eingedrückt wurde, sich im Vergleich zu medial v. a. initial zwischen 0-1 s und 0-2 s deutlich mehr erholte und eine statistisch signifikant höhere Steigung in diesem Zeitintervall aufwies. Bereits nach 2 s hatte der Knorpel lateral seine Ausgangshöhe mehr als medial erreicht. Im statistischen Vergleich erholte sich die laterale Patella während der gesamten Dauer statistisch signifikant mehr als medial. Während in der medialen Patella nach 87min keine Steigung der Erholungskurve mehr eruiert werden konnte, befand sich der Knorpel der lateralen Patella auch nach 87 min noch nicht im Equilibrium. Wir schlussfolgern, dass Knorpel, welcher höheres Kriechverhalten zeigt, sich schneller und mehr erholt sowie mehr Zeit benötigt, um ein Erholungsgleichgewicht zu erreichen.

Im Vergleich zu den Ergebnissen von ECKSTEIN 1999 zeigte der Kurvenverlauf der Knorpelerholung *in vitro* und *in vivo* hohe Ähnlichkeit. Die Unterschiede könnten aus der zeitlichen und auflösungsbedingten Limitation der MRT-Messung und den Randbedingungen des *in vitro* Modells resultieren (ECKSTEIN 1999 [67]). Durch den soliden Zylinderstempel könnte eine Sogwirkung entstehen, die den Knorpel initial schneller als *in vivo* erholen lässt. Weiterhin könnte die Stempelbeschaffenheit den Flüssigkeitsfluss an der Knorpeloberfläche inhibieren und so eine unvollständigere Knorpelerholung bewirken (LI 2006 [150]). Hierdurch könnte die initial schnellere Knorpelerholung und der Übergang in ein Plateau in den *in vitro* Versuchen erklärt werden. Zudem könnte die Verwendung von KKZ Einfluss auf die Gewebeantwort nehmen, da explantierter Knorpel ein erhöhtes Schwellverhalten und möglicherweise kein physiologisches Gewebe darstellt (TORZILLI 1997 [254]). Weiterhin könnte in unseren Tests bereits degeneratives Gewebe untersucht worden sein, da makroskopisch unauffälliges Gewebe, wie bereits erwähnt, mikroskopische Veränderungen sowie veränderte biomechanische Eigenschaften aufweisen kann (BALDASSARRI 2007 [20]; FRANZ 2001 [76]; MEACHIM 1972 [182]). Obgleich ein Einfrierzyklus keinen Einfluss auf die bisher gemessenen biomechanischen Eigenschaften nimmt (CHANGOOR 2010 [47]; SZARKO 2010 [251]), bleibt jedoch ungeklärt, ob sich ein Einfrierzyklus auf das Erholungsverhalten von Knorpelgewebe auswirkt. Letztlich könnte auch die Verwendung von Pls von entscheidender Bedeutung sein (MILLER 2010 [183]; MOW 1989 [189]; SCHINAGL 1997 [225]).

Sowohl im statischen als auch im zyklischen Kriecherholungsversuch näherte sich die Erholungskurve unter Verwendung eines soliden Prüfstempels einem Plateau und konnte seine ursprüngliche Knorpeldicke nicht vollständig wieder erreichen. In beiden Versuchen benötigte die Knorpelerholung mehr Zeit als das Kriechverhalten.

## 5.3 Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch

### 5.3.1 Prüfprotokoll

Da das Prüfprotokoll künftig an arthrotischem und tissue-engineertem Gewebe angewandt werden soll, wurde zusätzlich ein quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch mit kürzerer Versuchsdauer an ovinen Kniegelenken angewandt. In Publikationen konnte gezeigt werden, dass Versuche mit langer Dauer inhibierende Einflüsse auf die PG-Synthese haben (BACHRACH 1995 [16]). Für die Präkonditionierung wurde eine möglichst geringe Last von 5,66 kPa zur Sicherstellung des Oberflächenkontakts zwischen Probe und Stempel gewählt (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; SZARKO 2010 [251]). Das Equilibrium der Präkonditionierung wurde gemäß einer Grundlagenpublikation bei 5 min definiert (SZARKO 2010 [251]). Die Höhe der Last entsprach zudem exakt der Minimallast, unter welcher der Ortsverlauf während der Entlastung aufgezeichnet wurde und diente somit zusätzlich als

Tarierung. Quasistatische zyklische Versuche wurden bereits zur Charakterisierung meniskaler Scaffolds verwendet (MAIER 2007 [166]; SANDMANN 2009 [220]). Ein quasistatisches zyklisches Versuchsschema über lediglich 60 s wurde aufgrund seines annäherungsweise physiologischen Belastungsprofils gewählt. Zudem konnte ein degenerativer Effekt statischer Versuche auf Chondrozyten nachgewiesen werden (KIM 1994 [125]; SHARMA 2007 [230]). Die OS der zyklischen Versuche von 0,11 MPa wurde aus einer Grundlagenpublikation entnommen (MOW 1989 [189]). Besonders erstaunlich ist, dass unter lediglich 0,11 MPa teilweise sehr hohe Dehnungen von bis zu 31,30 % (Tibia, medial-posterior, 3. Zyklus (SA 11,24 %)) resultierten. Deutlich höhere physiologische Lasten von bis zu 56 MPa wurden aufgrund der hohen Dehnungen im Indentationsversuch bei bereits geringen Lasten nicht appliziert, um einer Destruktion des Knorpelgewebes vorzubeugen (D'LIMA 2008 [60]; THAMBYAH 2005 [253]). Das Erholungsverhalten nach der letzten Lastapplikation wurde für 5 min untersucht, um die Aufrichtung des Knorpels über einen längeren Zeitraum zu beobachten und um zu beurteilen, ob nach 5 min bereits eine vollständige Erholung vorliegt.

### 5.3.2 Ergebnisse

Im Ergebnisteil konnte gezeigt werden, dass der Knorpel nach 5 min Präkonditionierung ein Equilibrium erreicht hat. Während der Zyklen nahmen Steifigkeit, Eindringtiefe und Erholungsverhalten im Allgemeinen zu. Im 1. Zyklus konnte keine volle Aufrichtung der ursprünglichen Knorpelhöhe verzeichnet werden. In den meisten Versuchen konnte im 3. und 5. Zyklus eine nahezu volle relative Erholung gemessen werden. Erholungs- und Kriechkurve nehmen keinen identischen Verlauf. Weiterhin konnte keine vollständige Erholung nach 5 min evaluiert werden. Es zeigte sich eine hohe Varianz in der Dicke, Steifigkeit, Kriechen und Erholung im Vergleich der Testlokalisationen. Ungeachtet dieser Unterschiede konnte im 3. Zyklus in allen Lokalisationen eine volle relative Erholung verzeichnet werden.

#### 5.3.2.1 Steifigkeit

Eine Zunahme der Steifigkeit im zyklischen Versuchsaufbau wurde auch in der Literatur bereits festgestellt (MAIER 2007 [166]; SANDMANN 2009 [220]; VAN DER VEEN 2007 [259]). Dies könnte an der zunehmenden Eindringtiefe und am tiefenabhängigen Steifigkeitsanstieg der verschiedenen Knorpelschichten liegen (CHEN 2001 [49]; SCHINAGL 1997 [225]; WU 2002 [270]). Da die Permeabilität mit zunehmender Knorpeltiefe sinkt, wird der Flüssigkeitsfluss inhibiert, der Knorpel wird steifer (BOSCHETTI 2004 [32]; MAROUDAS 1968 [175]).

Eine Limitation unserer Versuche fand sich in der Auswertung der Steifigkeitswerte. Diese erfolgte manuell zwischen 0,05 N und 0,15 N. Es wurde also lediglich eine Steigungsgerade zwischen zwei Punkten gewählt.

### 5.3.2.2 Kriechverhalten

Während der Kompression wird die interstitielle Flüssigkeit durch die Matrix gepresst. Die Flüssigkeit strömt durch die Poren und die Last wird von der fluiden, viskosen Phase zunehmend auf die solide, elastische Phase übertragen. Beim Durchtritt durch die poröse Matrix müssen Reibungskräfte überwunden werden. Hierdurch resultiert ein Energieverlust (LU 2010 [161]; MAK 1987 [167]; MOW 1980 [193]). Wie bereits in der Literatur beschrieben, zeigte sich auch in unserem Kurvenverlauf ein biphasisches Materialverhalten (MAK 1987 [167]; MOW 1989 [189]; MOW 1980 [193]).

### 5.3.2.3 Erholung

Bei der Entlastung richtet sich das kollagene Netzwerk wieder auf, welches im Ruhezustand das Schwellverhalten von Knorpelgewebe inhibiert. Der osmotische Druck der stark negativen PGs zieht das während der Kompression ausgepresste Wasser wieder zurück (AIGNER 2003 [3]; BADER [17]; BASTIAANSEN-JENNISKENS 2008 [25]; LÜLLMANN-RAUCH 2012 [163]; MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1977 [177]; MOW 2002 [190]; SALTER 1998 [218]; TORZILLI 1976 [255]).

In unseren Versuchen nahmen die Kriech- und Erholungskurve im 1., 3. und 5. Zyklus keinen identischen Verlauf. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von MOW 1989 (MOW 1989 [189]). Die Erholungskurve lag in unseren Versuchen jedoch hinter der Kriechkurve vor allem initial zurück. Der Flüssigkeitsfluss aufgrund des osmotischen Gradienten beansprucht deutlich mehr Zeit als der Flüssigkeitsfluss unter Kompression (KEMPSON 1971 [122]; MAROUDAS 1977 [177]; TORZILLI 1976 [255]).

Der Knorpel konnte vor allem im 1. Zyklus seine ursprüngliche Knorpeldicke nicht wieder erreichen. Die fehlende volle Erholung im 1. Zyklus zeigte den Energieverlust und wurde in den Hysteresekurven dargestellt (KELM 2002 [120]). Dies deckt sich größtenteils mit den Ergebnissen der bisherigen Literatur, in denen keine volle Erholung festgestellt werden konnte (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; KEMPSON 1971 [122]; VAN DER VEEN 2007 [259]). Andere Publikationen bescheinigen dem Knorpel elastisches Materialverhalten bei Belastungen bis 5 MPa (SPAHN 2003 [241]).

Bis auf wenige Ausnahmen zeigte der Knorpel während des 3. Zyklus in allen Testlokalisationen eine vollständige relative Erholung, obgleich die Testlokalisationen sich hinsichtlich Dicke, Steifigkeit, Kriechverhalten und im Erholungsverhalten der übrigen Zyklen unterschieden. In der medial-zentralen Trochlea war am Zyklusende die Differenz zwischen Kriechen und relativer Erholung bei 0,00 % (SA 4,24 %), der Knorpel hat sich also zu 100 % erholt. Initial lag die Erholung auch im 3. Zyklus im Vergleich hinter dem Kriechverhalten zurück. Nach 6,7 s wurde der Rückstand jedoch im Gegensatz zum 1. Zyklus kontinuierlich kleiner,

bis er nach 49,9 s bei 0,04 % (SA 4,24 %) Unterschied lag. Auch am Zyklusende übersteigt das relative Erholungsverhalten das Kriechverhalten nicht. Ein interessantes Ergebnis ist die Auswertung der Steigung der Kriech- und Erholungskurve. Die Steigung der Erholung war zwischen 0-1 s und 0-2 s kleiner als die Steigung der Kriechkurve. Der Flüssigkeitsfluss unter Kompression ist also deutlich höher als durch osmotische Diffusion. Im Gegensatz zur Indentation mit dem soliden Prüfstempel konnte kein statistisch signifikanter Unterschied gemessen werden. Innerhalb des Intervalls zwischen 2-30 s stieg die Erholungskurve mehr als die Kriechkurve. Dies könnte möglicherweise durch einen im Vergleich zur Kompression höheren Porendurchmesser bedingt sein. In der zweiten Zyklushälfte konnte in beiden Kurven nahezu keine Steigung mehr gemessen werden. Der Flüssigkeitsfluss aufgrund des osmotischen Gradienten ist initial geringer als der Flüssigkeitsfluss unter Kompression, hierauf überwiegt der passive Flüssigkeitsstrom bis sich im 2. Kurvenabschnitt sowohl im Kriechen als auch in der Erholung nahezu ein Gleichgewicht einstellt (ECKSTEIN 1999 [67]; MAROUDAS 1977 [177]; SAUERLAND 2007 [222]; STEINMEYER 1999 [243]).

Auch im 5. Zyklus fand eine nahezu vollständige relative Erholung statt. Dies deckt sich mit bisherigen Untersuchungen, bei welchen unter zyklischer Kompression ein dynamisches Equilibrium beobachtet werden konnte. Dabei findet ein Flüssigkeitsfluss in der Belastungs- und in umgekehrter Richtung in der Entlastungsphase statt (LU 2008 [162]; STEINMEYER 1999 [243]).

Das Defizit der ursprünglichen Knorpelhöhe aus dem 1. Zyklus konnte allerdings auch in den folgenden Zyklen nicht vollständig ausgeglichen werden. Nach 5 min Entlastung konnte keine volle Wiederaufrichtung der Knorpelhöhe beobachtet werden. In der Literatur finden sich widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der vollen Erholungsfähigkeit von Knorpelgewebe. In wenigen Publikationen konnte eine volle Erholung nach mehreren Stunden beobachtet werden (MOW 1989 [189]; VAN DER VEEN 2007 [259]). In anderen Studien konnte keine volle Erholung festgestellt werden (ATESHIAN 1997 [11]; ATHANASIOU 1991 [14]; SCHMIDT-ROHLFING 2004 [226]). Interessant scheint die Feststellung von SCHMIDT-ROHLFING 2004, dass weder nativer noch behandelter Knorpel eine volle Erholung zeigt (SCHMIDT-ROHLFING 2004 [226]). Mit 97,85 % (SA 1,98 %) war in unseren Versuchen jedoch eine nahezu vollständige Knorpelerholung nach 5 min erreicht.

### 5.3.3 Kartographierung

Zusätzlich zu den bisherigen Ergebnissen wurde das Prüfprotokoll an 22 Lokalisationen zur Untersuchung der viskoelastischen Eigenschaften von Knorpel angewandt. Mit Hilfe des Verfahrens wurde eine Kartographierung von Dicke, Steifigkeit, Kriech- und Erholungsverhalten von gesundem Knorpelgewebe im ovinen Kniegelenk erstellt. Es konnten topographische

Unterschiede hinsichtlich aller bestimmten Parameter in den Testlokalisationen festgestellt werden. Wie bereits erwähnt, war dennoch eine volle relative Erholung im 3. Zyklus allen Lokalisationen gemeinsam.

### 5.3.3.1 Dicke

Die Knorpeldicke der Testlokalisationen innerhalb einer Probe und im Vergleich zwischen den Proben variierte. Bereits in der Literatur konnten topographische Unterschiede in der Knorpeldicke innerhalb und zwischen den Gelenken festgestellt werden (ADAM 1998 [2]; COHEN 1999 [52]; JURVELIN 2000 [110]; SONG 2006 [239]). Auch im humanen Kniegelenk konnten mittels MRT Dickenunterschiede innerhalb eines Probanden gemessen werden (COHEN 1999 [52]; ECKSTEIN 1997 [62]).

In unseren Versuchen konnten in der medialen Tibia und dem medialen Femur höhere Dicken als lateral verzeichnet werden. Dies konnte im Kaninchenmodell ebenfalls festgestellt werden (JURVELIN 2000 [110]). Auch in humanen Proben konnten im medialen Femur höhere Knorpeldicken als lateral erhoben werden (COHEN 1999 [52]). Im Kaninchenmodell konnten analog zu unseren Versuchen in der Trochlea und im lateralen Femur annähernd gleiche Dicken bestimmt werden (JURVELIN 2000 [110]). In der Literatur wurde in der humanen Patella ebenfalls dickerer Knorpel als in der Trochlea gefunden (FROMSON 1997 [77]).

Im Gegensatz zur bisherigen Literatur am Kaninchenmodell wurde in unseren Versuchen dickerer Knorpel im Femur als in der Tibia gemessen (JURVELIN 1990 [109]; JURVELIN 2000 [110]). Zudem konnte im Gegensatz zu unseren Ergebnissen im humanen Kniegelenk eine jeweils höhere Dicke in der lateralen Tibia und Patella im Vergleich zu medial gemessen werden (COHEN 1999 [52]; COLEMAN 2013 [53]). Ein Grund für die differierenden Ergebnisse könnten unterschiedlich starke Belastungen aufgrund der abweichenden Anatomie des humanen, Kaninchen- und ovinen Kniegelenks sein (AUMÜLLER 2014 [15]; LITTLE 2012 [155]). ECKSTEIN 2002 konnte herausfinden, dass Knorpel aus stärker beanspruchten Arealen auch höhere Dicken aufweist (ECKSTEIN 2002 [63]). Die höhere Knorpeldicke in der menschlichen Patella könnte aus dem erhöhten Anpressdruck der Quadrizepssehne und der im Vergleich zur medialen Gelenkfläche höheren Belastung resultieren (WIRTH 2002 [267]). In unseren Ergebnissen wurden für die mediale Tibia und das mediale Femur höhere Knorpeldicken als lateral erhoben. Dies deckt sich mit der Feststellung von ECKSTEIN 2002, da das humane mediale Tibiaplateau bei der Lastdistribution stärker als lateral beansprucht wird (ECKSTEIN 2002 [63]; THAMBYAH 2007 [252]). Ein Grund für die unterschiedlichen Resultate im humanen Kniegelenk könnte die Größe der vom Meniskus bedeckten Fläche im Tibiaplateau sein, da der Meniskus zum einen die inkongruenten Gelenkflächen von Femur und Tibia ausgleicht, aber auch Kompressionskräfte absorbiert (AUMÜLLER 2014 [15]). In unserem Versuchsaufbau wurde lediglich die medial-zentrale Tibia nicht von Meniskus bedeckt.

### 5.3.3.2 Steifigkeit

Die Steifigkeit des Knorpelgewebes bildet den Fokus vieler wissenschaftlicher Arbeiten, da eine verminderte Steifigkeit ein Frühzeichen von arthrotisch verändertem Knorpelgewebe ist. Sie stellt somit einen validen Funktionsparameter zur Evaluierung der Knorpelqualität und -integrität dar (BALDASSARRI 2007 [20]; FRANZ 2001 [76]; KEMPSON 1970 [123]; KLEEMANN 2005 [128]; KORHONEN 2002 [134]). Im Einklang mit unseren Testergebnissen konnten auch in der bisherigen Literatur topographische Unterschiede in der Steifigkeit von Knorpelgewebe festgestellt werden. Die Steifigkeit variierte sowohl innerhalb einer Probe, im Vergleich zweier Proben und im Vergleich zweier Gelenke (FROMSON 1997 [77]; KEMPSON 1971 [124]; LYYRA-LAITINEN 1999 [165]; SWANN 1993 [250]). In unserer Arbeit wurde der insgesamt härteste Knorpel in der lateralen Tibia gefunden (posterior; 3. Zyklus; 12,61 N/mm (SA 3,17 N/mm)), der weichste in der medialen Tibia (zentral; 3. Zyklus 3,07 N/mm (SA 1,63 N/mm)). Zudem wurde in der medialen Tibia und Femurkondyle weiches Gewebe als lateral gefunden. Weiterhin waren meniskusunbedeckte Areale in der Tibia signifikant weicher als bedeckte Areale. Auch LYYRA 1999 konnte in einem arthroskopischen Indentationsversuch im humanen Femur die höchste und in der medialen Tibia die niedrigste Steifigkeit eruieren. Die Forschergruppe konnte zudem steifere Werte im Femur als in der Patella, Tibia und Trochlea erheben. Allerdings wurde in dieser Arbeit nicht für jede Testlokalisierung im Vergleich von Femur und Tibia ein signifikanter Unterschied festgestellt (LYYRA 1999 [164]). SWANN 1993 fand hingegen im humanen Femur keinen Unterschied zwischen lateral und medial (SWANN 1993 [250]). Ebenfalls konnten LYYRA 1999, ATHANASIOU 1991 und SWANN 1993 niedrigere Steifigkeiten in der Trochlea als in den Kondylen erheben (ATHANASIOU 1991 [14]; LYYRA 1999 [164]; SWANN 1993 [250]). Ursache hierfür könnten wiederum die unterschiedlich starken Belastungen im Femorotibialgelenk, bei bis zu 56 MPa, im Vergleich zum Patellofemoralgelenk, bei bis zu 4,4 MPa, sein (D'LIMA 2008 [60]; HUBERTI 1984 [101]; THAMBYAH 2005 [253]). SWANN 1993 verglich Steifigkeitswerte mit den Belastungen während des Gangzyklus und konnte schlussfolgern, dass stärker belastete Regionen auch höhere Steifigkeiten aufwiesen (SWANN 1993 [250]). Dies widerspricht den Ergebnissen von AKIZUKI 1986, welcher in einem Zugversuch an humanen Kniegelenken niedrigere Steifigkeiten in stärker gewichtsbelasteten Regionen ermitteln konnte (AKIZUKI 1986 [4]). Bisher konnten nicht nur topographische Unterschiede hinsichtlich der Steifigkeit, sondern auch ein erhöhter Glykosaminoglykan-Anteil in stärker gewichtsbelasteten Regionen festgestellt werden (ROGERS 2006 [216]).

Die bisherigen Publikationen bestätigen analog zu unseren Untersuchungen, dass auch hinsichtlich der Steifigkeit zwischen meniskusbedeckten und -unbedeckten Arealen im Tibiaplateau Unterschiede herrschen (BARKER 2001 [22]; SWANN 1993 [250]). So fand auch SWANN

1993 signifikant weicherer Gewebe in unbedeckten Bereichen der humanen Tibia (SWANN 1993 [250]). Hier müsste nach SWANN 1993 aufgrund der fehlenden Dämpfung der Menisken die höhere Belastung und somit steiferes Gewebe zu finden sein (SWANN 1993 [250]). Der unbedeckte Knorpel der medialen Tibia zeigte in unseren Versuchen makroskopisch oftmals leicht auffälliges Gewebe. Dies konnte auch SWANN 1993 bestätigen (SWANN 1993 [250]). Die Vermutung liegt nahe, dass durch den ungeschützten Kontakt mit der Femurkondyle eine Schädigung des tibialen Knorpels entstehen könnte.

Eine tendenziell höhere Steifigkeit im posterioren Femur sowie weicherer Knorpelgewebe in der Mitte der Trochlea im Vergleich zu den Enden konnten unsere Ergebnisse nicht bestätigen (SWANN 1993 [250]). Im Gegensatz zu LYYRA 1999 wurde in der medialen und lateralen Patellafacette sowie in der medialen und lateralen Trochlea kein Steifigkeitsunterschied festgestellt (LYYRA 1999 [164]). In der Patella konnte in unseren Ergebnissen eher ein Unterschied zwischen distal und proximal postuliert werden, während LYYRA 1999 lediglich Messungen im mittleren Drittel der Patella vornahm und somit homogenere Ergebnisse erzielte (LYYRA 1999 [164]). Ursache könnte zum einen wiederum die Anatomie der ovinen Patella im Vergleich zur menschlichen Patella sowie die unterschiedliche mechanische Beanspruchung sein (ECKSTEIN 2002 [63]; SWANN 1993 [250]; THAMBYAH 2007 [252]; WIRTH 2002 [267]). Zudem könnte die geringe Größe der Patellafacetten im Verhältnis zum Indentordurchmesser einen Einfluss auf die Messergebnisse nehmen. Durch die Krümmungen der Knorpeloberfläche könnte eine veränderte Kontaktfläche resultieren (COHEN 1999 [52]). Zudem war die orthograde Ausrichtung von Knorpeloberfläche und Prüfstempel hier teilweise schwierig zu beurteilen. Weiterhin dürften aufgrund der kraftgeregelten Indentation und den somit unterschiedlichen Eindringtiefen auch die unterschiedlichen Steifigkeiten der Knorpelzonen einen Einfluss auf die Messergebnisse genommen haben. Es konnte eine Zunahme der Steifigkeit des Knorpels mit zunehmender Kompressionstiefe ermittelt werden (CHEN 2001 [49]; LAI 2010 [139]; SCHINAGL 1997 [225]; WU 2002 [270]). Grund hierfür könnte die Abnahme der Permeabilität bei steigender Kompression sein (BOSCHETTI 2004 [32]; MAROUDAS 1968 [171]; MOW 1984 [191]).

### 5.3.3.3 Kriechverhalten

Analog zu Dicke und Steifigkeit variierte auch das Kriechverhalten innerhalb einer Probe und im Vergleich zweier Proben. Dabei zeigten sich innerhalb der Tibia und innerhalb des Femur signifikante Unterschiede hinsichtlich der Eindringtiefe des Indentors. Die laterale Tibia wurde mehr als die mediale Tibia eingedrückt. Zudem zeigte die Tibia in den meisten korrespondierenden Lokalisationen signifikant mehr Kriechverhalten als das Femur. Innerhalb der Patella und der Trochlea konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

Auffällig ist, dass innerhalb der Tibia signifikante Unterschiede in der Tiefe des Kriechverhaltens, nicht jedoch hinsichtlich der Steifigkeit gefunden wurden. Knorpelgewebe mit höheren Steifigkeiten wurde tiefer als weichere Knorpelareale eingedrückt. So kroch die medial-zentrale Tibia, obgleich hier die geringste Steifigkeit detektiert wurde, lediglich 15,59 % (SA 6,67 %). In der lateral-posterioren Tibia konnte die höchste Steifigkeit verzeichnet werden, während die Eindringtiefe bei 26,02 % (SA 10,52 %) lag. Ursache hierfür könnte die tiefenabhängige Inhomogenität des anatomischen Aufbaus und der mechanischen Eigenschaften des Knorpels sein. Dies erschwert den Durchtritt von Wasser (BOSCHETTI 2004 [32]; CHEN 2001 [49]; LAI 2010 [139]; MAROUDAS 1968 [171]; MOW 1984 [191]; SCHINAGL 1997 [225]; WU 2002 [270]). Die Eindringtiefe während der Zyklen stieg ebenfalls weniger stark an. Daraus könnten die niedrigeren Steifigkeiten und die niedrigeren Eindringtiefen für den 3. Zyklus erklärt werden. Die im Vergleich zu den zentralen Testlokalisationen höhere Eindringtiefe in anteriorer und posteriorer Tibia und Femur könnten ebenfalls durch eine nicht optimale Ausrichtung der Probe zum Indentor bedingt sein, da eine freie Kamerasicht hier erschwert war.

### 5.3.3.4 Erholung

In der bisherigen Literatur ist unserer Kenntnis nach noch nie ein topographischer Vergleich des Erholungsverhaltens erfolgt.

In unserer Arbeit zeigten sich auch in der Erholung topographische Unterschiede. In Femur und Tibia wurden deutlich inhomogenere Ergebnisse als in Patella und Trochlea erhoben. Die Testlokalisationen innerhalb von Tibia und Femur unterschieden sich sowohl im Kriechverhalten als auch im Erholungsverhalten signifikant. Während sich die gegenüberliegenden Testlokalisationen zwischen Tibia und Femur, obgleich signifikant hinsichtlich des Kriechverhaltens, nicht signifikant in der Erholung unterschieden. Eine mögliche Erklärung könnte wiederum in den inhomogenen mechanischen Eigenschaften der verschiedenen Knorpelschichten liegen. Eine zonenspezifische Tiefenabhängigkeit konnte bisher auch im Schwellverhalten, bzw. der Permeabilität, nachgewiesen werden (BOSCHETTI 2004 [32]; CHEN 2001 [49]; CHEN 2001 [49]; LAI 2010 [139]; MAROUDAS 1968 [171]; MAROUDAS 1977 [177]; MOW 1984 [191]; SCHINAGL 1997 [225]; WANG 2008 [262]; WU 2002 [270]). Im Allgemeinen konnte Knorpel mit höherem Kriechverhalten seine ursprüngliche Knorpeldicke zu einem geringeren Ausmaß wieder erreichen. Eine Ausnahme bildete die meniskusunbedeckte Testlokalisation in der medialen Tibia. Sie konnte sich im Vergleich zur Eindringtiefe am höchsten wiederaufrichten. Dabei konnte sie bereits im 1. Zyklus prozentual mehr ihre Oberfläche aufrichten als die anderen Testlokalisationen der Tibia. In diesem Areal wurde die geringste Steifigkeit verzeichnet und könnte, wie bereits oben erörtert, eine Schädigung aufweisen (BALDASSARRI 2007 [20]; FRANZ 2001 [76]; MEACHIM 1972 [182]; SWANN 1993 [250]).

## 5.4 Bedeutung für die Wissenschaft

In unseren Versuchen wurde mit Hilfe eines hochdynamischen, neu entwickelten Prüfsystems zum ersten Mal der Oberflächenverlauf des Knorpels während der Entlastung mit einer minimalen Tastlast von 5,66 kPa aufgezeichnet. Dabei fanden in einer soliden Indentation am bovinen Knorpel sowohl ein statischer als auch ein zyklischer Kriecherholungsversuch Anwendung. Zusätzlich wurde in einer porösen Indentation am ovinen Kniegelenk ein quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch durchgeführt und zum ersten Mal eine Kartographierung des Erholungsverhaltens erstellt. Neben der kontinuierlichen Untersuchung des Oberflächenverlaufs der Knorpelerholung können zudem weitere mechanische Parameter wie der 2-Sekunden-Kriechmodul bestimmt werden (KEMPSON 1971 [122]).

Wir konnten zeigen, dass der Kurvenverlauf des Kriechverhaltens und des Erholungsverhaltens weder in statischen oder in quasistatischen zyklischen Kriecherholungsversuchen, noch in bovinen oder ovinen Kniegelenken, noch unter solider oder poröser Indentation identisch ist. Weiterhin konnten wir zeigen, dass im Allgemeinen keine volle Erholung beobachtet werden kann. In unseren quasistatischen Versuchen wurde jedoch unter Verwendung eines kurzen Prüfprofils sowie eines porösen Indentors die initiale Knorpelhöhe nach 5 min Entlastung mit 97,85 % (SA 1,98 %) nahezu wieder erreicht. Zudem konnten Unterschiede zwischen Kriechen und Erholung sowie der Steigungen zwischen solider und poröser Indentation festgestellt werden. Zusammengefasst liegt das Erholungsverhalten unter Testung mit einem soliden Zylinder in den ersten 60 s weiter hinter dem Kriechen zurück als unter einem porösen Zylinderstempel.

In der Kartographierung des ovinen Kniegelenks konnten wir eine hohe topographische Varianz in der Dicke, der Steifigkeit, des Kriech- und Erholungsverhaltens innerhalb und zwischen verschiedenen Proben feststellen. V. a. die Tibia, aber auch das Femur, zeigten inhomogene Ergebnisse. Dabei wiesen Tibia und Femur medial weniger Kriechverhalten als lateral auf. In Trochlea und Patella wurden relativ homogene Ergebnisse für die untersuchten Parameter erhoben. Für die Herstellung von Knorpelregeneraten bedeutet dies, dass für Tibia und Femur lokalisationsabhängige Vergleichswerte empfohlen werden sollten. In Trochlea und Patella können homogene Vergleichswerte angenommen werden.

Im Vergleich zweier gegenüberliegender Testlokalisationen konnte in Femur und Tibia in nahezu allen Testlokalisationen ein signifikanter Unterschied im Kriechverhalten, nicht jedoch im Erholungsverhalten, festgestellt werden. In der Steifigkeit unterschied sich nur die meniskusunbedeckte Tibia signifikant von der gegenüberliegenden Testlokalisation im Femur. Dies deckt sich mit den Ergebnissen des zyklischen Versuchs, in dem sich Knorpelgewebe mit höherem Kriechverhalten auch mehr erholt.

Hinsichtlich der großen Unterschiede zwischen den Testlokalisationen in Dicke, Steifigkeit, Kriech- und Erholungsverhalten ist umso erstaunlicher, dass im 3. Zyklus in allen Testlokalisationen eine volle relative Erholung erreicht wurde. Die volle relative Erholung im 3. Zyklus könnte somit der entscheidende Parameter zur Differenzierung von gesundem und pathologischem Gewebe darstellen.

In der quasistatischen zyklischen Indentation konnten wir zeigen, dass die Steigung der Erholungskurve zwischen 0-1 s und 0-2 s deutlich hinter der Steigung der Kriechkurve liegt. Nach 2 s steigt im 1. Kurvenabschnitt die Erholungskurve signifikant mehr bis beide Kurven nahezu identisch verlaufen.

Aufgrund der inhomogenen, tiefenabhängigen Komposition, Steifigkeit und Schwellverhalten könnten in weiteren Versuchen die oberflächliche, die mittlere sowie die tiefe Knorpelzone einzeln untersucht werden (BOSCHETTI 2004 [32]; CHEN 2001 [49]; KORHONEN 2008 [130]; LAI 2010 [139]; MAROUDAS 1968 [171]; MAROUDAS 1977 [177]; MCLEOD 2013 [181]; MOW 1984 [191]; SCHINAGL 1997 [225]; WANG 2001 [261]; WANG 2008 [262]; WANG 2007 [263]; WU 2002 [270]). Eine weitere Möglichkeit wäre das Anfahren einer Dehnung statt einer Kraft, um eine bessere Vergleichbarkeit zu erlangen.

Besonders interessant ist die Anwendung des Prüfprotokolls in künftigen Studien, da arthrotischer Knorpel frühzeitig ein verändertes Schwell- und somit Erholungsverhalten aufweist. Obgleich geschädigtes Knorpelgewebe einen verminderten PG-Gehalt aufweist, konnte ein erhöhtes Schwellverhalten vermutlich aufgrund der verminderten Limitierung des geschädigten kollagenen Netzwerkes ermittelt werden (ALTMAN 1984 [6]; MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1973 [176]; MAROUDAS 1977 [177]; MUIR 1977 [194]; NARMONEVA 2002 [195]; WANG 2008 [262]). Somit könnte vor allem die initiale Erholung von arthrotischem Knorpelgewebe möglicherweise langsamer als in gesundem Knorpel ablaufen. Daher stellt eine biomechanische und histologische Vergleichsstudie nativen und arthrotischen Knorpels einen spannenden Ausblick dar.

## 6 Zusammenfassung

Es konnte in dieser Arbeit ein neues Prüfverfahren etabliert werden, mittels welchem die viskoelastischen Eigenschaften des artikulären Knorpels schnell, praktikabel und präzise bestimmt werden können. Es wurde ein neu entwickeltes hochdynamisches Prüfgerät verwendet, mittels welchem das Erholungsverhalten des Knorpels nach Belastung unter einer minimalen Tastlast von 5,66 kPa untersucht wurde. Unseres Wissens nach konnte das Erholungsverhalten aufgrund der technischen Herausforderung bisher noch nicht unter einer derartigen Minimallast ermittelt werden. Dabei wird der exakte Ortsverlauf der Knorpeloberfläche kraftgeregelt kontinuierlich aufgezeichnet. Neben Dicke, Steifigkeit, Kriechen und Erholung können weitere Kennwerte, wie der 2-Sekunden-Kriech-Modul, aus unserem Verfahren errechnet werden (KEMPSON 1971 [122]). Der Versuchsaufbau sowie die Rahmenbedingungen berücksichtigten Erkenntnisse einer umfangreichen Literaturrecherche bisheriger Testverfahren (Tabelle 13-23 Anhang Seite 122 ff.). Es wurde ein Kompressionsversuch mittels Indentation durchgeführt. In Vorversuchen wurden ein statisches und ein zyklisches Kriecherholungsverfahren zur Untersuchung des Erholungsverhaltens an bovinem Knorpel mit einem soliden Prüfstempel erprobt. Es wurde in allen Versuchen festgestellt, dass die Kurven des Kriech- und Erholungsverhaltens keinen identischen Verlauf nehmen. Kriechen und Erholung sowie die Steigung der Kurven unterscheiden sich zu Beginn signifikant. Unter Verwendung eines soliden Prüfstempels kann die Erholung die initiale Knorpeldicke nicht erreichen und endete in bzw. näherte sich einem Plateau. Knorpel, der tiefer eingedrückt wurde, zeigte dabei ein signifikant höheres Erholungsverhalten sowie eine initial signifikant höhere Steigung auf. In der bisherigen Literatur ist eine genaue Beschreibung des Kurvenverlaufs unserer Kenntnis nach nicht erfolgt.

In einem Hauptversuch wurde mit einer porösen Indentation ein einfaches und praktikables, quasistatisches Prüfprotokoll bestehend aus 5 Zyklen am ovinen Tiermodell angewandt und die topographischen Unterschiede der biomechanischen Eigenschaften an Tibia, Femur, Patella und Trochlea in 154 Versuchen an 22 Lokalisationen ermittelt. Unsere Ergebnisse zeigen, dass, auch unter Verwendung eines porösen Prüfstempels, Kriechverhalten und Erholungsverhalten unterschiedliche Verläufe zeigten. Dabei konnte im 1. Zyklus keine volle relative Erholung festgestellt werden, während dies im 3. Zyklus vollständig und im 5. Zyklus nahezu vollständig beobachtet werden konnte. In allen Zyklen lag die Erholungskurve dabei initial hinter der Kriechkurve zurück. Die Auswertung für den 3. Zyklus ergab im Gegensatz zur Indentation mit einem soliden Indentor weder im Vergleich von Kriechen und Erholung noch im Vergleich der Steigungen einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen 0 und 2 s. In der porösen Indentation lag die Steigung der Erholungskurve zwischen 2 und 30 s

signifikant über der Kriechkurve und ist dann annähernd identisch. Nach 5 min Entlastung war mit 97,85 % (SA 1,98 %) die initiale Knorpelhöhe nahezu wieder erreicht.

Weiterhin konnte eine hohe topographische Varianz hinsichtlich Dicke, Steifigkeit, Kriech- und Erholungsverhalten zwischen den Testlokalisationen vor allem in Tibia und Femur festgestellt werden. In der Trochlea und der Patella wurden relativ homogene Werte für die untersuchten Parameter erhoben. Für die Herstellung von Knorpelregeneraten bedeutet dies, dass für die Tibia und das Femur zukünftig lokalisationsabhängige Vergleichswerte und Richtlinien erarbeitet und empfohlen werden. In der Trochlea und der Patella können nach unseren Untersuchungen und den Literatur-Ergebnissen derzeit homogene Vergleichswerte angenommen werden. Im Vergleich gegenüberliegender Testlokalisationen zweier Proben konnte im Kriechverhalten in nahezu allen Lokalisationen ein signifikanter Unterschied erhoben werden, nicht jedoch für die Erholung. Dies deckt sich mit den Ergebnissen des zyklischen Versuchs, dass Knorpel, welcher höheres Kriechverhalten aufweist, auch ein höheres Erholungsverhalten zeigt. Die Steifigkeit unterschied sich nur in der meniskusbedeckten Tibia und der gegenüberliegenden Lokalisation am Femur statistisch signifikant.

Ungeachtet dessen war allen Testlokalisationen gemeinsam, dass im 3. Zyklus eine volle relative Erholung erreicht wird. Die volle relative Erholung im 3. Zyklus könnte somit der entscheidende Parameter zur Differenzierung von gesundem und pathologischem Gewebe - unabhängig von der Testlokalisation - darstellen.

Aufgrund der inhomogenen, tiefenabhängigen Komposition, Steifigkeit und Schwellverhalten könnte in weiteren Versuchen eine positionsgeregelte Dehnung statt einer Kraft angefahren werden (BOSCHETTI 2004 [32]; CHEN 2001 [49]; KORHONEN 2008 [130]; LAI 2010 [139]; MAROUDAS 1968 [175]; MAROUDAS 1977 [177]; MCLEOD 2013 [181]; MOW 1984 [191]; SCHINAGL 1997 [225]; WANG 2001 [261]; WANG 2008 [262]; WANG 2007 [263]; WU 2002 [270]). Auch die Ergebnisse der Kartographierung legen einen solchen Versuchsansatz nahe, um einen standardisierten Vergleich vornehmen zu können. Weiterhin könnten künftig die Rahmenbedingungen, wie die Evaluierung der Knorpelintegrität mittels *Indian ink*-Test (BARKER 2001 [22]; BULLOUGH 1968 [39]; MEACHIM 1972 [182]), die Verwendung eines porösen Stahlindentors (KEENAN 2009 [117]), Ultraschallreinigung (LU 2004 [160]; MOW 1989 [189]), Versuchs-temperatur (OOSTERVELD 1992 [204]), Verwendung von PIs (MILLER 2010 [183]; MOW 1989 [189]; SCHINAGL 1997 [225]) und eine nichtinvasive Dickenmessung mittels Ultraschall (JURVELIN 1995 [113]; MODEST 1989 [184]) diskutiert werden.

Unser Prüfverfahren stellt ein einfaches, praktikables Verfahren zur biomechanischen Untersuchung von Knorpelgewebe dar. Besonders interessant ist die Anwendung in künftigen Studien. Da arthrotischer Knorpel früh ein verändertes Schwell- und somit Erholungsverhalten aufweist, stellt eine biomechanische und histologische Vergleichsstudie nativen und arthrotischen Knorpels sowie von tissue-engineertem Knorpelgewebe einen spannenden

Ausblick für weitere Forschungsarbeiten dar (ALTMAN 1984 [6]; MAROUDAS 1976 [172]; MAROUDAS 1973 [176]; MAROUDAS 1977 [177]; MUIR 1977 [194]; NARMONEVA 2002 [195]; WANG 2008 [262]).

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Humanes Kniegelenk von A) ventral, B) Aufsicht auf das Tibiaplateau (nach SCHÜNKE 2005 [230]).	10
Abbildung 2: Ovines Kniegelenk von A) ventral und von B) lateral (LCA: Ligamentum (Lig.) cruciatum anterius; LCL: Lig. collaterale laterale; MEDL: M. extensor digitorum longus; ML: Meniscus laterale; MM: Meniscus mediale; T: Trochlea).	12
Abbildung 3: Sagittalschnitt durch das Kniegelenk mit Darstellung des Gelenkknorpels (nach FIRBAS 1992 [72]).	12
Abbildung 4: Übersicht über die histologische Komposition von artikulärem Knorpelgewebe (nach AIGNER 2003 [3]).	13
Abbildung 5: EZM eines artikulären Chondrozyten (ARCHER 2003 [8]): (rER: raues Endoplasmatisches Reticulum; N: Nucleolus; G: Golgiapparat; L: Lysosom).	14
Abbildung 6: Aufbau der EZM (nach LU 2008 [159]).	15
Abbildung 7: Strukturelle Anordnung der Zellen (links) und Kollagenfasern (Mitte) in der oberflächlichen, mittleren und tiefen Zone. Histologischer Querschnitt (rechts) (nach ATHANASIOU 2010 [13]; MOW 2005 [192]).	16
Abbildung 8: Spannungs-Dehnungs-Diagramm am Beispiel eines Zugversuchs an Kollagenfasern (nach KORHONEN 2011 [133]).	20
Abbildung 9: Schematische Darstellung des Kriechens: A) Über eine definierte Zeit wird eine konstante Last (Spannung) aufgebracht und gehalten. B) Das Prüfgewebe wird dabei eingedrückt bis sich ein Gleichgewicht zwischen Belastung und Gegenkräften einstellt. Die Dehnungskurve erreicht ein Plateau: Das Gewebe wird nun nicht weiter eingedrückt.	22
Abbildung 10: Schematische Darstellung der Relaxation: A) Über eine definierte Zeit wird eine konstante Dehnung aufgebracht und gehalten. B) Das Prüfgewebe zeigt dabei einen Spannungsabfall bis sich ein Gleichgewicht zwischen Dehnung und Gegenkräften einstellt. Die Spannungskurve erreicht ein Plateau: Das Gewebe wird nun nicht weiter deformiert.	23
Abbildung 11: Schematische Darstellung einer Hystereseurve.	23
Abbildung 12: Schematische Darstellung einer Kriecherholung. Während des Kriechens wird der Knorpel zunehmend komprimiert, bei Entlastung richtet der Knorpel seine ursprüngliche Höhe (h) wieder auf, man spricht von Erholung.	24
Abbildung 13: Viskoelastische Modelle zur Veranschaulichung des biomechanischen Verhaltens von Knorpelgewebe: A) Maxwell-Modell, B) Voigt-Modell, C) Kelvin-Modell (nach KORHONEN 2011 [133]; MOW 2005 [192]).	26
Abbildung 14: MRT-Bilder zur Evaluierung der Knorpelqualität im Kniegelenk in A) 3D gradient-echo, B) dGEMRIC, C) T2-mapping und D) T1rho-mapping (nach GOLD 2009 [83]; MATZAR 2013 [178]).	31
Abbildung 15: Schematische Darstellung der Charakterisierung der Indentationssteife von Knorpelgewebe mittels Arthroskopie am humanen Kniegelenk (nach (SOBOTTA 2007 [237]).	32
Abbildung 16: Schematische Darstellung eines Zugtests an einer Knorpelprobe (nach CEUNINCK 2004 [45]), (hellgrau: Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).	32
Abbildung 17: Schematische Darstellung eines Scherversuchs (linkes Bild) und eines Torsionsversuchs (rechtes Bild) an einer Knorpelknochenprobe (hellgrau: Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).	33
Abbildung 18: Schematischer Versuchsaufbau in unconfined Kompression an einer Knorpelprobe (hellgrau: Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).	33
Abbildung 19: Schematische Darstellung der confined Kompression (hellgrau: poröse Prüfplatte; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte und seitliche Begrenzung).	34
Abbildung 20: Schematische Darstellung eines Indentationsversuchs (hellgrau: Indentor; weiß: Knorpel; rot: Knochen; dunkelgrau: Grundplatte).	34

Abbildung 21: Schematische Darstellung eines Kriechversuchs. Unter einer konstant gehaltenen Spannung wird die Position der Knorpeloberfläche gemessen. Der Knorpel sinkt zunehmend ein, er zeigt Kriechverhalten.....	35
Abbildung 22: Schematische Darstellung eines Spannungsrelaxationsversuchs. Unter Halten einer konstanten Position wird der Spannungsabfall des Knorpelgewebes gemessen. Der Spannungsabfall erfolgt durch das Auspressen der interstitiellen Flüssigkeit bis sich ein Gleichgewicht einstellt.....	36
Abbildung 23: Schematische Darstellung eines Rampenprofils in einem quasistatischen Versuch. Hierbei wird die Position nur für kurze Zeit gehalten und schließlich erhöht.....	36
Abbildung 24: Kraft-Weg-Diagramm einer typischen Nadelindentation (nach JURVELIN 1995 [113]).....	40
Abbildung 25: Schematische Darstellung der verwendeten Probengeometrien in in vitro Versuchen.....	41
Abbildung 26: Schematische Darstellung eines Pyramiden-, Kugel- und Zylinderindentors über einem KKZ.....	42
Abbildung 27: Schematische Darstellung des Zylinderindentors mit abgerundeten Ecken über einem KKZ.....	42
Abbildung 28: Prüfgerät „Tissue Charts“, mit welchem die Versuche dieser Arbeit durchgeführt wurden.....	43
Abbildung 29: Linkes Kniegelenk vom Lamm mit Skalpell, anatomischer und chirurgischer Pinzette.....	44
Abbildung 30: A) Standbohrmaschine und Stanze mit seitlicher Öffnung, B) eingespanntes Tibiaplateau, C) entnommene Stanze mit unsauberem Entnahmerand und durch Hitze zerstörtes Gewebe.....	45
Abbildung 31: Bohrröhrchen aus Stahl (Innendurchmesser 5 mm) mit gezackten Enden.....	45
Abbildung 32: A) Frontalansicht der Standbohrmaschine, B) eingespanntes Femur, C) eingespannte Tibia mit Bohrröhrchen.....	46
Abbildung 33: Gewinnung der KKZ durch A) und B) knöchernes Absägen einer Femurkondyle und C) ossäre Entnahme.....	46
Abbildung 34: Dokumentation und Lagerung der KKZ von A) Femur und B) Tibia.....	46
Abbildung 35: A) Eingespanntes Femur mit Verlust des lateralen, posterioren KKZ, B) im Bohrröhrchen verbliebener KKZ.....	47
Abbildung 36: A) Typische Nadelindentation; Pfeil 1: Knorpeloberfläche; Pfeil 2: Durchbrechen der Tidemark, B) Kamerasicht vor und C) während der Dickenmessung.....	48
Abbildung 37: A) Patella, B) gestanzte Patella, C) Entnahme der Stanze, D) KKZ.....	49
Abbildung 38: A) 1) Probenkammer mit 2) Kamera A, 3) Kamera B, 4) solider Zylinderstempel, 5) Probe, B) aus Perspektive A, C) aus Perspektive B.....	49
Abbildung 39: Schematischer Prüfablauf des dynamischen Kompressionsversuchs mit Simulation von 100 Kniebeugen und Knorpelerholung.....	50
Abbildung 40: A) Ovines Kniegelenk bei geschlossener Kapsel und umgebendem Weichteilgewebe, B) seitliche Eröffnung der Gelenkkapsel.....	51
Abbildung 41: Intrakapsuläre Strukturen des ovinen Kniegelenks A) von ventral, B) von posterior, C) von lateral und D) von medial.....	52
Abbildung 42: Durchtrennung der ligamentären Strukturen A) Lig. femorotibiale laterale, B) Lig. femorotibiale mediale, C) Lig. cruciatum anterior, D) Lig. cruciatum posterior.....	52
Abbildung 43: A) Aufsicht auf das Tibiaplateau, B) Resektion des medialen Meniskus, C) osteochondrale Entnahme, D) präpariertes Tibiaplateau.....	53
Abbildung 44: Osteochondrale Entnahme des A) medialen und B) lateralen Femurkondylus, C) Entfernung von Weichgewebe, D) präparierte Femurkondylen.....	53
Abbildung 45: Osteochondrale Entnahme der A) lateralen und B) medialen Trochlea, C) Aufsicht und D) seitliche Ansicht der Trochlea.....	54
Abbildung 46: Präparation der Patella mit paralleler Schnitfführung zur A) medialen und B) lateralen Gelenkfläche, C) Aufsicht, D) Rückansicht der präparierten Patella.....	54
Abbildung 47: Schematisches Prüfschema mit den verschiedenen Prüfstellen in A) Tibia, B) Femurkondylen, C) Trochlea und D) Patella.....	55

Abbildung 48: Poröser Zylinderindenter aus Glas (d = 1,5 mm (SA 0,2 mm); Porengröße: 16-40 µm; Porosität 50 %).	55
Abbildung 49: Mit Beilagplättchen und Schrauben fixierte Proben in der Probenkammer: A) Tibia, B) mediale Femurkondyle, C) Trochlea und D) Patella.	56
Abbildung 50: A) Positionierung der Probe in der Prüfmaschine und orthograde Ausrichtung zum Indenter: Detailansicht auf die Probenkammer (1) mit Femurkondyle (2), Kameras (3,4), poröser Zylinderindenter (5), B) Kamerasicht A und C) Kamerasicht B.	56
Abbildung 51: Dickenmessung: Nadelpositionierung A1) und B1) vor und A2) und B2) während der Nadelindentation aus Kamerasicht A und B.	58
Abbildung 52: Typischer Kraftwegverlauf der Nadelindentation.	58
Abbildung 53: Auswertung der Steifigkeit aus der Steigung zwischen 0,05 N und 0,15 N im Kraft-Weg-Diagramm des zyklischen Indentationsversuchs.	59
Abbildung 54: Typischer Kraftwegverlauf des zyklischen Indentationsversuchs.	60
Abbildung 55: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich für alle 10 Versuche.	61
Abbildung 56: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung der Differenz zwischen Kriechen und Erholung in %.	62
Abbildung 57: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Erholungsverhalten der Knorpelproben in % des jeweiligen Kriechverhaltens. In den ersten 50 s konnte sich der Knorpel zu 36,52 % (SA 14,01 %) erholen, nach 2500 s zu 76,96 % (SA 9,08 %).	62
Abbildung 58: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Knorpeldicke der medialen und lateralen Patella (* signifikanter Unterschied der Knorpeldicken (T-Test, p < 0,01)).	64
Abbildung 59: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Kurvenverlauf der Knorpelerholung der medialen und lateralen Patella.	64
Abbildung 60: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Kriechverhalten und Knorpelerholung, gemessen als Reduktion der ursprünglichen Knorpeldicke, im Vergleich nach 3 min und 87 min (* signifikanter Unterschied im Kriechverhalten zwischen medial und lateral (T-Test, p < 0,05)).	66
Abbildung 61: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Vergleich des Kurvenverlaufs der Knorpelerholung der in vivo und in vitro erhobenen Daten. Schwarz: Ortsverlauf der Knorpelerholung mittels MRT nach ECKSTEIN 1999 (ECKSTEIN 1999 [67]). Blau: Ortsverlauf der Knorpelerholung mittels Indentation. Rot: Zusätzlich gewonnene Daten aus der Indentation: Eindringtiefe nach 3 min Belastung und Kurvenverlauf der Erholung bis 3 min.	67
Abbildung 62: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der jeweils geringsten und höchsten Knorpeldicken in Tibia, Femur, Trochlea und Patella.	68
Abbildung 63: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten in der Tibia. Es konnte ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl verzeichnet werden.	70
Abbildung 64: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten im Femur. Es konnte im Allgemeinen ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl mit Ausnahme im lateral-zentralen und lateral-posterioren Femur verzeichnet werden.	70
Abbildung 65: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten in der Trochlea. Es konnte ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl verzeichnet werden.	71
Abbildung 66: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovine, n = 7 je Testlokalisation): Darstellung der im 1., 3. und 5. Zyklus gemessenen Steifigkeiten in der Patella. Es konnte im Allgemeinen ein leichter Anstieg der Steifigkeit mit zunehmender Zykluszahl verzeichnet werden.	72

Abbildung 67: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Tibia. Es zeigte sich ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl (* signifikanter Unterschied (3. Zyklus; Turkey's, $F(2,18) = 6,489$ , $p = 0,007$ )).	73
Abbildung 68: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb des Femurs. Es zeigte sich im Allgemeinen ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl.	74
Abbildung 69: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Trochlea. Es zeigte sich im Allgemeinen ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl.	75
Abbildung 70: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Kriechverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Patella. Es zeigte sich ein diskreter Anstieg der gemessenen Dehnungen mit zunehmender Zykluszahl.	75
Abbildung 71: Beispielhafter Wegverlauf des quasistatischen zyklischen Indentationsversuchs: Während der Präkonditionierung wurde ein Equilibrium erreicht. Im 1. Zyklus zeigte der Knorpel höheres Kriechverhalten als Erholungsverhalten, er konnte seine Ursprungsdicke nicht erreichen. Während des 2.-5. Zyklus zeigte der Knorpel nahezu elastisches Verhalten. Auch nach 5 min Erholung konnte die Ausgangshöhe nicht ganz erreicht werden.	76
Abbildung 72: Beispielhaftes Kraft-Weg-Diagramm des quasistatischen zyklischen Indentationsversuchs. Im 1. Zyklus konnte der Knorpel seine Ausgangshöhe nicht wieder erreichen. Im 2.-5. Zyklus war die Höhe des Kriechverhaltens und der Erholung annähernd gleich. Weiterhin ist der unterschiedliche Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechverhaltens ersichtlich.	77
Abbildung 73: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea im 1. Zyklus.	77
Abbildung 74: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea im 3. Zyklus. Bei 2 s und 30 s lag ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Kriechen und Erholung vor (* signifikanter Unterschied (T-Test, $p < 0,05$ )).	78
Abbildung 75: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Differenz zwischen Kriechen und Erholung für den 3. Zyklus in der medial-zentralen Tibia.	79
Abbildung 76: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Differenz zwischen Kriechen und Erholung bei 1 s, 2 s, 3,3 s, 6,7s, 49,9 s und 60 s. Nach 3,3 s bestand der höchste Unterschied zwischen Kriechen und Erholung. Nach 6,7 s verringerte sich der Unterschied zwischen Kriechen und Erholung kontinuierlich bis nach 49,9 s die Knorpelerholung dem Kriechverhalten entsprach. Am Ende des Zyklus entsprach die Erholung dem Kriechverhalten.	79
Abbildung 77: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Steigungen für die Kriech- und Erholungskurve im Vergleich. Zu Beginn konnten für beide Kurven initial höhere Steigungen zwischen zwei Messpunkten als am Ende gemessen werden.	80
Abbildung 78: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Steigungen der Kriech- und Erholungskurve zwischen 0-1 s, 0-2 s, 2-30 s und 30-60 s. Initial überwog die Steigung der Kriechkurve. Im mittleren Achsenabschnitt zwischen 2-30 s war die Erholungskurve steiler als im hinteren Kurvenverlauf. Im Zeitintervall zwischen 2-30 s wies die Erholung eine signifikant höhere Steigung auf, während die Steigung des Kriechverhaltens über die gesamte Zyklusdauer statistisch signifikant überwog (* signifikanter Unterschied (T-Test, $p < 0,05$ )).	81

Abbildung 79: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Kurvenverlauf der Erholung für 5 min und des Kriechens im 5. Zyklus im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea.....	82
Abbildung 80: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Kurvenverlauf der Erholung und des Kriechens im Vergleich in der medial-zentralen Trochlea im 5. Zyklus.....	82
Abbildung 81: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Tibia (* signifikanter Unterschied (Turkey's, F (2,18) = 4,203, p = 0,032)). .....	86
Abbildung 82: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb des Femurs.....	87
Abbildung 83: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Trochlea.....	87
Abbildung 84: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung des Erholungsverhaltens im 1., 3. und 5. Zyklus innerhalb der Patella.....	88
Abbildung 85: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Schematische Darstellung der Kartographierung der Steifigkeiten im ovinen Kniegelenk für die erhobenen Prüfstellen. Hohe Inhomogenität wurde in A) Tibia und B) Femur gefunden. Geringere und homogenere Steifigkeiten wurden in C) Trochlea und D) Patella erhoben.....	90
Abbildung 86: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Schematische Darstellung der Kartographierung des Kriechverhaltens und Erholungsverhaltens im ovinen Kniegelenk für die erhobenen Prüfstellen in % der Ausgangsdicke. Hohe Inhomogenität wurde in A) Tibia und B) Femur gefunden. Geringere und homogenere Ergebnisse wurden in C) Trochlea und D) Patella erhoben.....	91
Abbildung 87: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten für den 3. Zyklus aller Testlokalisationen in Femur und Tibia (* signifikanter Unterschied im Vergleich zweier gegenüberliegender Lokalisationen zwischen Tibia und Femur (T-Test, p < 0,05)). ..	91
Abbildung 88: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten für den 3. Zyklus aller Testlokalisationen in Trochlea und Patella.....	92
Abbildung 89: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung des Vergleichs von Kriechen und Erholung sowie der Steigung der Kriech- und Erholungskurve zwischen 0 und 600 s. Bis 540 s unterschieden sich das Kriech- und Erholungsverhalten statistisch signifikant (* signifikanter Unterschied (T-Test, p < 0,05)). Die Steigungen von Kriechen und Erholung unterschieden sich in jedem Messintervall bis 60 s statistisch signifikant (* signifikanter Unterschied (T-Test, p < 0,01)).....	137
Abbildung 90: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung des Vergleichs von Kriechen und Erholung sowie der Steigung der Kriech- und Erholungskurve zwischen 600 s und 2600 s. Das Kriech- und Erholungsverhalten unterschieden sich nicht mehr statistisch signifikant (T-Test, p > 0,05). Ebenso lag in den Steigungen von Kriechen und Erholung kein statistisch signifikanter Unterschied mehr vor (T-Test, p > 0,05).....	138
Abbildung 91: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Darstellung des Vergleichs der umgekehrten Erholung sowie der Steigung der Erholungskurve der medialen und lateralen Patella zwischen 0 und 13 min. Das Erholungsverhalten zwischen medial und lateral unterschieden sich zu jedem der Messzeitpunkte statistisch signifikant (* signifikanter Unterschied (T-Test, p < 0,05)). Hinsichtlich der Steigung der Erholung konnte zwischen 0-1 s und 0-2 s ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (* signifikanter Unterschied (T-Test, p < 0,05)). .....	141

Abbildung 92: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Darstellung des Vergleichs der umgekehrten Erholung sowie der Steigung der Erholungskurve der medialen und lateralen Patella zwischen 10 und 87 min. Das Erholungsverhalten zwischen medial und lateral unterschied sich zu jedem der Messzeitpunkte statistisch signifikant (T-Test,  $p < 0,05$ ). Hinsichtlich der Steigung der Erholung konnte in diesem Kurvenabschnitt kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (T-Test,  $p > 0,05$ ). .....142

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überblick über die Veränderung der mechanischen Kennwerte von arthrotischem Knorpelgewebe.....	30
Tabelle 2: Prüfschema des quasistatischen zyklischen Indentationsversuchs.....	57
Tabelle 3: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Knorpeldicke der verschiedenen Testlokalisationen für die poröse Indentation, jeweils Mittelwert und SA in mm.....	68
Tabelle 4: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Steifigkeiten der verschiedenen Testlokalisationen in der porösen Indentation, jeweils Mittelwert und SA in N/mm für den 1., 3. und 5. Zyklus.....	69
Tabelle 5: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Kriechverhalten der verschiedenen Testlokalisationen in der porösen Indentation, jeweils Mittelwert und SA in % der Ausgangsdicke für den 1., 3. und 5. Zyklus.....	72
Tabelle 6: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Darstellung der Ergebnisse der medial-zentralen Trochlea: Kriechen und Erholung mit SA in %, Steigungen Kriechen und Erholung mit SA in %/s; statistischer Vergleich Kriechen und Erholung und Steigungen Kriechen und Erholung.....	81
Tabelle 7: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Erholungsverhalten in % des Kriechverhaltens am Ende jedes Zyklus für alle Testlokalisationen mit Mittelwert und SA in % für den 1., 3. und 5. Zyklus und nach 5 min.....	84
Tabelle 8: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Erholungsverhalten der verschiedenen Testlokalisationen in der porösen Indentation, jeweils Mittelwert und SA in % der Ausgangsdicke für den 1., 3. und 5. Zyklus sowie nach 5 min.....	85
Tabelle 9: Quasistatischer zyklischer Kriecherholungsversuch (ovin, n = 7 je Testlokalisierung): Probenübergreifender Vergleich von Steifigkeit, Kriechverhalten und Erholungsverhalten des 3. Zyklus in N/mm und % der Ausgangsdicke.....	88
Tabelle 10: Zelluläre und biochemische Komposition der artikulären Knorpelzonen (nach SALTER 1998 [218]).	121
Tabelle 11: Histologische Klassifizierung von Knorpelgewebe nach MANKIN (ARMSTRONG 1982 [9]).	121
Tabelle 12: Werte der mechanischen Parameter von artikulärem Knorpel im Interspeziesvergleich (nach ATHANASIOU 1991 [14]; FROMSON 1997 [77]; MOW 2005 [192]).	121
Tabelle 13: Übersicht über die Häufigkeiten der Prüfprinzipien bei in vitro Kompressionsversuchen an artikulärem Knorpel.....	122
Tabelle 14: Versuchsprotokolle und die Verteilung der Häufigkeiten statischer und dynamischer Versuche.....	124
Tabelle 15: Übersicht über Versuchsprotokolle mit Kriechindentation.....	126
Tabelle 16: Übersicht über Versuchsprotokolle mit Spannungsrelaxation.....	127
Tabelle 17: Übersicht der Publikationen mit Betrachtungen über das Erholungsverhalten von artikulärem Knorpel und Bandscheiben.....	128
Tabelle 18: Übersicht über die Prüfprotokolle der Publikationen mit Betrachtungen über das Erholungsverhalten von artikulärem Knorpel und Bandscheiben.....	129
Tabelle 19: Überblick über die verwendeten Tiermodelle bei der Testung von Knorpelgewebe in der bisherigen Literatur.....	130
Tabelle 20: Überblick über die verwendeten Probengeometrien in der bisherigen Literatur.....	132
Tabelle 21: Indentorgeometrien, Materialien und Größen in der bisherigen Literatur.....	133
Tabelle 22: Überblick über die Lagerungs-, Auftaumethoden und Versuchsmedium in der bisherigen Literatur.....	135

Tabelle 23: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung der Höhe des Kriechens und der Erholung in % mit SA, der Steigung des Kriechens und der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Steigung Kriechen und Erholung sowie von Höhe des Kriechens und der Erholung. ....	139
Tabelle 24: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Reduzierte Darstellung zu den Messzeitpunkten von ECKSTEIN 1999 (ECKSTEIN 1999 [67]): Knorpeldicke, Höhe des Kriechens nach 3 min (100 Zyklen) und der Erholung in % (als Reduktion der Knorpeloberfläche) mit SA, der Steigung der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Knorpeldicke, Kriechen nach 3 min (100 Zyklen), Steigung von Kriechen und Erholung sowie Höhe des Kriechens und der Erholung (als Reduktion der Knorpeloberfläche) im Vergleich zwischen medialer und lateraler Patella im Zeitintervall von 10 min. ....	140
Tabelle 25: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Darstellung der Knorpeldicke, Höhe des Kriechens nach 3 min (100 Zyklen) und der Erholung in % mit SA, der Steigung der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Knorpeldicke, Kriechen nach 3 min (100 Zyklen), Steigung von Kriechen und Erholung sowie Höhe des Kriechens und der Erholung im Vergleich zwischen medialer und lateraler Patella bis zur 9. min. ....	143
Tabelle 26: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Darstellung der Knorpeldicke, Höhe des Kriechens nach 3 min (100 Zyklen) und der Erholung in % mit SA, der Steigung der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Knorpeldicke, Kriechen nach 3 min (100 Zyklen), Steigung von Kriechen und Erholung sowie Höhe des Kriechens und der Erholung im Vergleich zwischen medialer und lateraler Patella ab der 10. min. ....	145

## Anhang

Tabelle 10: Zelluläre und biochemische Komposition der artikulären Knorpelzonen (nach *SALTER 1998 [218]*).

Knorpelschicht	Chondrozyten	Kollagen	PG-Gehalt
Oberflächliche Zone	Ellipsoid, klein Hohe Zelldichte	+++ Tangentiale Orientierung 20-32 Nanometer (nm)	+
Mittlere Zone	Ovoid oder rund, größer	++ zufällige Orientierung 40-100 nm	++
Tiefe Zone	Säulen	+ senkrechte Orientierung 40-100 nm	+++
Kalzifizierte Zone	Säulen	+ senkrechte Orientierung	++

Tabelle 11: Histologische Klassifizierung von Knorpelgewebe nach *MANKIN (ARMSTRONG 1982 [9])*.

Knorpelstruktur	Normal	0
	Oberflächenunregelmäßigkeiten	1
	Pannus, Oberflächenunregelmäßigkeiten	2
	Risse bis in die transitionale Zone	3
	Risse bis in die Radiärzone	4
	Risse bis zur kalzifizierten Zone	5
Knorpelzellen	Komplette Desorganisation	6
	Normal	0
	Hyperzellularität	1
	Cluster	2
Safranin O – Färbung	Hypozellularität	3
	Normal	0
	Geringe Reduktion	1
	Moderate Reduktion	2
	Starke Reduktion	3
Tidemark-Integrität	Keine Färbung nachweisbar	4
	Intakt	0
	Destruktion	1

Tabelle 12: Werte der mechanischen Parameter von artikulärem Knorpel im Interspeziesvergleich (nach *ATHANASIOU 1991 [14]; FROMSON 1997 [77]; MOW 2005 [192]*).

Mechanische Parameter	Lokalisation	Human	Bovin	Ovin	Kaninchen	Affe
Dicke, mm	Laterale Kondyle	2,31	0,94		0,58	0,57
	Patellares Gleitlager	3,57	1,38		0,52	0,41
Aggregat-Modul, MPa	Laterale Kondyle	0,70	0,89		0,60	0,78
	Femur	0,60				
	Patellares Gleitlager	0,53	0,47		0,55	0,52

	Patella	0,42				
Permeabilität, $\times 10^{15}$ ( $m^4/N s$ )	Laterale Kondyle	1,18	0,43		0,77	4,19
	Femur	1,48				
	Patellares Gleitlager	2,17	1,42		0,93	4,74
	Patella	2,46				
Poisson-Zahl	Laterale Kondyle	0,10	0,40		0,30	0,24
	Patellares Gleitlager	0,00	0,25		0,09	0,20

**Tabelle 13: Übersicht über die Häufigkeiten der Prüfprinzipien bei in vitro Kompressionsversuchen an artikulärem Knorpel.**

Literatur	<i>Unconfined</i>	<i>Confined</i>	Indentation
Armstrong 1982 (ARMSTRONG 1982 [9])	X		
Athanasiou 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])			X
Athanasiou 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])			X
Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11])		X	
Bae 2006 (BAE 2006 [18])			X
Baldassarri 2007 (BALDASSARRI 2007 [20])			X
Barker 1997 (BARKER 1997 [21])			X
Barker 2001 (BARKER 2001 [22])			X
Bian 2009 (BIAN 2009 [29])	X		
Boschetti 2004 (BOSCHETTI 2004 [32])	X	X	
Brommer 2006 (BROMMER 2006 [35])			X
Burgin 2008 (BURGIN 2008 [41])	X		
Bursac 1999 (BURSAĆ 1999 [42])	X	X	
Changoor 2010 (CHANGOOR 2010 [47])	X		

Chen 2001 (CHEN 2001 [49])		X	
Chiravambath 2009 (CHIRAVARAMBATH 2009 [51])			X
Ellingson 2012 (ELLINGSON 2012 [69])			X
Guilak 1994 (GUILAK 1994 [87])	X		
Huang 2003 (HUANG 2003 [100])	X	X	
Julkunen 2007 (JULKUNEN 2007 [106])	X		
Julkunen 2008 (JULKUNEN 2008 [107])	X		
June 2009 (JUNE 2009 [108])	X		
Jurvelin 1997 (JURVELIN 1997 [111])	X	X	
Keenan 2011 (KEENAN 2011 [116])			X
Kempson 1971 (KEMPSON 1971 [122])			X
Kleemann 2005 (KLEEMANN 2005 [128])	X		
Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [132])	X	X	X
Le 2008 (LE 2008 [142])			X
Lee 2000 (LEE 2000 [145])			X
Legare 2002 (LÉGARÉ 2002 [147])	X		
Li 2000 (LI 2000 [152])	X		
Lu 2008 (LU 2008 [159])	X		X
Lu 2004 (LU 2004 [160])			X
Maier 2007 (MAIER 2007 [166])			X
Mow 1989 (MOW 1989 [189])			X

Obeid 1994 (OBEID 1994 [202])			X
Park 2004 (PARK 2004 [208])	X		
Roberts 1986 (ROBERTS 1986 [215])			X
Sandmann 2009 (SANDMANN 2009 [220])			X
Setton 1993 (SETTON 1993 [229])		X	
Shepherd 1997 (SHEPHERD 1997 [233])			X
Singh 2009 (SINGH 2009 [236])	X		
Steinmeyer 1999 (STEINMEYER 1999 [243])	X		
Swann 1993 (SWANN 1993 [250])			X
Töyräs 1999 (TÖYRÄS 1999 [257])			X

*Tabelle 14: Versuchsprotokolle und die Verteilung der Häufigkeiten statischer und dynamischer Versuche.*

Literatur	Kriechen	Spannungsrelaxation	Quasi-statisch	Rampenprofil	Zyklisch	Impact
Armstrong 1982 (ARMSTRONG 1982 [9])	X					
Athanasiou 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])	X		X			
Athanasiou 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])	X		X			
Ateshian et al. 1997 (ATESHIAN 1997 [11])	X	X	X	X	X	
Bae 2005 (BAE 2006 [18])			X			
Barker 2001 (BARKER 2001 [22])	x		X		X	
Bian 2009 (BIAN 2009 [29])			X	X	X	
Boschetti 2004 (BOSCHETTI 2004 [32])	X					
Brommer 2006		X		X	X	

(BROMMER 2006 [35])						
Burgin 2008 (BURGIN 2008 [41])						X
Bursac 1999 (BURSAĆ 1999 [42])		X		X		
Changoor 2010 (CHANGOOR 2010 [47])		X	X	X		
Chen 2001 (CHEN 2001 [49])		X		X		
Chiravarambath 2009 (CHIRAVARAMBATH 2009 [51])		X	X			
Ellingson 2012 (ELLINGSON 2012 [69])		X		X		
Guilak 1994 (GUILAK 1994 [87])	X		X	X		
Huang 2003 (HUANG 2003 [100])	X	X	X	X	X	
June 2008 (JUNE 2009 [108])		X	X		X	
Julkunen 2007 (JULKUNEN 2007 [106])		X	X	X		
Julkunen 2008 (JULKUNEN 2008 [107])		X	X	X		
Jurvelin 1997 (JURVELIN 1997 [111])		X	X	X		
Kääb 1998 (KÄÄB 1998 [114])	X				X	
Keenan 2011 (KEENAN 2011 [116])	X					
Kempson 1971 (KEMPSON 1971 [122])	X		X			
Kleemann 2005 (KLEEMANN 2005 [128])	X		X	X		
Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [132])		X		X		
Le 2008 (LE 2008 [142])	X		X			
Lee 2000 (LEE 2000 [145])		X	X	X		
Legare 2002 (LÉGARÉ 2002 [147])		X	X	X		

Li 2000 (LI 2000 [152])		X	X	X		
Lu 2004 (LU 2004 [160])	X		X			
Lu 2008 (LU 2008 [162])		X	X		X	
Maier 2007 (MAIER 2007 [166])		X	X		X	
Mow 1989 (MOW 1989 [189])	X					
Obeid 1994 (OBEID 1994 [202])	X		X			X
Park 2004 (PARK 2004 [208])	X				X	
Roberts 1986 (ROBERTS 1986 [215])	X					X
Sandmann 2009 (SANDMANN 2009 [220])		X	X		X	
Setton 1993 (SETTON 1993 [229])	X					
Shepherd 1997 (SHEPHERD 1997 [233])	X					
Singh 2009 (SINGH 2009 [236])		X			X	
Steinmeyer 1999 (STEINMEYER 1999 [243])	X		X		X	
Swann 1993 (SWANN 1993 [250])	X					
Töyräs 1999 (TÖYRÄS 1999 [257])		X	X	X		

**Tabelle 15: Übersicht über Versuchsprotokolle mit Kriechindentation.**

Literatur	Tarierlast	Equilibrium	Testlast	Equilibrium	Rampe
Armstrong 1982 (ARMSTRONG 1982 [9])	-	-	0,1 MPa in 0,2 s	-	-
Athanasiou 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])	0,0343-0,0490 N	15 min	0,1961 N	über 20 min-10,800 s	
Athanasiou 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])	0,0687 N	Keine Wegänderung ( $< 10^{-6}$ mm/s)	0,438 N	Keine Wegänderung ( $< 10^{-6}$ mm/s)	
Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11])	Präkonditionierung 14,7 N	Tarierlast 0,26 N für 900 s			

Barker 2001 (BARKER 2001 [22])			1,4 MPa in 20 ms	320 s	4160
Boschetti 2004 (BOSCHETTI 2004 [32])			15 kPa	1800 s	
Guilak 1994 (GUILAK 1994 [87])			0,001 → 0,01 → 0,028 → 0,057 → 0,1 → 0,5 → 1,0 MPa	Bis zu 3600 s bei höheren Lasten	X
Jones 1999 (JONES 1999 [104])	0,01 kPa	60 s	0,05-1 kPa in 8-10 Schritten		X
Kääb 1998 (KÄÄB 1998 [114])			1x Körpergewicht/3x Körpergewicht	30 min	
Keenan 2011 (KEENAN 2011 [116])	0,015 N	Keine Wegände- rung (< 0,01 µm/s 0,16-1,07 s)	0,35 N in 12 s		
Kleemann 2005 (KLEEMANN 2005 [128])	0,003 N	10 min	Schrittweise 0,019 N bis 25 % Dehnung	Keine Wegänderung (0,1 µm/s)	X
Le 2008 (LE 2008 [142])	3,5 g mit v = 10 g/s	15 min	10 g mit v = 10 g/s	2,5 h	
Lu 2004 (LU 2004 [160])	5 g	30 min	20 g	3 h	
Mow 1989 (MOW 1989 [189])	0,0343 N	14 min	0,1961 N	Equilibrium nicht definiert ~10000 s	
Obeid 1994 (OBEID 1994 [202])	5-10 N	Rampen 7 MPa mit v = 0,5- 1,0 mm/s	2 MPa in 1 s	300 s	
Setton 1993 (SETTON 1993 [229])	10 gram force	2000 s	50-200 gram force schrittweise (0,01- 0,07 MPa)	~10000 s	

Tabelle 16: Übersicht über Versuchsprotokolle mit Spannungsrelaxation.

Literatur	Tarierlast/ Tarierdehnung	Equilibrium	Testdehnungen	Equilibrium/Zeit	Rampen
Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11])	Präkonditionierung 14,7 N;	Tarierlast 0,26 N für 900 s	5 Rampen mit v = 0,25 µm/s a 10 % für 1400 s gehalten bis 50 % Dehnung -1390 s		5
Brommer 2006 (BROMMER 2006 [35])			2 x 7,5 µm → 15 µm	1200 s	
Bursac 1999 (BURSAĆ 1999 [42])	3 % mit v = 0,115 µm/s	< 3 kPa in 16 min	4 Rampen a 3 % → 69 % → 12 % → 15 %	< 3 kPa in 16 min	4
Changoor 2010 (CHANGOOR 2010 [47])			2 % mit v = 0,4 %/s		
Chen 2001 (CHEN 2001 [49])			~0, 8, 16, 24 und 32 % Dehnungen mit 0,015 %/s	60 min oder < 0,001 MPa in 5 min	

Chiravarambath 2009 (CHIRAVARAMBATH 2009 [51])	2 $\mu\text{m}$	300 s	4 $\mu\text{m}$ mit $v = 1 \text{ m/s}$	300 s	
Huang 2003 (HUANG 2003 [100])	0,89 N ( $d = 4,76 \text{ mm}$ )	1 $\mu\text{m}/300 \text{ s}$	5 % Dehnung mit $v = 1,25 \times 10^{-4} / \text{s}$	< 0,02 N ~5000 s	
Julkunen 2007 (JULKUNEN 2007 [106])			2 x 5 % $v = 1 \mu\text{m/s}$	Volle Relaxation	2
Julkunen 2008 (JULKUNEN 2008 [107])	5 %	39 Pa/min	2 x 5 % $v = 1 \mu\text{m/s}$	39 Pa/min	2
June 2008 (JUNE 2009 [108])	60 kPa mit $v = 50 \text{ mm/s}$	4 min	5 % mit $v = 10 \text{ mm/s}$	300 s	
Jurvelin 1997 (JURVELIN 1997 [111])			10 $\mu\text{m}$ Schritte mit $v = 1 \mu\text{m/s}$ bis 20 %	< 9,8 mN/min	
Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [134])	12,5 kPa	< 100 Pa/min	5 % $\rightarrow$ 10 % $\rightarrow$ 15 % $\rightarrow$ 20 % $v = 1 \text{ mm/s}$	< 100 Pa/min	
Le 2008 (LE 2008 [142])			5 % $v = 0,005 \text{ %/s}$	2400 s	
Legare 2002 (LÉGARÉ 2002 [147])			5 x 20 $\mu\text{m}$ ( $\rightarrow$ 40 $\rightarrow$ 60 $\rightarrow$ 80 $\rightarrow$ 100 $\mu\text{m}$ )	Je 300 s	
Li 2000 (LI 2000 [152])			5 $\mu\text{m}$ Schritte in 5 s	Equilibrium	10
Maier 2007 (MAIER 2007 [166])	0,01 N		7 N mit $v = 5 \text{ mm/min}$ Position für 60 s gehalten; Entlastung auf 0,15 N mit $v = 1 \text{ mm/min}$ für 60 s	60 s	
Sandmann 2009 (SANDMANN 2009 [220])	0,1 N		7 N mit $v = 5 \text{ mm/min}$ Position für 60s gehalten; Entlastung auf 0,15 N mit $v = 1 \text{ mm/min}$ für 60 s	60 s	5
Töyräs 1999 (TÖYRÄS 1999 [257])	0,0125 MPa		40 $\mu\text{m}$ mit $v = 1 \mu\text{m/s}$ bis 20 %	450 s	10

**Tabelle 17: Übersicht der Publikationen mit Betrachtungen über das Erholungsverhalten von artikulärem Knorpel und Bandscheiben.**

Literatur	Statisch	Dynamisch	Rampenprofil
Athanasiou 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])	X Vollständige Entlastung	-	-
Athanasiou 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])	X Vollständige Entlastung	-	-
Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11])	- 0,26 N	-	X Dehnungs-Rampen
Kempson 1971 (KEMPSON 1971 [122])	X Nicht definiert		

Mow 1989 (Mow 1989 [189])	X Nicht definiert	-	-
Setton 1993 (SETTON 1993 [229])	X Vollständige Entlastung		
Steinmeyer 1999 (STEINMEYER 1999 [243])	X Vollständige Entlastung		
Eckstein 1999 (MRT) (ECKSTEIN 1999 [67])	-	X	-
	X	-	-
Eckstein 2000 (MRT) (ECKSTEIN 2000 [65])	X	X	-
Kääb 1998 (MRT) (KÄÄB 1998 [114])	X	X	
Van der Veen 2007 (Bandscheibe) (VAN DER VEEN 2007 [259])	X (20 N)		
O'Connell 2011 (Bandscheibe) (O'CONNELL 2011 [200])	X (20 N)		X quasistatisch, vollständige Entlastung

*Tabelle 18: Übersicht über die Prüfprotokolle der Publikationen mit Betrachtungen über das Erholungsverhalten von artikulärem Knorpel und Bandscheiben.*

Literatur	Präkonditionierung		Testdurchführung		Erholung		Zyklen
	Tarierlast	Equilibrium	Testlast	Equilibrium	Erholung	Equilibrium/Zeit	
Athanasίου 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])	0,0343-0,0490 N	15 min	0,1961 N	Keine Wegänderung über 20 min-10,800 s	Entlastung		
Athanasίου 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])	0,0687 N	10-6 mm/s	0,438 N	10-6 mm/s	Entlastung		
Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11])	Präkonditionierung 14,7 N;	Tarierlast 0,26 N für 900 s	5 Rampen mit $v = 0,25 \mu\text{m/s}$ a 10 % für 1400 s bis 50 % Dehnung-1390 s		Tarierlast 0,26 N	0,01 $\mu\text{m/s}$ -1620 s	
Barker 2001 (BARKER 2001 [22])			1,4 MPa in 20 ms	330 ms	Entlastung	670 ms	4160
Mow 1989 (Mow 1989 [189])	0,0343 N	14 min	0,1961 N	Equilibrium nicht definiert -10000 s	Nicht definiert	Nicht definiert	
Setton 1993 (SETTON 1993 [229])	10 gram force	2000 s	50-200 gram force schrittweise (0,01-0,07 MPa)	~10000 s	Entlastung	~10000 s	
Eckstein 1999 (ECKSTEIN 1999 [67])	unbekannt	1 h Ruhe MRT	50 Kniebeugen bis 90°	90 s	MRT 3-7 min nach Belastung	MRT nach 8-12 min	X 5
	unbekannt	1 h Ruhe	100 Kniebeugen bis	3 min	MRT 3-7 min nach	alle 10 min bis 83-87	

			90°		Belastung	min	
Eckstein 2000 (ECKSTEIN 2000 [65])		1 h Ruhe MRT	30 Kniebeu- gen bis 120°	60 s (0,5Hz)	MRT 90 s nach Belastung		
		1 h Ruhe MRT	Hockstellung bei 90°	20 s	MRT 90 s nach Belastung		
Kääb 1998 (KÄÄB 1998 [114])	-	-	1x/3x Kör- pergewicht bei 90° Knieflexion	30 min	Vollstän- dige Ent- lastung	2,4,16 oder 30 min	
			Flexion von 70-150° mit 1 Hz mit 1x/3x Kör- pergewicht	30 min	Vollstän- dige Ent- lastung	2,4,16 oder 30 min in 90°	
Van der Veen 2007 (VAN DER VEEN 2007 [259])	20 N (0,5 MPa)	15 min	2,0 MPa	15 min	20 N	30 min	X 3
	20 N (0,5 MPa)	15 min	2,0 MPa	15 min	20 N	10 h	
O'Connell 2011 (O'CONNELL 2011 [200])		2000 N mit 1 N/s	Entspricht 33 min	Entlastung		0,1,4,8, 12,16, 24 h	X 7
	20 N	1000 N in 1,5 s	4 h	20 N		24 h	Kriech- test 4 h

*Tabelle 19: Überblick über die verwendeten Tiermodelle bei der Testung von Knorpelgewebe in der bisherigen Literatur.*

Literatur	Spezies	Körperteil/Lokalisation
Athanasίου 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])	Affe	Knie: distales Femur
Kääb 1998 (KÄÄB 1998 [114])	Hase	Knie
Athanasίου 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])		Knie: distales Femur
Brommer 2006 (BROMMER 2006 [35])	Hund	Metacarpophalangealgelenk
Armstrong 1982 (ARMSTRONG 1982 [9])	Mensch	Knie: Patella
Athanasίου 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])		Knie: distales Femur
Athanasίου 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])		Hüfte: Femurkopf und Acetabulum
Bae 2006 (BAE 2006 [18])		Knie: distales Femur

<p>Barker 2001 (BARKER 2001 [22]) Chiravarambath 2009 (CHIRAVARAMBATH 2009 [51]) Guilak 1994 (GUILAK 1994 [87]) Li 2010 (LI 2010 [148]) Obeid 1994 (OBEID 1994 [202]) Sandmann 2009 (SANDMANN 2009 [220]) Shepherd 1997 (SHEPHERD 1997 [233]) Swann 1993 (SWANN 1993 [250])</p>		<p>Knie: Tibia, Femur, Patella  Knie: Tibia  Karpometacarpalgelenk  Knie: distales Femur  Knie: Tibia  Knie: Meniskus  Knie: Tibia und Femur  Knie: Tibia und Femur</p>
<p>Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11]) Athanasίου 1991 (ATHANASIOU 1991 [14]) Chen 2001 (CHEN 2001 [49]) Park et Ateshian 2008 (PARK 2008 [209]) Jurvelin 1997 (JURVELIN 1997 [111]) Kiviranta 2006 (KIVIRANTA 2006 [126]) Lu 2004 (LU 2004 [160]) Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [134]) Miller 2010 (MILLER 2010 [183]) Mow 1989 (MOW 1989 [189]) Setton 1993 (SETTON 1993 [229]) Suh 2001 (SUH 2001 [248])</p>	Rind	<p>Schulter: Glenoid  Knie: distales Femur  Hüfte: Femurkopf  Knie: distales Femur  Schulter: Humerus  Knie: Patella, Femur, Tibia  Schulter: Humerus  Knie: Femur  Knie: Patella, Femur; Schulter: Humerus  Knie: distales Femur  Knie: distales Femur  Knie: Femur</p>
<p>Boschetti 2004 (BOSCHETTI 2004 [32]) Bian 2009 (BIAN 2009 [29]) Huang 2003 (HUANG 2003 [100]) Park 2006 (PARK 2006 [207])</p>	Kalb	<p>Hüfte: Femurkopf  Knie: Femurkondyle  Schulter  Schulter</p>

Burger 2007 (BURGER 2007 [40]) Little 2010 (LITTLE 2010 [156]) Oakley 2004 (OAKLEY 2004 [201]) Peretti 2001 (PERETTI 2001 [210]) Kunow 2008 (KUNOW 2008 [137]) Sandmann 2013 (SANDMANN 2013 [219])	Schaf	
Gupta 2009 (GUPTA 2009 [88])	Schwein	Rippe
Le 2008 (LE 2008 [142]) Van der Veen 2007 (VAN DER VEEN 2007 [259])	Ziege	Knie: Tibia  Wirbelsäule: Bandscheibe

*Tabelle 20: Überblick über die verwendeten Probengeometrien in der bisherigen Literatur.*

Literatur	Probengeometrie	Körperteil/Durchmesser
Herberhold 1999 (HERBERHOLD 1999 [96]) Käab 1998 (KÄÄB 1998 [114])	Intaktes Kniegelenk	
Mow 1989 (MOW 1989 [189]) Athanasίου 1991, 1994 (ATHANASIOU 1991 [14]), (ATHANASIOU 1994 [12]) Chiravarambath 2009 (CHIRAVARAMBATH 2009 [51]) Le 2008 (LE 2008 [142]) Shepherd 1997 (SHEPHERD 1997 [233]) Swann 1993 (SWANN 1993 [250])	In situ	Femur  Femur  Tibiaplateau  Tibiaplateau  Femur und Tibia  Femur und Tibia
Barker 2001 (BARKER 2001 [22]) Armstrong 1982 (ARMSTRONG 1982 [9]) Bae 2006 Bae 2006(BAE 2006 [18]) Burgin 2008 (BURGIN 2008 [41]) Kiviranta 2006	KKZ	12 mm  6,35 mm  Nicht definiert  10 mm  9 mm

(KIVIRANTA 2006 [126]) Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [134]) Legare 2002 (LÉGARÉ 2002 [147]) Obeid 1994 (OBEID 1994 [202]) Setton 1993 (SETTON 1993 [229]) Suh 2001 (SUH 2001 [248])		13 mm  13 mm  3 mm  8 mm  6,35 mm
Ackermann 2005 (ACKERMANN 2005 [1]) Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11]) Bian et al 2009 (BIAN 2009 [29]) Boschetti 2004 (BOSCHETTI 2004 [32]) Brommer 2006 (BROMMER 2006 [35]) Burgin 2008 (BURGIN 2008 [41]) Changoor 2010 (CHANGOOR 2010 [47]) Guilak 1994 (GUILAK 1994 [87]) Huang 2003 (HUANG 2003 [100]) Jurvelin 1997 (JURVELIN 1997 [111]) Kiviranta 2006 (KIVIRANTA 2006 [126]) Park 2006 (PARK 2006 [207]) Park 2004 (PARK 2004 [208]) Peretti 2001 (PERETTI 2001 [210])	Knorpelzylinder	7 mm  6,35 mm  6 mm  5 mm  8 mm  5 mm, 9 mm  3 mm  5 mm  4,78 mm  3,7 mm  4 mm  4 mm  3 mm  6 mm
Lu 2004 (LU 2004 [160]) Baldassarri 2007 (BALDASSARRI 2007 [20])	Blöcke	2 cm x 2 cm  12 mm x 18 mm

*Tabelle 21: Indentorgeometrien, Materialien und Größen in der bisherigen Literatur.*

Literatur	Kugel	Zylinder	hemisphärisch	solid	porös	Durchmesser/Knorpeldicke
-----------	-------	----------	---------------	-------	-------	--------------------------

Athanasίου 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])					X	1,5 mm und 1,0 mm
Athanasίου 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])					X	1 mm/15 mm
Bae 2006 (BAE 2006 [18])		X		X		1 mm/10 mm
Baldassarri 2007 (BALDASSARRI 2007 [20])			X			1,5 mm
Barker 2001 (BARKER 2001 [22]; BOSCHETTI 2004 [32])		X		X		3 mm/12 mm
Boschetti 2004 (BOSCHETTI 2004 [32])			X	X		3 mm/12 mm
Brommer 2006 (BROMMER 2006 [35])		X			X	1,041 mm/8 mm
Chiravambath 2009 (CHIRAVAMBATH 2009 [51])		X		X		15 µm Diamant 170 µm Stahl
Keenan 2011 (KEENAN 2011 [116])		X			X (50 % Porosität)	1 mm mit fillet (127 µm)
Kempson 1971 (KEMPSON 1971 [122])		X	X			
Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [134])		X			X Porengröße 5 µm (50 % Porosität)	1 mm und 3 mm
Lee 2000 (LEE 2000 [145])		X		X		1 mm/0,5-1,4 mm
Lu 2004 (LU 2004 [160])		X			X	2,1 mm/2 cm
Le 2008 (LE 2008 [142])					X Porengröße 20 µm (40 % Porosität)	1,5 mm
Maier 2007 (MAIER 2007 [166])	X			X		6 mm
Mow 1989 (MOW 1989 [189])		X		X	X	1,5 mm
Obeid et al. 1994 (OBEID 1994 [202])		X		X		5 mm
Sandmann 2009 (SANDMANN 2009 [220])	X			X		5 mm/10 mm
Shepherd 1997 (SHEPHERD 1997 [233])		X			X	

Töyräs 1999 (TÖYRÄS 1999 [257])		X			X	1,04 mm
------------------------------------	--	---	--	--	---	---------

*Tabelle 22: Überblick über die Lagerungs-, Auftaumethoden und Versuchsmedium in der bisherigen Literatur.*

Literatur	Modalität	Temperatur	Medium	Dauer	Auftauen
Treppo 2000 (TREPPPO 2000 [258])	Frisch			24 h	
Kääb 1998 (KÄÄB 1998 [114])					
Krishnan 2005 (KRISHNAN 2005 [136])		4 °C	Intakte Kapsel	4 d	
Armstrong 1982 (ARMSTRONG 1982 [9])	Einfrieren	-20 °C			
Ateshian 1997 (ATESHIAN 1997 [11])					
Athanasiou 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])			PBS + PI		1 h bei Raumtemperatur in PBS
Baldassarri 2007 (BALDASSARRI 2007 [20])					
Barker 2001 (BARKER 2001 [22])					
Brommer 2006 (BROMMER 2006 [35])			PBS		14-22 h Bei 7 °C
Burgin 2008 (BURGIN 2008 [41])			PBS		Raumtemperatur
Bursac 1999 (BURSAĆ 1999 [42])			PBS + PI	1-7 d	1 h bei Raumtemperatur
Chiravarambath 2009 (CHIRAVARAMBATH 2009 [51])					
Herberhold 1999 (HERBERHOLD 1999 [96])					
Huang 2003 (HUANG 2003 [100])			PBS		
Kiviranta 2006 (KIVIRANTA 2006 [126])					
Korhonen 2002 (KORHONEN 2002 [134])					
Le 2008 (LE 2008 [142])			PBS + PI		Raumtemperatur

Li 2010 (LI 2010 [148])			Ringer		
Miller 2010 (MILLER 2010 [183])			PBS + PI		1,5 h
Obeid 1994 (OBEID 1994 [202])			PBS		5 min bei Raumtemperatur
Park 2004, 2008 (PARK 2004 [208]; PARK 2008 [209])			PBS		1 h bei Raumtemperatur
Schinagl 1997 (SCHINAGL 1997 [225])			PBS + PI	1-7 d	
Bae 2006 (BAE 2006 [18])		-70 °C			
Athanasiou 1991 (ATHANASIOU 1991 [14])		-80 °C	0,15M NaCl	2x	1 h bei Raumtemperatur
Athanasiou 1994 (ATHANASIOU 1994 [12])			PBS + PI	2x	1 h bei Raumtemperatur
Lu 2004 (LU 2004 [160])			2M PBS + PI		2 h bei Raumtemperatur
Mow 1989 (MOW 1989 [189])			0,15M NaCl		1 h bei Raumtemperatur
Setton 1993 (SETTON 1993 [229])					
Swann 1993 (SWANN 1993 [250])		-17 °C		28 d	Raumtemperatur

Vergleich von Kriechen und Erholung und der Steigung von Kriechen und Erholung  
0-600 s

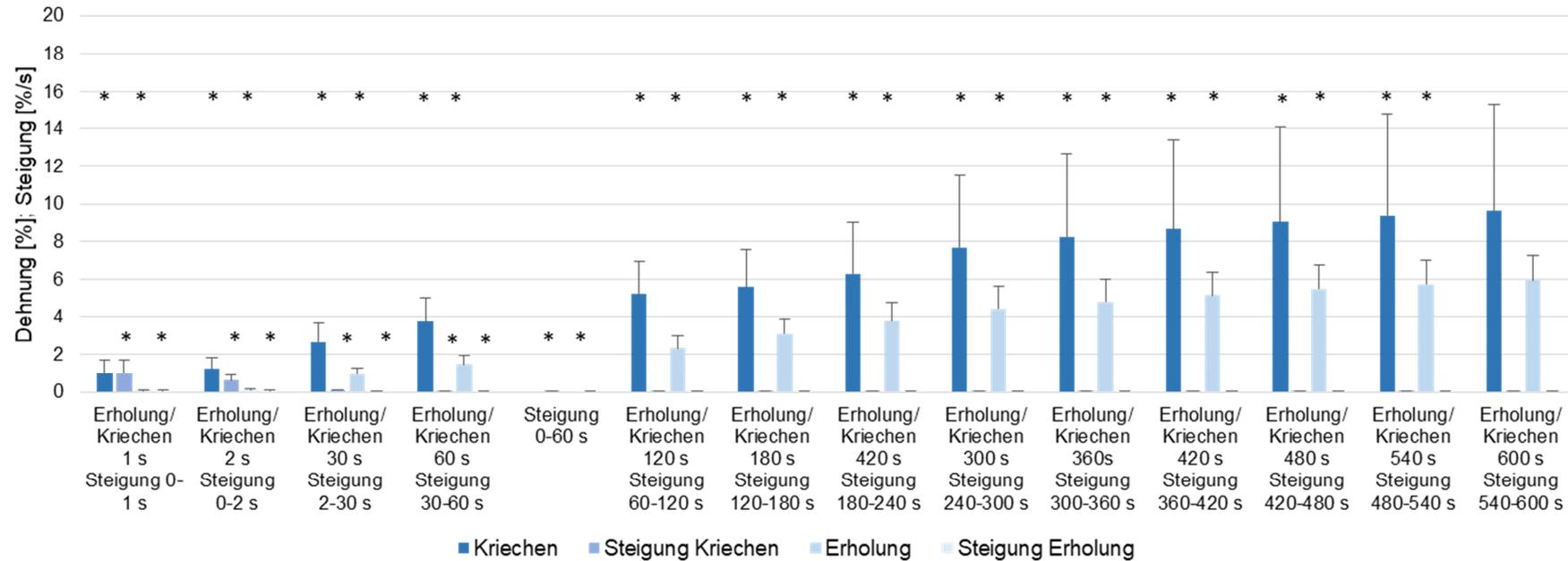


Abbildung 89: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung des Vergleichs von Kriechen und Erholung sowie der Steigung der Kriech- und Erholungskurve zwischen 0 und 600 s. Bis 540 s unterschieden sich das Kriech- und Erholungsverhalten statistisch signifikant (\* signifikanter Unterschied (T-Test,  $p < 0,05$ )). Die Steigungen von Kriechen und Erholung unterschieden sich in jedem Messintervall bis 60 s statistisch signifikant (\* signifikanter Unterschied (T-Test,  $p < 0,01$ )).

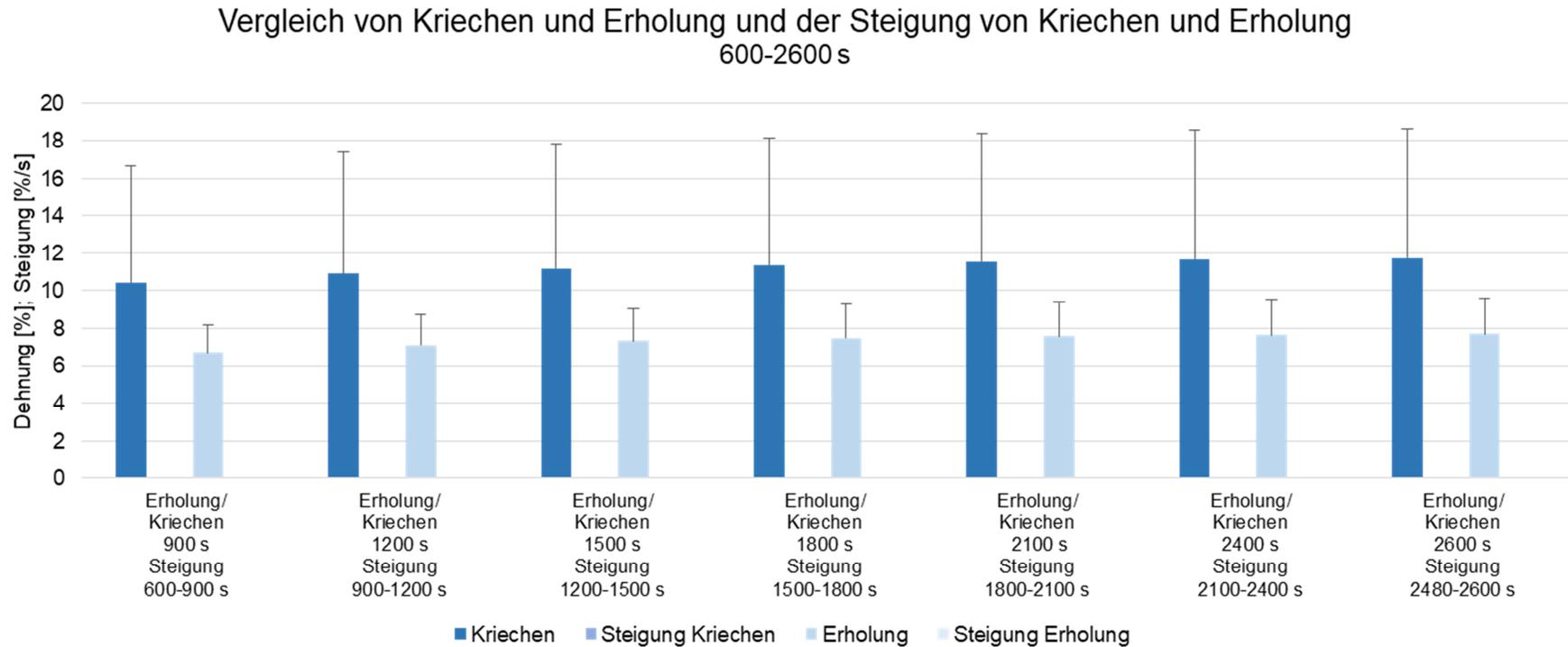


Abbildung 90: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin,  $n = 10$ ): Darstellung des Vergleichs von Kriechen und Erholung sowie der Steigung der Kriech- und Erholungskurve zwischen 600 s und 2600 s. Das Kriech- und Erholungsverhalten unterschieden sich nicht mehr statistisch signifikant (T-Test,  $p > 0,05$ ). Ebenso lag in den Steigungen von Kriechen und Erholung kein statistisch signifikanter Unterschied mehr vor (T-Test,  $p > 0,05$ ).

Tabelle 23: Statischer Kriecherholungsversuch (bovin, n = 10): Darstellung der Höhe des Kriechens und der Erholung in % mit SA, der Steigung des Kriechens und der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Steigung Kriechen und Erholung sowie von Höhe des Kriechens und der Erholung.

Zeit,	1 s	2 s	30 s	60 s		120 s	180 s	240 s	300 s	360 s	420 s	480 s	540 s	600 s	900 s	1200 s	1500 s	1800 s	2100 s	2400 s	2600 s
Zeitabschnitt Steigung	0-1 s	0-2 s	2-30 s	30-60 s	0-60 s	60-120 s	120-180 s	180-240 s	240-300 s	300-360 s	360-420 s	420-480 s	480-540 s	540-600 s	600-900 s	900-1200 s	1200-1500 s	1500-1800 s	1800-2100 s	2100-2400 s	2480-2600 s
Kriechen, SA	1,01 0,66	1,22 0,60	2,65 1,00	3,74 1,29		5,22 1,75	5,59 1,97	6,29 2,68	7,68 3,83	8,25 4,45	8,65 4,76	9,01 5,06	9,34 5,40	9,62 5,68	10,43 6,24	10,89 6,53	11,17 6,66	11,38 6,76	11,54 6,83	11,67 6,88	11,74 6,91
Erholung, SA	0,06 0,04	0,09 0,05	0,93 0,35	1,45 0,46		2,32 0,69	3,09 0,83	3,81 0,96	4,44 1,18	4,81 1,19	5,15 1,22	5,47 1,29	5,73 1,31	5,96 1,34	6,72 1,48	7,13 1,61	7,35 1,71	7,49 1,79	7,59 1,85	7,65 1,89	7,69 1,91
p-Wert Kriechen und Erholung	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,01	0,01	0,01	0,02	0,03	0,03	0,04	0,05	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07
Steigung Kriechen, SA	1,01 0,66	0,61 0,30	0,07 0,03	0,03 0,01	0,05 0,02	0,02 0,01	0,02 0,02	0,01 0,01	0,01 0,01	0,01 0,01	0,01 0,00	0,01 0,00	0,01 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00
Steigung Erholung, SA	0,06 0,04	0,05 0,03	0,03 0,01	0,02 0,00	0,02 0,01	0,01 0,00	0,01 0,00	0,01 0,01	0,01 0,01	0,01 0,00	0,01 0,00	0,01 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00
p-Wert Steigung Kriechen und Erholung	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,43	0,95	0,87	0,39	0,62	0,82	0,59	0,56	0,90	0,79	0,49	0,20	0,11	0,07	0,04

Tabelle 24: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Reduzierte Darstellung zu den Messzeitpunkten von ECKSTEIN 1999 (ECKSTEIN 1999 [67]): Knorpeldicke, Höhe des Kriechens nach 3 min (100 Zyklen) und der Erholung in % (als Reduktion der Knorpeloberfläche) mit SA, der Steigung der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Knorpeldicke, Kriechen nach 3 min (100 Zyklen), Steigung von Kriechen und Erholung sowie Höhe des Kriechens und der Erholung (als Reduktion der Knorpeloberfläche) im Vergleich zwischen medialer und lateraler Patella im Zeitintervall von 10 min.

		Knorpel- dicke, mm	Kriechen nach 100 Zyklen (3min), %	Erholung	Erholung	Erholung	Erholung	Erholung	Erholung	Erholung	Erholung	Erholung
				3 min, %	13 min, %	23 min, %	33 min, %	43 min, %	53 min, %	63 min, %	73 min, %	87 min, %
				Steigung, %/s (0-3 min)	Steigung, %/s (3-13 min)	Steigung, %/s (13-23 min)	Steigung, %/s (23-33 min)	Steigung, %/s (33-43 min)	Steigung, %/s (43-53 min)	Steigung, %/s (53-63 min)	Steigung, %/s (63-73 min)	Steigung, %/s (73-87 min)
Mediale Patella	Erholung SA	1,50 0,21	9,17 2,15	4,52 2,15	2,24 2,09	2,17 2,14	2,15 2,14	2,15 2,14	2,15 2,13	2,16 2,15	2,16 2,15	2,18 2,13
Laterale Patella	Erholung SA	2,15 0,42	11,78 1,70	4,15 2,29	2,35 2,08	2,08 2,43	1,99 2,28	1,92 2,35	1,85 2,35	1,79 2,37	1,76 2,38	1,66 2,38
	p-Wert Erho- lung medial vs. lateral	0,00	0,03	0,90	0,90	0,93	0,87	0,82	0,77	0,72	0,70	0,61
Mediale Patella	Steigung der Erholung SA			0,02 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00	0,00 0,00
Laterale Patella	Steigung der Erholung SA			0,31 0,71	0,04 0,09	0,00 0,00	0,02 0,05	0,02 0,05	0,02 0,06	0,02 0,06	0,02 0,06	0,02 0,05
	p-Wert Stei- gung Erho- lung medial vs. lateral			0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,34	0,34	0,34	0,33

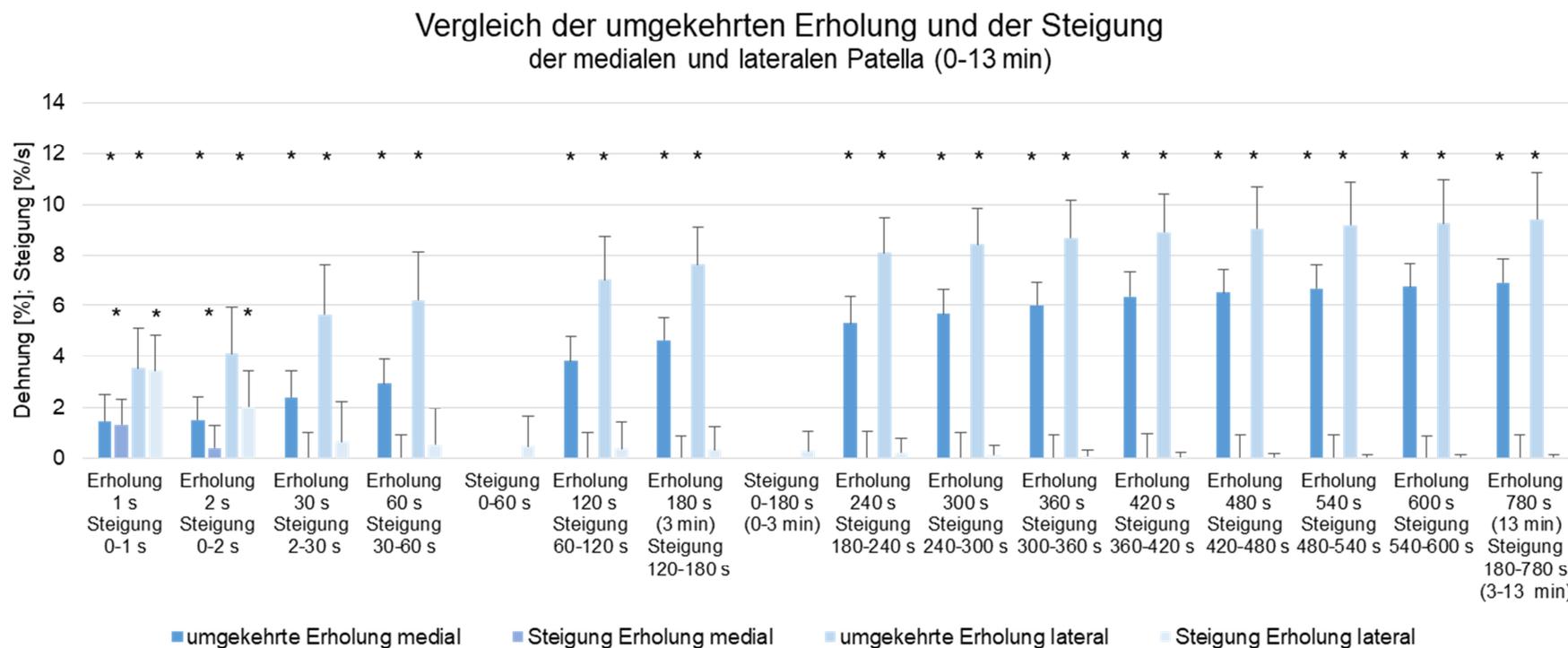


Abbildung 91: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial  $n = 7$ , lateral  $n = 7$ ): Darstellung des Vergleichs der umgekehrten Erholung sowie der Steigung der Erholungskurve der medialen und lateralen Patella zwischen 0 und 13 min. Das Erholungsverhalten zwischen medial und lateral unterschied sich zu jedem der Messzeitpunkte statistisch signifikant (\* signifikanter Unterschied (T-Test,  $p < 0,05$ )). Hinsichtlich der Steigung der Erholung konnte zwischen 0-1 s und 0-2 s ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (\* signifikanter Unterschied (T-Test,  $p < 0,05$ )).

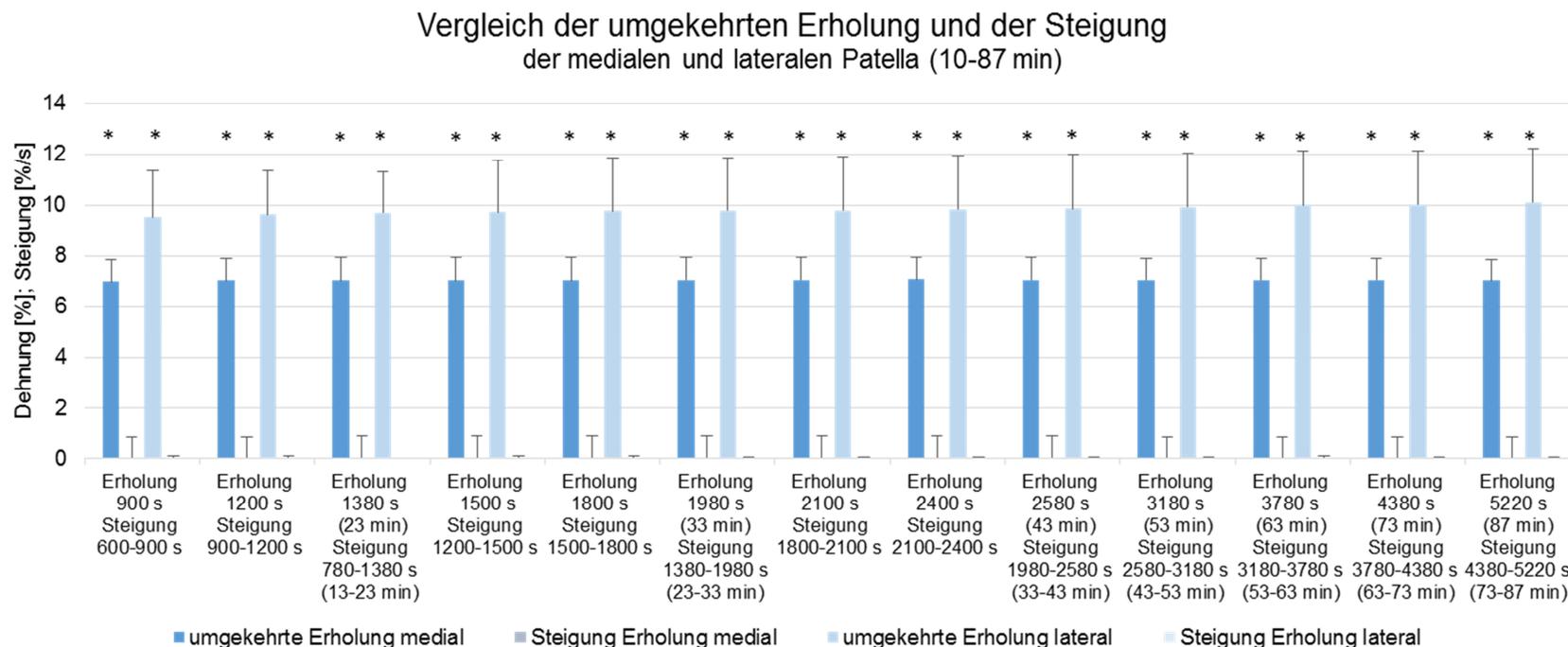


Abbildung 92: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial  $n = 7$ , lateral  $n = 7$ ): Darstellung des Vergleichs der umgekehrten Erholung sowie der Steigung der Erholungskurve der medialen und lateralen Patella zwischen 10 und 87 min. Das Erholungsverhalten zwischen medial und lateral unterschied sich zu jedem der Messzeitpunkte statistisch signifikant (T-Test,  $p < 0,05$ ). Hinsichtlich der Steigung der Erholung konnte in diesem Kurvenabschnitt kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden (T-Test,  $p > 0,05$ ).

Tabelle 25: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Darstellung der Knorpeldicke, Höhe des Kriechens nach 3 min (100 Zyklen) und der Erholung in % mit SA, der Steigung der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Knorpeldicke, Kriechen nach 3 min (100 Zyklen), Steigung von Kriechen und Erholung sowie Höhe des Kriechens und der Erholung im Vergleich zwischen medialer und lateraler Patella bis zur 9. min.

	Knorpeldicke, mm	Eindringtiefe 3 min, %		Erholung 1 s	Erholung 2 s	Erholung 30 s	Erholung 60 s		Erholung 120 s	Erholung 180 s (3 min)		Erholung 240 s	Erholung 300 s	Erholung 360s	Erholung 420 s	Erholung 480 s	Erholung 540 s	
				Steigung 0-1 s	Steigung 0-2 s	Steigung 2-30 s	Steigung 30-60 s	Steigung 0-60 s	Steigung 60-120 s	Steigung 120- 180 s	Steigung 0-180 s (0-3 min)	Steigung 180- 240 s	Steigung 240- 300 s	Steigung 300- 360 s	Steigung 360- 420 s	Steigung 420- 480 s	Steigung 480- 540 s	
Mediale Patella	1,50 SA 0,21	9,17 SA 2,15	Erholung, %	7,70	7,67	6,76	6,23		5,38	4,52		3,86	3,51	3,17	2,80	2,64	2,48	
			SA	2,57	2,47	2,41	2,43		2,48	2,15		1,79	1,82	1,79	1,90	1,96	2,03	
			umgedrehte Erholung, %	1,47	1,50	2,41	2,95		3,79	4,65		5,31	5,66	6,00	6,38	6,53	6,69	
			SA	1,03	0,91	1,00	0,92		0,99	0,87		1,06	1,02	0,93	0,97	0,91	0,91	
			Steigung Erholung, %/s	1,33	0,40	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
			SA	1,07	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Laterale Patella	2,15 SA 0,42	11,78 SA 1,70	Erholung, %	8,24	7,65	6,12	5,54		4,75	4,15		3,70	3,33	3,08	2,86	2,71	2,57	
			SA	2,74	2,83	2,77	2,68		2,50	2,29		2,15	2,03	1,98	1,94	1,95	1,97	
			umgedrehte Erholung, %	3,54	4,13	5,65	6,23		7,03	7,62		8,07	8,45	8,69	8,92	9,07	9,20	
			SA	1,57	1,80	1,96	1,89		1,74	1,49		1,41	1,39	1,46	1,54	1,63	1,69	

			Steigung Erholung, %/s	3,45	2,04	0,65	0,55	0,49	0,40	0,35	0,31	0,23	0,14	0,10	0,08	0,05	0,05
			SA	1,41	1,39	1,60	1,40	1,19	1,01	0,90	0,77	0,58	0,36	0,25	0,16	0,13	0,12
P-Wert medial vs. lateral	0,00	0,03	P-Wert Erholung	0,71	0,99	0,65	0,63		0,77	0,90		0,96	0,99	0,95	0,86	0,87	0,88
			P-Wert umgedrehte Erholung	0,01	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
			P-Wert Steigung	0,01	0,01	0,32	0,33	0,32	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,34	0,35	0,34	0,34

Tabelle 26: Zyklischer Kriecherholungsversuch (bovin, medial n = 7, lateral n = 7): Darstellung der Knorpeldicke, Höhe des Kriechens nach 3 min (100 Zyklen) und der Erholung in % mit SA, der Steigung der Erholung in %/s mit SA, sowie die p-Werte des Vergleichs von Knorpeldicke, Kriechen nach 3 min (100 Zyklen), Steigung von Kriechen und Erholung sowie Höhe des Kriechens und der Erholung im Vergleich zwischen medialer und lateraler Patella ab der 10. min.

		Erholung 600 s	Erholung 780 s (13 min)	Erholung 900 s	Erholung 1200 s	Erholung 1380 s (23 min)	Erholung 1500 s	Erholung 1800 s	Erholung 1980 s (33 min)	Erholung 2100 s	Erholung 2400 s	Erholung 2580 s (43 min)	Erholung 3180 s (53 min)	Erholung 3780 s (63 min)	Erholung 4380 s (73 min)	Erholung 5220 s (87 min)	
		Steigung 540-600 s	Steigung 180-780 s (3-13 min)	Steigung 600-900 s	Steigung 900-1200 s	Steigung 780-1380 s (13-23 min)	Steigung 1200-1500 s	Steigung 1500-1800 s	Steigung 1380-1980 s (23-33 min)	Steigung 1800-2100 s	Steigung 2100-2400 s	Steigung 1980-2580 s (33-43 min)	Steigung 2580-3180 s (43-53 min)	Steigung 3180-3780 s (53-63 min)	Steigung 3780-4380 s (63-73 min)	Steigung 4380-5220 s (73-87 min)	
Mediale Patella	Erholung, %	2,41	2,24	2,22	2,18	2,17	2,17	2,17	2,15	2,15	2,14	2,15	2,15	2,16	2,16	2,18	
	SA	2,05	2,09	2,10	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,14	2,15	2,14	2,13	2,15	2,15	2,13	
	umgedrehte Erholung, %	6,76	6,93	6,95	6,99	7,00	7,00	7,00	7,02	7,02	7,03	7,02	7,02	7,02	7,02	6,99	
	SA	0,90	0,92	0,90	0,90	0,92	0,92	0,92	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,89	0,89	0,89	0,87
	Steigung Erholung, %/s	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	SA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Laterale Patella	Erholung, %	2,51	2,35	2,28	2,15	2,08	2,06	2,00	1,99	1,98	1,93	1,92	1,85	1,79	1,76	1,66	
	SA	2,01	2,08	2,10	2,50	2,43	2,23	2,27	2,28	2,29	2,33	2,35	2,35	2,37	2,38	2,38	
	umgedrehte Erholung, %	9,27	9,43	9,50	9,63	9,69	9,71	9,77	9,79	9,80	9,85	9,86	9,93	9,99	10,01	10,12	

	SA	1,72	1,84	1,87	1,74	1,63	2,03	2,06	2,07	2,08	2,11	2,13	2,11	2,12	2,12	2,11
	Steigung Erholung %/s	0,04	0,04	0,03	0,03	0,00	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
	SA	0,08	0,07	0,00	0,07	0,07	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,06	0,05	0,08	0,07
P-Wert medial vs. lateral	P-Wert Erholung	0,88	0,90	0,94	0,77	0,93	0,91	0,87	0,87	0,86	0,83	0,82	0,77	0,72	0,70	0,61
	P-Wert umgedrehte Erholung	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00
	P-Wert Steigung	0,34	0,34	0,33	0,33	0,34	0,33	0,33	0,33	0,34	0,33	0,33	0,34	0,34	0,34	0,33

## Literaturverzeichnis

- 1 Ackermann, B., Steinmeyer, J. (2005). Collagen biosynthesis of mechanically loaded articular cartilage explants. *Osteoarthritis Cartilage*, 13 (10), 906 – 914.
- 2 Adam, C., Eckstein, F., Milz, S., Putz, R. (1998). The distribution of cartilage thickness within the joints of the lower limb of elderly individuals. *J Anat*, 193 (2), 203 – 214.
- 3 Aigner, T., Stöve, J. (2003). Collagens—major component of the physiological cartilage matrix, major target of cartilage degeneration, major tool in cartilage repair. *Adv Drug Deliv Rev*, 55 (12), 1569 – 1593.
- 4 Akizuki, S., Mow, V. C., Müller, F., Pita, J. C., Howell, D. S., Manicourt, D. H. (1986). Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus. *J Orthop Res*, 4 (4), 379 – 392.
- 5 Alexopoulos, L. G., Williams, G. M., Upton, M. L., Setton, L. A., Guilak, F. (2005). Osteoarthritic changes in the biphasic mechanical properties of the chondrocyte pericellular matrix in articular cartilage. *J Biomech*, 38 (3), 509 – 517.
- 6 Altman, R. D., Tenenbaum, J., Latta, L., Riskin, W., Blanco, N. L., Howell, D. S. (1984). Biomechanical and biochemical properties of dog cartilage in experimentally induced osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 43 (1), 83 – 90.
- 7 Appleyard, R. C., Burkhardt, D., Ghosh, P., Read, R., Cake, M., Swain, M. V., Murrell, G.A.C. (2003). Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 11 (1), 65 – 77.
- 8 Archer, C. W., Francis-West, P. (2003). Cells in focus: The chondrocyte. *Int J Biochem Cell Biol*, 35 (4), 401 – 404.
- 9 Armstrong, C. G., Mow, V. C. (1982). Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration and water content. *J Bone Joint Surg Am*, 64 (1), 88 – 94.
- 10 Ateshian, G. A., Chahine, N. O., Basalo, I. M., Hung, C. T. (2004). The correspondence between equilibrium biphasic and triphasic material properties in mixture models of articular cartilage. *J Biomech*, 37 (3), 391 – 400.
- 11 Ateshian, G. A., Warden, W. H., Kim, J. J., Grelsamer, R. P., Mow, V. C. (1997). Finite deformation biphasic material properties of bovine articular cartilage from confined compression experiments. *J Biomech*, 30 (11-12), 1157 – 1164.
- 12 Athanasiou, K. A., Agarwal, A., Dzida, F. J. (1994). Comparative study of the intrinsic mechanical properties of the human acetabular and femoral head cartilage. *J Orthop Res*, 12 (3), 340 – 349.
- 13 Athanasiou, K. A., Darling, E. M., und Hu, J. C. (2010). *Articular cartilage tissue engineering*. San Rafael, Calif.: Morgan & Claypool Publishers, 3.
- 14 Athanasiou, K. A., Rosenwasser, M. P., Buckwalter, J. A., Malinin, T. I., Mow, V. C. (1991). Interspecies comparisons of in situ intrinsic mechanical properties of distal femoral cartilage. *J Orthop Res*, 9 (3), 330 – 340.
- 15 Aumüller, G., Engele, J., Kirsch, J., und Mense, S. (2014). *Duale Reihe Anatomie*. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag.
- 16 Bachrach, N. M., Valhmu, W. B., Stazzone, E., Ratcliffe, A., Lai, W.M., Mow, V. C. (1995). Changes in proteoglycan synthesis of chondrocytes in articular cartilage are associated with the time-dependent changes in their mechanical environment. *J Biomech*, 28 (12), 1561 – 1569.
- 17 Bader, D., Lee, D.. (2000). Structure – Properties of soft tissues: articular cartilage. In M. Elices, (Ed.), *Structural biological materials: design and structure-property relationships* (pp. 75–103). Kidlington, Oxford: Elsevier Science.
- 18 Bae, W. C., Lewis, C. W., Levenston, M. E., Sah, R. L. (2006). Indentation testing of human articular cartilage: Effects of probe tip geometry and indentation depth on intra-tissue strain. *J Biomech*, 39 (6), 1039 – 1047.

- 19 Bajaj, S., Petrera M. O., Cole B. J.. (2010). Lower Extremity-Articular Cartilage Injuries. In F. Margheritini, R. Rossi (Eds.), *Orthopedic Sports Medicine* (pp. 1–18). Milano: Springer-Verlag Italia.
- 20 Baldassarri, M., Goodwin, J. S. L., Farley, M. L., Bierbaum, B. E., Goldring, S. R., Goldring, M. B., Burstein, D., Gray, M. L. (2007). Relationship between cartilage stiffness and dGEMRIC index: Correlation and prediction. *J Orthop Res*, 25 (7), 904 – 912.
- 21 Barker, M. K., Seedhom, B. B. (1997). Articular cartilage deformation under physiological cyclic loading—apparatus and measurement technique. *J Biomech*, 30 (4), 377 – 381.
- 22 Barker, M. K., Seedhom, B. B. (2001). The relationship of the compressive modulus of articular cartilage with its deformation response to cyclic loading: does cartilage optimize its modulus so as to minimize the strains arising in it due to the prevalent loading regime? *Rheumatology*, 40 (40), 274 – 284.
- 23 Barthes, P. Y., Bais, R. J., Vernooij, J. C. M. (2007). Effect of ultrasound beam angle on equine articular cartilage thickness measurement. *Vet Radiol Ultrasound*, 48 (5), 457 – 459.
- 24 Basser, P. J., Schneiderman, R., Bank, R. A., Wachtel, E., Maroudas, A. (1998). Mechanical Properties of the Collagen Network in Human Articular Cartilage as Measured by Osmotic Stress Technique. *Arch Biochem Biophys*, 251 (2), 207 – 219.
- 25 Bastiaansen-Jenniskens, Y. M., Koevoet, W., de Bart, A. C. W., van der Linden, J. C., Zuurmond, A. M., Weinans, H., Verhaar, J. A. N., van Osch, G. J. V. M., DeGroot, J. (2008). Contribution of collagen network features to functional properties of engineered cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 16 (3), 359 – 366.
- 26 Beer, F. P., Johnston, E. R., DeWolf, J. T., Prasad, N. S., und Krishnamurthy, S. (2004). *Mechanics of materials: [in SI units]*. New Delhi: Tata McGraw-Hill, 3rd ed.
- 27 Benninghoff, A. (1925). Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion: Zweiter Teil: Der Aufbau des Gelenkknorpels in seinen Beziehungen zur Funktion. *Z Zellforsch*, 2 (5), 786 – 862.
- 28 Besier, T. F., Draper, C. E., Gold, G. E., Beaupré, G. S., Delp, S. L. (2005). Patellofemoral joint contact area increases with knee flexion and weight-bearing. *J Orthop Res*, 23 (2), 345 – 350.
- 29 Bian, L., Kaplun, M., Williams, D. Y., Xu, D., Ateshian, G. A., Hung, C. T. (2009). Influence of chondroitin sulfate on the biochemical, mechanical and frictional properties of cartilage explants in long-term culture. *J Biomech*, 42 (3), 286 – 290.
- 30 Biechler, S., Kornis, B., Lusk, J., Williams, S. (2013). Determining the viscoelastic properties of trachea cartilage for scaffold design in tissue engineering. *Eur Cell Mater*, 26), 35.
- 31 Blain, E. J., Gilbert, S. J., Wardale, R. J., Capper, S. J., Mason, D. J., Duance, V. C. (2001). Up-Regulation of matrix metalloproteinase expression and activation following cyclical compressive Loading of articular cartilage in vitro. *Arch Biochem Biophys*, 396 (1), 49 – 55.
- 32 Boschetti, F., Pennati, G., Gervaso, F., Peretti, G. M., Dubini, G. (2004). Biomechanical properties of human articular cartilage under compressive loads. *Biorheology*, 41 (41), 159 – 166.
- 33 Braun, H. J., Gold, G. E. (2011). Advanced MRI of articular cartilage. *Imaging Med.*, 3 (5), 541 – 555.
- 34 Brinckmann, P., Frobin, W., und Leivseth, G. (2000). *Orthopädische Biomechanik*. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag.
- 35 Brommer, H., Laasanen, M. S., Brama, P.A., Weeren, v. P. R., Helminen, H. J., Jurvelin, J. S. (2006). In situ and ex vivo evaluation of an arthroscopic indentation instrument to estimate the health status of Articular Cartilage in the Equine Metacarpophalangeal Joint. *Vet Surg*, 35 (3), 259 – 266.
- 36 Brown, T. D., Shaw, D. T. (1984). In vitro contact stress distribution on the femoral condyles. *J Orthop Res*, 2 (2), 190 – 199.
- 37 Buckley, M. R., Bergou, A. J., Fouchard, J., Bonassar, L. J., Cohen, I. (2010). High-resolution spatial mapping of shear properties in cartilage. *J Biomech*, 43 (4), 796 – 800.

- 38 Buckwalter, J. A., Mankin, H. J., Grodzinsky A. (2005). Articular Cartilage and Osteoarthritis. *AAOS Instructional Course Lectures*, 54 (54), 465 – 480.
- 39 Bullough, P., Goodfellow, J. (1968). The significance of the fine structure of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*, 50 B), 852 – 857.
- 40 Burger, C., Mueller, M., Wlodarczyk, P., Goost, H., Tolba, R. H., Rangger, C., Kabir, K., Weber, O. (2007). The sheep as a knee osteoarthritis model: early cartilage changes after meniscus injury and repair. *Laboratory Animals*, 41 (4), 420 – 431.
- 41 Burgin, L. V., Aspden, R. M. (2008). Impact testing to determine the mechanical properties of articular cartilage in isolation and on bone. *J Mater Sci: Mater Med*, 19 (2), 703 – 711.
- 42 Bursać, P. M., Obitz, T. W., Eisenberg, S. R., Stamenović, D. (1999). Confined and unconfined stress relaxation of cartilage: appropriateness of a transversely isotropic analysis. *J Biomech*, 32 (10), 1125 – 1130.
- 43 Butler, D. L., Goldstein, S. A., Guilak, F. (2000). Functional tissue engineering: the role of biomechanics. *J Biomech Eng*, 122 (122), 570 – 575.
- 44 Castriota-Scanderberg, A., Micheli, D. V. (1995). Ultrasound of femoral head cartilage: a new method of assessing bone age. *Skeletal Radiol*, 24 (24), 197 – 200.
- 45 Ceuninck, F., Sabatini, M., und Pastoureau, P. (2004). *Cartilage and Osteoarthritis: Volume 2: Structure and In Vivo Analysis*. Totowa, NJ: Humana Press.
- 46 Chahine, N. O., Hung, C. T., Ateshian, G. A. (2007). In-situ measurements of chondrocyte deformation under transient loading. *Eur Cell Mater*, 13, 100 – 111.
- 47 Changoor, A., Fereydoonzad, L., Yaroshinsky, A., Buschmann, M. D. (2010). Effects of refrigeration and freezing on the electromechanical and biomechanical properties of articular cartilage. *J Biomech Eng*, 132 (6), 064502-1 - 064502-6.
- 48 Chen, G.-Q., Wu, Q. (2005). The application of polyhydroxyalkanoates as tissue engineering materials. *Biomaterials*, 26 (33), 6565 – 6578.
- 49 Chen, S., Falcovitz, Y. H., Schneiderman, R., Maroudas, A., Sah, R. L. (2001). Depth-dependent compressive properties of normal aged human femoral head articular cartilage: relationship to fixed charge density. *Osteoarthritis Cartilage*, 9 (6), 561 – 569.
- 50 Chevrier, A., Nelea, M., Hurtig, M. B., Hoemann, C. D., Buschmann, M. D. (2009). Meniscus structure in human, sheep, and rabbit for animal models of meniscus repair. *J Orthop Res*, 27 (9), 1197 – 1203.
- 51 Chiravarambath, S., Simha, N. K., Namani, R., Lewis, J. L. (2009). Poroviscoelastic cartilage properties in the mouse from indentation. *J Biomech Eng*, 131 (1), 011004-1 - 011004-9.
- 52 Cohen, Z. A., McCarthy, D. M., Kwak, S. D., Legrand, P., Fogarasi, F., Ciaccio, E. J., Ateshian, G. A. (1999). Knee cartilage topography, thickness, and contact areas from MRI: in-vitro calibration and in-vivo measurements. *Osteoarthritis Cartilage*, 7 (1), 95 – 109.
- 53 Coleman, J. L., Widmyer, M. R., Leddy, H. A., Utturkar, G. M., Spritzer, C. E., Moorman, C. T., Guilak, F., DeFrate, L. E. (2013). Diurnal variations in articular cartilage thickness and strain in the human knee. *J Biomech*, 46 (3), 541 – 547.
- 54 Colombo, V., Čadová, M., Gallo, L. M. (2013). Mechanical behavior of bovine nasal cartilage under static and dynamic loading. *J Biomech*, 46 (13), 2137 – 2144.
- 55 Cook, J. L., Kuroki, K., Visco, D., Pelletier, J.-P., Schulz, L., Lafeber, F.P.J.G. (2010). The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the dog. *Osteoarthritis Cartilage*, 18, 566 – 579.
- 56 Darling, E. M., Wilusz, R. E., Bolognesi, M. P., Zauscher, S., Guilak, F. (2010). Spatial mapping of the biomechanical properties of the pericellular matrix of articular cartilage measured in situ via atomic force microscopy. *Biophys J*, 98 (12), 2848 – 2856.
- 57 Dean, D. D., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J.-P., Howell, D. S., Woessner Jr., J. F. (1989). Evidence for Metalloproteinase and Metalloproteinase Inhibitor Imbalance in Human Osteoarthritic Cartilage. *J Clin Invest*, 84 (2), 678 – 685.
- 58 Desrochers, J., Amrein, M. W., Matyas, J. R. (2012). Viscoelasticity of the articular cartilage surface in early osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 20 (5), 413 – 421.

- 59 Disler, D. G., Raymond, E., May, D. A., Wayne, J. S., McCauley, T. R. (2000). Articular cartilage defects: in vitro evaluation of accuracy and interobserver reliability for detection and grading with US. *Radiology*, 215 (3), 846 – 851.
- 60 D'Lima, D. D., Steklov, N., Fregly, B. J., Banks, S. A., Colwell, C. W. Jr. (2008). In vivo contact stresses during activities of daily living after knee arthroplasty. *J Orthop Res*, 26 (12), 1549 – 1555.
- 61 Dransfeld, K., Kalvius, G. M., und Zinth, W. (2005). Physik: Einführungskurs für Studierende der Naturwissenschaften und Elektrotechnik. München [u.a.]: Oldenbourg, 10. Auflage.
- 62 Eckstein, F., Adam, C., Sittek, H., Becker, C., Milz, S., Schulte, E., Reiser, M., Putz, R. (1997). Non-invasive determination of cartilage thickness throughout joint surfaces using magnetic resonance imaging. *J Biomech*, 30 (3), 285 – 289.
- 63 Eckstein, F., Englmeier, K.-H., Reiser, M. (2002). Quantitative Knorpelanalyse mit der Magnetresonanztomographie (qMRI) - Neue Ära der Diagnostik. *Z Rheumatol*, 61 (3), 250 – 259.
- 64 Eckstein, F., Lemberger, B., Gratzke, C., Hudelmaier, M., Glaser, C., Englmeier, K. H., Reiser, M. (2005). In vivo cartilage deformation after different types of activity and its dependence on physical training status. *Ann Rheum Dis*, 64 (2), 291 – 295.
- 65 Eckstein, F., Lemberger, B., Stammberger, T., Englmeier, K. H., Reiser, M. (2000). Patellar cartilage deformation in vivo after static versus dynamic loading. *J Biomech*, 33 (7), 819 – 825.
- 66 Eckstein, F., Müller-Gerbl, M., Putz, R. (1992). Distribution of subchondral bone density and cartilage thickness in the human patella. *J Anat*, 180 (3), 425 – 433.
- 67 Eckstein, F., Tieschky, M., Faber, S., Englmeier, K. H., Reiser, M. (1999). Functional analysis of articular cartilage deformation, recovery, and fluid flow following dynamic exercise in vivo. *Anat Embryol*, 200 (4), 419 – 424.
- 68 Eisenberg, S. R., Grodzinsky, A. J. (1985). Swelling of articular cartilage and other connective tissues: electromechanochemical forces. *J Orthop Res*, 3 (2), 148 – 159.
- 69 Ellingson, A. M., Nuckley, D. J. (2012). Intervertebral disc viscoelastic parameters and residual mechanics spatially quantified using a hybrid confined/in situ indentation method. *J Biomech*, 45 (3), 491 – 496.
- 70 Engelhardt, M. (2003). Epidemiologie der Arthrose in Westeuropa. *Dtsch Z Sportmed*, 54 (6), 171 – 175.
- 71 Eyre, D. R., Weis, M. A., Wu, J.-J. (2006). Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework? *Eur Cell Mater*, 12, 57 – 63.
- 72 Firbas, W. und Netter, F. W. (1992). Farbatlanten der Medizin: Bewegungsapparat I Anatomie, Embryologie, Physiologie, Stoffwechsel. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag, 7.
- 73 Flahiff, C. M., Narmoneva, D. A., Huebner, J. L., Kraus, V. B., Guilak, F., Setton, L. A. (2002). Osmotic loading to determine the intrinsic material properties of guinea pig knee cartilage. *J Biomech*, 35 (9), 1285 – 1290.
- 74 Föhr, P., Hautmann, V., Prodinge, P., Pohlig, F., Kaddick, C., Burgkart, R. (2012). Hochdynamisches Prüfsystem zur biomechanischen Charakterisierung von Knorpel und seinen Regeneraten. *Orthopade*, 41 (10), 820 – 826.
- 75 Fox, A. J. S., Bedi, A., Rodeo, S. A. (2009). The basic science of articular cartilage: structure, composition, and function. *Sports health*, 1 (6), 461 – 468.
- 76 Franz, T., Haserl, E. M., Hagg, R., Weiler, C., Jakob, R. P., Mainil-Varlet, P. (2001). In situ compressive stiffness, biochemical composition, and structural integrity of articular cartilage of the human knee joint. *Osteoarthritis Cartilage*, 9 (6), 582 – 592.
- 77 Froimson, M. I., Ratcliffe, A., Gardner, T. R., Mow, V. C. (1997). Differences in patellofemoral joint cartilage material properties and their significance to the etiology of cartilage surface fibrillation. *Osteoarthritis Cartilage*, 5 (6), 377 – 386.
- 78 Fung, Y. C. (1993). Biomechanics: Mechanical properties of living tissues. New York: Springer.

- 79 Gannon, J. M., Walker, G., Fischer, M., Carpenter, R., Thompson Jr., R. C., Oegema Jr., T. R. (1991). Localization of type X collagen in canine growth plate and adult canine articular cartilage. *J Orthop Res*, 9 (4), 485 – 494.
- 80 Garnov, N. (2010). Winkel-sensitive MRT zur nichtinvasiven Analyse belasteter Knorpelstruktur. (Dissertation). Technische Universität Ilmenau.
- 81 Gemmiti, C. V. (2006). Effect of fluid flow on tissue-engineered cartilage in a novel ioreactor. (Dissertation). Georgia Institute of Technology.
- 82 Ghadially, F. N., Wedge, J. H., Lalonde, J. M. (1986). Experimental methods of repairing injured menisci. *J Bone Joint Surg Am*, 68 (1), 106 – 110.
- 83 Gold, G. E., Chen, C. A., Koo, S., Hargreaves, B. A., Bangerter, N. K. (2009). Recent advances in MRI of articular cartilage. *AJR Am J Roentgenol*, 193 (3), 628 – 638.
- 84 Greaves, L. L., Gilbert, M. K., Yung, A., Kozlowski, P., Wilson, D. R. (2009). Deformation and recovery of cartilage in the intact hip under physiological loads using 7T MRI. *J Biomech*, 42 (3), 349 – 354.
- 85 Guilak, F. (2004, c2003). *Functional tissue engineering*. New York: Springer.
- 86 Guilak, F., Jones, W. R., Ting-Beall, H. P., Lee, G. M. (1999). The deformation behavior and mechanical properties of chondrocytes in articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 7 (1), 59 – 70.
- 87 Guilak, F., Meyer, B., Ratcliff, A., Mow, V. C. (1994). The effects of matrix compression on proteoglycan metabolism in articular cartilage explants. *Osteoarthritis Cartilage*, 2 (2), 91 – 101.
- 88 Gupta, S., Lin, J., Ashby, P., Pruitt, L. (2009). A fiber reinforced poroelastic model of nanoindentation of porcine costal cartilage: A combined experimental and finite element approach. *J Mech Beha Biomed Mater*, 2 (4), 326 – 338.
- 89 Gwynn, A. P., Wade, S., Ito, K., Richards, R. G. (2002). Novel aspects to the structure of rabbit articular cartilage. *Eur Cell Mater*, 4 (4), 18 – 29.
- 90 Hagg, R., Bruckner, P., Hedborn, E. (1998). Cartilage Fibrils of Mammals are Biochemically Heterogeneous: Differential Distribution of Decorin and Collagen IX. *J Cell Biol.*, 142 (1), 285 – 294.
- 91 Han, E., Chen, S. S., Klisch, S. M., Sah, R. L. (2011). Contribution of proteoglycan osmotic swelling pressure to the compressive properties of articular cartilage. *Biophys J*, 101 (4), 916 – 924.
- 92 Hargrave-Thomas, E. J., Thambyah, A., McGlashan, S. R., Broom, N. D. (2013). The bovine patella as a model of early osteoarthritis. *J Anat*, 223 (6), 651 – 664.
- 93 Haubner, M., Eckstein, F., Schnier, M., Löscher, A., Sittek, H., Becker, C., Kolem, H., Reiser, M., Englmeier, K.-H. (1997). A non-invasive technique for 3-dimensional assessment of articular cartilage thickness based on MRI part 2: Validation using CT arthrography. *Magn Reson Imaging*, 15 (7), 805 – 813.
- 94 Hayes, W. C., Keer, L. M., Herrmann, G., Mockros, L. F. (1972). A mathematical analysis for indentation tests of articular cartilage. *J Biomech*, 5 (5), 541 – 551.
- 95 Hempfling, H., Bohndorf, K. (2007). Begutachtung des Knorpelschadens. *Trauma Berufskrankh*, 9 (4), 284 – 295.
- 96 Herberhold, C., Faber, S., Stammberger, T., Steinlechner, M., Putz, R., Englmeier, K. H., Reiser, M., Eckstein, F. (1999). In situ measurement of articular cartilage deformation in intact femoropatellar joints under static loading. *J Biomech*, 32 (12), 1287 – 1295.
- 97 Hollander, A. P., Pidoux, I., Reiner, A., Rorabeck, C., Bourne, R., Poole, A. R. (1995). Damage to Type 11 Collagen in Aging and Osteoarthritis Starts at the Articular Surface, Originates Around Chondrocytes, and Extends into the Cartilage with Progressive Degeneration. *J Clin Invest*, 96, 2859 – 2869.
- 98 Hori, R.Y., Mockros, L.F. (1976). Indentation tests of human articular cartilage. *J Biomech*, 9 (4), 259 – 268.
- 99 Hosseini, S. M., Veldink, M. B., Ito, K., van Donkelaar, C C. (2013). Is collagen fiber damage the cause of early softening in articular cartilage? *Osteoarthritis Cartilage*, 21 (1), 136 – 143.

- 100 Huang, C.-Y., Soltz, M. A., Kopacz, M., Mow, V. C., Ateshian, G. A. (2003). Experimental verification of the roles of intrinsic matrix viscoelasticity and tension-compression Nonlinearity in the Biphasic Response of Cartilage. *J Biomech Eng*, 125 (1), 84 – 93.
- 101 Huberti, H. H., Hayes, W. C. (1984). Patellofemoral contact pressures. The influence of Q-angle and tendofemoral contact. *J Bone Joint Surg Am*, 66 (5), 715 – 724.
- 102 Hudelmaier, M. (2001). Altersabhängige Veränderungen der Morphologie und des Deformationsverhaltens der Kniegelenkknorpel. (Dissertation). Ludwig-Maximilians-Universität München.
- 103 Hutmacher, D. W. (2000). Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials*, 21 (24), 2529 – 2543.
- 104 Jones, W. R., Ping Ting-Beall, H., Lee, G. M., Kelley, S. S., Hochmuth, R. M., Guilak, F. (1999). Alterations in the young's modulus and volumetric properties of chondrocytes isolated from normal and osteoarthritic human cartilage. *J Biomech*, 32 (2), 119 – 127.
- 105 Julkunen, P., Harjula, T., Iivarinen, J., Marjanen, J., Seppänen, K., Närhi, T., Arokoski, J., Lammi, M. J., Brama, P. A., Jurvelin, J. S., Helminen, H. J. (2009). Biomechanical, biochemical and structural correlations in immature and mature rabbit articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 17 (12), 1628 – 1638.
- 106 Julkunen, P., Kiviranta, P., Wilson, W., Jurvelin, J. S., Korhonen, R. K. (2007). Characterization of articular cartilage by combining microscopic analysis with a fibril-reinforced finite-element model. *J Biomech*, 40 (8), 1862 – 1870.
- 107 Julkunen, P., Wilson, W., Jurvelin, J. S., Rieppo, J., Qu, C.-J., Lammi, M. J., Korhonen, R. K. (2008). Stress-relaxation of human patellar articular cartilage in unconfined compression: Prediction of mechanical response by tissue composition and structure. *J Biomech*, 41 (9), 1978 – 1986.
- 108 June, R. K., Mejia, K. L., Barone, J. R., Fyhrie, D. P. (2009). Cartilage stress-relaxation is affected by both the charge concentration and valence of solution cations. *Osteoarthritis Cartilage*, 17 (5), 669 – 676.
- 109 Jurvelin, J., Kiviranta, L., Säämänen, A.-M., Tammi, M., Helminen, H.J. (1990). Indentation stiffness of young canine knee articular cartilage-Influence of strenuous joint loading. *J Biomech*, 23 (12), 1239 – 1246.
- 110 Jurvelin, J. S., Arokoski, J. P.A., Hunziker, E. B., Helminen, H. J. (2000). Topographical variation of the elastic properties of articular cartilage in the canine knee. *J Biomech*, 33 (6), 669 – 675.
- 111 Jurvelin, J. S., Buschmann, M. D., Hunziker, E. B. (1997). Optical and mechanical determination of poisson's ratio of adult bovine humeral articular cartilage. *J Biomech*, 30 (3), 235 – 241.
- 112 Jurvelin, J. S., Buschmann, M. D., Hunziker, E. B. (2003). Mechanical anisotropy of the human knee articular cartilage in compression. *Proclnst Mech Eng H*, 217 (3), 215 – 219.
- 113 Jurvelin, J. S., Räsänen, T., Kolmonens, P., Lyyra, T. (1995). Comparison of optical, needle probe and ultrasonic techniques for the measurement of articular cartilage thickness. *J Biomech*, 28 (2), 231 – 235.
- 114 Kääh, M. J., Ito, K., Clark, J. M., Nötzli, H. P. (1998). Deformation of articular cartilage collagen structure under static and cyclic loading. *J Orthop Res*, 16 (6), 743 – 751.
- 115 Katakai, D., Imura, M., Ando, W., Tateishi, K., Yoshikawa, H., Nakamura, N., Fujie, H. (2009). Compressive properties of cartilage-like tissues repaired in vivo with scaffold-free, tissue engineered constructs. *Clin Biomech*, 24 (1), 110 – 116.
- 116 Keenan, K. E. (2011). Determination of human cartilage condition using magnetic resonance imaging, creep indentation testing and biochemistry. (Dissertation). Stanford University.
- 117 Keenan, K. E., Kourtis, L. C., Besier, T. F., Lindsey, D. P., Gold, G. E., Delp, S. L., Beaupré, G. S. (2009). New resource for the computation of cartilage biphasic material properties with the interpolant response surface method. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 12 (4), 415 – 422.

- 118 Keenan, K. E., Pal, S., Lindsey, D. P., Besier, T. F., Beaupré, G. S. (2013). A viscoelastic constitutive model can accurately represent complete creep indentation tests of human articular cartilage. *J Appl Biomech*, 29 (3), 292 – 302.
- 119 Kellgren, J. H., Lawrence, J. S. (1957). Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*, 16 (4), 494 – 502.
- 120 Kelm, L. N. (2002). Hysteretic response of articular cartilage to cyclic loading. (Master Thesis). Rice University.
- 121 Kempson, G. E. (1982). Relationship between the tensile properties of articular cartilage from the human knee and age. *Ann Rheum Dis*, 41 (5), 508 – 511.
- 122 Kempson, G. E., Freeman, M.A.R., Swanson, S.A.V. (1971). The determination of a creep modulus for articular cartilage from indentation tests on the human femoral head. *J Biomech*, 4 (4), 239 – 250.
- 123 Kempson, G. E., Muir, H., Swanson, S.A.V., Freeman, M.A.R. (1970). Correlations between stiffness and the chemical constituents of cartilage on the human femoral head. *Biochim Biophys Acta*, 215 (1), 70 – 77.
- 124 Kempson, G. E., Spivey, C. J., Swanson, S.A.V., Freeman, M.A.R. (1971). Patterns of cartilage stiffness on normal and degenerate human femoral heads. *J Biomech*, 4 (6), 597 – 609.
- 125 Kim, Y.-J., Sah, R. L., Grodzinsky, A. J., Plaas, A. H. K., Sandy, J. D. (1994). Mechanical regulation of cartilage biosynthetic behavior: physical stimuli. *Arch Biochem Biophys*, 311 (1), 1 – 12.
- 126 Kiviranta, P., Rieppo, J., Korhonen, R. K., Julkunen, P., Töyräs, J., Jurvelin, J. S. (2006). Collagen network primarily controls Poisson's ratio of bovine articular cartilage in compression. *J Orthop Res*, 24 (4), 690 – 699.
- 127 Kleemann, R. (2006). Biomechanik und Mechanobiologie in der Regeneration osteochondraler defekte im Kniegelenk. (Dissertation). Technische Universität Berlin.
- 128 Kleemann, R. U., Kroker, D., Cedraro, A., Tuischer, J., Duda, G. N. (2005). Altered cartilage mechanics and histology in knee osteoarthritis: relation to clinical assessment (ICRS Grade). *Osteoarthritis Cartilage*, 13 (11), 958 – 963.
- 129 Koff, M. F., Chong, L. R., Virtue, P., Chen, D., Wang, X., Wright, T., Potter, H. G. (2010). Validation of cartilage thickness calculations using indentation analysis. *J Biomech Eng*, 132 (4), 041007-1 - 041007-6.
- 130 Korhonen, R. K., Herzog, W. (2008). Depth-dependent analysis of the role of collagen fibrils, fixed charges and fluid in the pericellular matrix of articular cartilage on chondrocyte mechanics. *J Biomech*, 41 (2), 480 – 485.
- 131 Korhonen, R. K., Jurvelin, J. S. (2010). Compressive and tensile properties of articular cartilage in axial loading are modulated differently by osmotic environment. *Med Eng Phys*, 32 (2), 155 – 160.
- 132 Korhonen, R. K., Laasanen, M. S., Töyräs, J., Rieppo, J., Hirvonen, J., Helminen, H. J., Jurvelin, J. S. (2002). Comparison of the equilibrium response of articular cartilage in unconfined compression, confined compression and indentation. *J Biomech*, 35 (7), 903 – 909.
- 133 Korhonen, R. K. und Saarakkala, S. (2011). Biomechanics and modeling of skeletal soft tissues Theoretical Biomechanics: In Dr V. Klika, Biomechanics and modeling of skeletal soft tissues (pp. 113 - 132). Rijeka: InTech.
- 134 Korhonen, R.K., Wong, M., Arokoski, J., Lindgren, R., Helminen, H.J., Hunziker, E.B., Jurvelin, J.S. (2002). Importance of the superficial tissue layer for the indentation stiffness of articular cartilage. *Med Eng Phys*, 24 (2), 99 – 108.
- 135 Kos, P., Varga, F., Handl, M., Kautzner, J., Chudáček, V., Držík, M., Povýšil, C., Trč, T., Amler, E., Hanus, M. (2011). Correlation of dynamic impact testing, histopathology and visual macroscopic assessment in human osteoarthritic cartilage. *Int Orthop*, 35 (11), 1733 – 1739.
- 136 Krishnan, R., Mariner, E. N., Ateshian, G. A. (2005). Effect of dynamic loading on the frictional response of bovine articular cartilage. *J Biomech*, 38 (8), 1665 – 1673.

- 137 Kunow, J. C. E. (2008). Vergleich der biomechanischen Eigenschaften von Gelenkknorpel und Ersatzgeweben nach unterschiedlichen Behandlungsmethoden lokalisierter Knorpeldefekte: Eine Studie am Schafmodell. (Dissertation). Universität zu Lübeck.
- 138 Laasanen, M. S., Saarakkala, S., Töyräs, J., Hirvonen, J., Rieppo, J., Korhonen, R. K., Jurvelin, J. S. (2003). Ultrasound indentation of bovine knee articular cartilage in situ. *J Biomech*, 36 (9), 1259 – 1267.
- 139 Lai, J. H., Levenston, M. E. (2010). Meniscus and cartilage exhibit distinct intra-tissue strain distributions under unconfined compression. *Osteoarthritis Cartilage*, 18 (10), 1291 – 1299.
- 140 Lai, W. M., Hou, J. S., Mow, V. C. (1991). A triphasic theory for the swelling and deformation behaviors of articular cartilage. *J Biomech Eng*, 113 (3), 245 – 258.
- 141 Laible, M. (2009). Mechanische Größen, elektrisch gemessen: Grundlagen und Beispiele zur technischen Ausführung. Renningen: Expert-Verl.
- 142 Le, N.-A. T., Fleming, B. C. (2008). Measuring fixed charge density of goat articular cartilage using indentation methods and biochemical analysis. *J Biomech*, 41 (3), 715 – 720.
- 143 Lee, B., Han, L., Frank, E. H., Chubinskaya, S., Ortiz, C., Grodzinsky, A. J. (2010). Dynamic mechanical properties of the tissue-engineered matrix associated with individual chondrocytes. *J Biomech*, 43 (3), 469 – 476.
- 144 Lee, C., Grad, S., Wimmer, M., und Alini, M. (2006). The influence of mechanical stimuli on articular cartilage tissue engineering. In N. Ashammakhi, R. L. Reis (Eds.), *Topics in tissue engineering* (pp. 1 - 32). Retrieved from [http://www oulu.fi/spareparts/ebook\\_topics\\_in\\_t\\_e\\_vol2/abstracts/alini\\_0102.pdf](http://www oulu.fi/spareparts/ebook_topics_in_t_e_vol2/abstracts/alini_0102.pdf)
- 145 Lee, C. R., Grodzinsky, A. J., Hsu, H. P., Martin, S. D., Spector, M. (2000). Effects of harvest and selected cartilage repair procedures on the physical and biochemical properties of articular cartilage in the canine knee. *J Orthop Res*, 18 (5), 790 – 799.
- 146 Lee, C.-L., Huang, M.-H., Chai, C.-Y., Chen, C.-H., Su, J.-Y., Tien, Y.-C. (2008). The validity of in vivo ultrasonographic grading of osteoarthritic femoral condylar cartilage: a comparison with in vitro ultrasonographic and histologic gradings. *Osteoarthritis Cartilage*, 16 (3), 352 – 358.
- 147 Légaré, A., Garon, M., Guardo, R., Savard, P., Poole, A. R., Buschmann, M. D. (2002). Detection and analysis of cartilage degeneration by spatially resolved streaming potentials. *J Orthop Res*, 20 (4), 819 – 826.
- 148 Li, F., Su, Y., Wang, J., Wu, G., Wang, C. (2010). Influence of dynamic load on friction behavior of human articular cartilage, stainless steel and polyvinyl alcohol hydrogel as artificial cartilage. *J Mater Sci: Mater Med*, 21 (1), 147 – 154.
- 149 Li, L. P., Buschmann, M. D., Shirazi-Adl, A. (2003). Strain-rate Dependent Stiffness of Articular Cartilage in Unconfined Compression. *J Biomech Eng*, 125 (2), 161 – 168.
- 150 Li, L. P., Herzog, W. (2006). Arthroscopic evaluation of cartilage degeneration using indentation testing—Influence of indenter geometry. *Clin Biomech*, 21 (4), 420 – 426.
- 151 Li, L. P., Herzog, W., Korhonen, R. K., Jurvelin, J. S. (2005). The role of viscoelasticity of collagen fibers in articular cartilage: axial tension versus compression. *Med Eng Phys*, 27 (1), 51 – 57.
- 152 Li, L. P., Shirazi-Adl, A. (2000). A fibril reinforced nonhomogeneous poroelastic model for articular cartilage: inhomogeneous response in unconfined compression. *J Biomech*, 33, 1533 – 1541.
- 153 Li, L.P., Soulhat, J., Buschmann, M.D., Shirazi-Adl, A. (1999). Nonlinear analysis of cartilage in unconfined ramp compression using a fibril reinforced poroelastic model. *Clin Biomech*, 14 (9), 673 – 682.
- 154 Link, T. M. (2011). Cartilage imaging: Significance, techniques, and new developments. New York: Springer.
- 155 Little, C. J. (2012). Fabrication of composite scaffolds impregnated with an optimized fibrin-alginate hydrogel for cartilage tissue engineering. (Dissertation). University of Saskatchewan.

- 156 Little, C.B., Smith, M.M., Cake, M.A., Read, R.A., Murphy, M.J., Barry, F.P. (2010). The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in sheep and goats. *Osteoarthritis Cartilage*, 18 (3), 80 – 92.
- 157 Loparic, M., Wirz, D., Daniels, A. U., Raiteri, R., VanLandingham, M. R., Guex, G., Martin, I., Aebi, U., Stolz, M. (2010). Micro- and nanomechanical analysis of articular cartilage by indentation-type atomic force Microscopy: Validation with a Gel-Microfiber Composite. *Biophys J*, 98 (11), 2731 – 2740.
- 158 Lu, M. H., Zheng, Y.P. (2004). Indentation test of soft tissues with curved substrates: A finite element study. *Med Biol Eng Comput*, 42 (4), 535 – 540.
- 159 Lu, X. L., Mow, V. C. (2008). Biomechanics of articular cartilage and determination of material properties. *Med Sci Sports Exerc*, 40 (2), 193 – 199.
- 160 Lu, X. L., Sun, D. N., Guo, X. E., Chen, F. H., Lai, W. M., Mow, V. C. (2004). Indentation determined mechanochemical properties and fixed charge density of articular cartilage. *Ann Biomed Eng*, 32 (3), 370 – 379.
- 161 Lu, X. L., Wan, L. Q., Edward Guo, X., Mow, V. C. (2010). A linearized formulation of triphasic mixture theory for articular cartilage, and its application to indentation analysis. *J Biomech*, 43 (4), 673 – 679.
- 162 Lu, Y., Wang, W. (2008). Interaction between the interstitial fluid and the extracellular matrix in confined indentation. *J Biomech Eng*, 130 (4), 041011-1 - 041011-10.
- 163 Lüllmann-Rauch, R. (2012). *Taschenlehrbuch Histologie*. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag.
- 164 Lyyra, T., Kiviranta, I., Väätäinen, U., Helminen, H. J., Jurvelin, J. S. (1999). In vivo characterization of indentation stiffness of articular cartilage in the normal human knee. *J Biomed Mater Res*, 48 (4), 482 – 487.
- 165 Lyyra-Laitinen, T., Niinimäki, M., Töyräs, J., Lindgren, R., Kiviranta, I., Jurvelin, J. S. (1999). Optimization of the arthroscopic indentation instrument for the measurement of thin cartilage stiffness. *Phys Med Biol*, 44 (10), 2511 – 2524.
- 166 Maier, D., Braeun, K., Steinhäuser, E., Ueblacker, P., Oberst, M., Kreuz, P. C., Roos, N., Martinek, V., Imhoff, A. B. (2007). In vitro analysis of an allogenic scaffold for tissue-engineered meniscus replacement. *J Orthop Res*, 25 (12), 1598 – 1608.
- 167 Mak, A. F., Lai, W. M., Mow, V. C. (1987). Biphasic indentation of articular cartilage— I. Theoretical analysis. *J Biomech*, 20 (7), 703 – 714.
- 168 Mankin, H. J., Dorfman, H., Lippiello, L., Zarins, A. (1971). Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*, 53 (3), 523 – 537.
- 169 Mansour, J. M. (2003). Biomechanics of Cartilage. In C. A. Oatis (Ed.), *Kinesiology: The Mechanics and Pathomechanics of Human Movement* (pp. 66-79) Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- 170 Mansour, J. M., Welter, J. F. (2013). Multimodal evaluation of tissue-engineered cartilage. *J Med Biol Eng*, 33 (1), 1 – 16.
- 171 Maroudas, A. (1968). Physicochemical properties of cartilage in the light of ion exchange theory. *Biophys J*, 8 (5), 575 – 595.
- 172 Maroudas, A. (1976). Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage. *Nature*, 260 (5554), 808 – 809.
- 173 Maroudas, A. (1976). Transport of solutes through cartilage: permeability to large molecules. *J Anat*, 122 (2), 335 – 347.
- 174 Maroudas, A., Bayliss, M. T., Venn, M. F. (1980). Further studies on the composition of human femoral head cartilage. *Ann Rheum Dis*, 39 (5), 514 – 523.
- 175 Maroudas, A., Bullough, P., Swanson, S.A.V., Freeman, M.A.R. (1968). The Permeability of articular Cartilage. *J Bone Joint Surg Br*, 50 (1), 166 – 177.
- 176 Maroudas, A., Evans, H., Almeida, L. (1973). Cartilage of the hip joint: Topographical variation of glycosaminoglycan content in normal and fibrillated tissue. *Ann Rheum Dis*, 32 (1), 1 – 9.
- 177 Maroudas, A., Venn, M. (1977). Chemical composition and swelling of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage: II. Swelling. *Ann Rheum Dis*, 36 (5), 399 – 406.

- 178 Matzar, S. J., van Tiel, J., Gold, G. E., Oei, H. G. (2013). Quantitative MRI techniques of cartilage composition. *Quant Imaging Med Surg*, 3 (3), 162 – 174.
- 179 McDevitt, C. A., Muir, H. (1976). Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. *J Bone Joint Surg Am*, 58 (1), 94 – 101.
- 180 McKeon, B. P., Bono, J. V., Richmond, J. C. (2009). *Knee arthroscopy*. New York, London: Springer.
- 181 McLeod, M. A., Wilusz, R. E., Guilak, F. (2013). Depth-dependent anisotropy of the micromechanical properties of the extracellular and pericellular matrices of articular cartilage evaluated via atomic force microscopy. *J Biomech*, 46 (3), 586 – 592.
- 182 Meachim, G. (1972). Light microscopy of Indian ink preparations of fibrillated cartilage. *Ann Rheum Dis*, 31 (6), 457 – 464.
- 183 Miller, G.J., Morgan, E.F. (2010). Use of microindentation to characterize the mechanical properties of articular cartilage: comparison of biphasic material properties across length scales. *Osteoarthritis Cartilage*, 18 (8), 1051 – 1057.
- 184 Modest, V.E., Murphy, M.C., Mann, R.W. (1989). Optical verification of a technique for in situ ultrasonic measurement of articular cartilage thickness. *J Biomech*, 22 (2), 171 – 176.
- 185 Mononen, M.E., Mikkola, M.T., Julkunen, P., Ojala, R., Nieminen, M.T., Jurvelin, J.S., Korhonen, R.K. (2012). Effect of superficial collagen patterns and fibrillation of femoral articular cartilage on knee joint mechanics—A 3D finite element analysis. *J Biomech*, 45 (3), 579 – 587.
- 186 Moutos, F. T., Freed, L. E., Guilak, F. (2007). A biomimetic three-dimensional woven composite scaffold for functional tissue engineering of cartilage. *Nat Mater*, 6 (2), 162 – 167.
- 187 Moutos, F. T., Guilak, F. (2010). Functional properties of cell-seeded three-dimensionally woven poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds for cartilage tissue engineering. *Tissue Eng Part A*, 16 (4), 1291 – 1301.
- 188 Mow, V. C., Ateshian, G. A., Lai, W. M., Gu, W. Y. (1998). Effects of fixed charges on the stress–relaxation behavior of hydrated soft tissues in a confined compression problem. *Int J Solids Struct*, 35 (34-35), 4945 – 4962.
- 189 Mow, V. C., Gibbs, M. C., Lai, W. M., Zhu, W. B., Athanasiou, K. A. (1989). Biphasic indentation of articular cartilage—II. A numerical algorithm and an experimental study. *J Biomech*, 22 (8-9), 853 – 861.
- 190 Mow, V. C., Guo, X. E. (2002). Mechano-electrochemical properties of articular cartilage: Their Inhomogeneities and Anisotropies. *Annu Rev Biomed Eng*, 4 (1), 175 – 209.
- 191 Mow, V. C., Holmes, M. H., Michael Lai, W. (1984). Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: A review. *J Biomech*, 17 (5), 377 – 394.
- 192 Mow, V. C. und Huijskes, R. (2005). *Basic orthopaedic biomechanics & mechanobiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- 193 Mow, V. C., Kuei, S. C., Lai, W. M., Armstrong, C. G. (1980). Biphasic creep and stress relaxation of articular cartilage in compression: theory and experiments. *J Biomech Eng*, 102 (1), 74 – 84.
- 194 Muir, H. (1977). Heberden Oration, 1976. Molecular approach to the understanding of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis*, 36 (3), 199 – 208.
- 195 Narmoneva, D. A., Cheung, H. S., Wang, J. Y., Howell, D. S., Setton, L. A. (2002). Altered swelling behavior of femoral cartilage following joint immobilization in a canine model. *J Orthop Res*, 20 (1), 83 – 91.
- 196 Narmoneva, D. A., Wang J. Y., Setton, L. A. (2001). A noncontacting method for material property determination for articular cartilage from osmotic loading. *Biophys J*, 81 (6), 3066 – 3076.
- 197 Nieminen, H. J., Töyräs, J., Rieppo, J., Nieminen, M. T., Hirvonen, J., Korhonen, R., Jurvelin, J. S. (2002). Real-time ultrasound analysis of articular cartilage degradation in vitro. *Ultrasound Med Biol*, 28 (4), 519 – 525.
- 198 Nieminen, M. T., Rieppo, J., Töyräs, J., Hakumäki, J. M., Silvennoinen, J., Hyttinen, M. M., Helminen, H. J., Jurvelin, J. S. (2001). T2 relaxation reveals spatial collagen archi-

- ture in articular cartilage: A comparative quantitative MRI and polarized light microscopic study. *Magn Reson Med*, 46 (46), 487 – 493.
- 199 Nissi, M., Rieppo, J., Töyräs, J., Laasanen, M., Kiviranta, I., Jurvelin, J., Nieminen, M. (2006). T2 relaxation time mapping reveals age- and species-related diversity of collagen network architecture in articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 14 (12), 1265 – 1271.
- 200 O'Connell, G. D., Jacobs, N. T., Sen, S., Vresilovic, E. J., Elliott, D. M. (2011). Axial creep loading and unloaded recovery of the human intervertebral disc and the effect of degeneration. *J Mech Beha Biomed Mater*, 4 (7), 933 – 942.
- 201 Oakley, S., Lassere, M. N., Portek, I., Szomor, Z., Ghoshi, P., Kirkham, B. W., Murrell, G. A. C., Wulf, S., Appleyard, R. C. (2004). Biomechanical, histologic and macroscopic assessment of articular cartilage in a sheep model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 12 (8), 667 – 679.
- 202 Obeid, E.M.H., Adams, M. A., Newman, J. H. (1994). Mechanical properties of articular cartilage in knees with unicompartmental osteoarthritis. *J Bone Joint Surg Am*, 76 (2), 315 – 319.
- 203 Oertel, H., JR. (2008). *Bioströmungsmechanik: Grundlagen, Methoden und Phänomene*. Wiesbaden: Vieweg +Teubner.
- 204 Oosterveld, F. G. J., Rasker J. J., Jacobs, J. W. G., Overmars, H. J. A. (1992). The effect of local heat and cold therapy on the intraarticular and skin surface temperature of the knee. *Arthritis Rheum*, 35 (2), 146 – 151.
- 205 Outerbridge, R. E. (1961). The etiology of chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg Br*, 43 B (4), 752 – 757.
- 206 Palmoski, M. J., Brandt, K. D. (1984). Effects of static and cyclic compressive loading on articular cartilage plugs in vitro. *Arthritis Rheum*, 27 (6), 675 – 681.
- 207 Park, S., Ateshian, G. A. (2006). Dynamic response of immature bovine articular cartilage in tension and compression, and nonlinear viscoelastic modeling of the tensile response. *J Biomech Eng*, 128 (4), 623 – 630.
- 208 Park, S., Hung, C. T., Ateshian, G. A. (2004). Mechanical response of bovine articular cartilage under dynamic unconfined compression loading at physiological stress levels. *Osteoarthritis Cartilage*, 12 (1), 65 – 73.
- 209 Park, S., Nicoll, S. B., Mauck, R. L., Ateshian, G. A. (2008). Cartilage mechanical response under dynamic compression at physiological stress levels following collagenase digestion. *Ann Biomed Eng*, 36 (3), 425 – 434.
- 210 Peretti, G. M., Randolph, M. A., Zaporozhan V., Bonassar, L. J., Xu. J. W., Fellers, J. C., Yaremchuk, M. J. (2001). A biomechanical analysis of an engineered cell-scaffold implant for cartilage repair. *Ann Plast Surg*, 46 (1), 533 – 537.
- 211 Poole, C. A. (1997). Articular cartilage chondrons: form, function and failure. *J Anat*, 191 (1), 1 – 13.
- 212 Pritzker, K. P. H., Gay, S., Jimenez, S. A., Ostergaard, K., Pelletier, J.-P., Revell, P. A., Salter, D., van den Berg, W. B. (2006). Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. *Osteoarthritis Cartilage*, 14 (1), 13 – 29.
- 213 Rabenberg, M. (2013). *Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Arhrose*. Berlin: Robert-Koch-Institut.
- 214 Radin, E. L., Paul, I. L., Lowy, M. (1970). A Comparison of the Dynamic Force Transmitting Properties of Subchondral Bone and Articular. *J Bone Joint Surg Am*, 52 (3), 444 – 456.
- 215 Roberts, S., Weightman, B., Urban, J., Chappell, D. (1986). Mechanical and biochemical properties of human articular cartilage in osteoarthritic femoral heads and in autopsy specimens. *J Bone Joint Surg Am*, 68 (2), 278 – 288.
- 216 Rogers, B. A., Murphy, C. L., Cannon, S. R., Briggs, T. W. R. (2006). Topographical variation in glycosaminoglycan content in human articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*, 88 (12), 1670 – 1674.
- 217 Rother, B. (1995). Effekte der Indentergeometrie und innerer Materialspannungen auf die Ergebnisse von Kraft-Eindringtiefe-Messungen. *Mat-wiss u Werkstofftech*, 26 (9), 477 – 482.

- 218 Salter, D. M. (1998). The tissues we deal with II: Cartilage. *Current Orthopaedics*, 12 (4), 251 – 257.
- 219 Sandmann, G. H., Adamczyk, C., Garcia, E. G., Doebele, S., Buettner, A., Milz, S., Imhoff, A. B., Vogt, S., Burgkart, R., Tischer, T. (2013). Biomechanical comparison of menisci from different species and artificial constructs. *BMC Musculoskelet Disord*, 14, 1 – 8.
- 220 Sandmann, G. H., Eichhorn, S., Vogt, S., Adamczyk, C., Aryee, S., Hoberg, M., Milz, S., Imhoff, A. B., Tischer, T. (2009). Generation and characterization of a human acellular meniscus scaffold for tissue engineering. *J Biomed Mater Res*, 91 (2), 567 – 574.
- 221 Sauerland, K., Raiss, R. X., Steinmeyer, J. (2003). Proteoglycan metabolism and viability of articular cartilage explants as modulated by the frequency of intermittent loading. *Osteoarthritis Cartilage*, 11 (5), 343 – 350.
- 222 Sauerland, K., Steinmeyer, J. (2007). Intermittent mechanical loading of articular cartilage explants modulates chondroitin sulfate fine structure. *Osteoarthritis Cartilage*, 15 (12), 1403 – 1409.
- 223 Sauerschnig, M., Stolberg-Stolberg, J., Schulte, A., Salzmann, G. M., Perka, C., Dinybil, C. J. (2014). Diverse expression of selected cytokines and proteinases in synovial fluid obtained from osteoarthritic and healthy human knee joints. *Eur J Med Res*, 19 (65), 1 – 6.
- 224 Scapino, R. P., Canham, P. B., Finlay, H. M., Mills, D. K. (1996). The behaviour of collagen fibres in stress relaxation and stress distribution in the jaw-joint disc of rabbits. *Arch Oral Biol*, 41 (Vol. 41), 1039 – 1052.
- 225 Schinagl, R. M., Gurskis, D., Chen, A. C., Sah, R. L. (1997). Depth-dependent confined compression modulus of full-thickness bovine articular cartilage. *J Orthop Res*, 15 (4), 499 – 506.
- 226 Schmidt-Rohlfing, B., Gavenis, K., Erli, H. J., Wiesemann, U., Schneider, U. (2004). Biomechanische Testung einer neuen Trägermatrix für die Kultivierung von Chondrozyten. *Z Orthop Ihre Grenzgeb*, 142 (3), 350 – 357.
- 227 Schünke, M. (2000). Funktionelle Anatomie - Topographie und Funktion des Bewegungssystems. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag.
- 228 Setton, L. A., Elliott, D. M., Mow, V. C. (1999). Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis Cartilage*, 7 (1), 2 – 14.
- 229 Setton, L. A., Zhu, W., Mow, V. C. (1993). The biphasic poroviscoelastic behavior of articular cartilage: Role of the surface zone in governing the compressive behavior. *J Biomech*, 26 (4-5), 581 – 592.
- 230 Sharma, G., Saxena, R. K., Mishra, P. (2007). Differential effects of cyclic and static pressure on biochemical and morphological properties of chondrocytes from articular cartilage. *Clin Biomech*, 22 (2), 248 – 255.
- 231 Sharpe, W. N. (2008). *Springer Handbook of Experimental Solid Mechanics*. New York: Springer.
- 232 Shelton, J. C., Bader, D. L., Lee, D. A. (2003). Mechanical conditioning influences the metabolic response of cell-seeded constructs. *Cells Tissues Organs*, 175 (3), 140 – 150.
- 233 Shepherd, D. E. T., Seedhom, B. B. (1997). A technique for measuring the compressive modulus of articular cartilage under physiological loading rates with preliminary results. *Proc Inst Mech Eng H*, 211 (2), 155 – 165.
- 234 Shepherd, D. E. T., Seedhom, B. B. (1999). Thickness of human articular cartilage in joints of the lower limb. *Ann Rheum Dis*, 58 (1), 27 – 34.
- 235 Shieh, A. C., Athanasiou, K. A. (2006). Biomechanics of single zonal chondrocytes. *J Biomech*, 39 (9), 1595 – 1602.
- 236 Singh, M., Detamore, M. S. (2009). Stress relaxation behavior of mandibular condylar cartilage under high-strain compression. *J Biomech Eng*, 131 (6), 061008-1 - 061008-5.
- 237 Sobotta, J. und Putz, R. (2007). *Anatomie des Menschen: Der komplette Atlas in einem Band: allgemeine Anatomie, Bewegungsapparat, innere Organe, Neuroanatomie*. München, Jena: Elsevier, Urban und Fischer.

- 238 Soltz, M. A., Ateshian, G. A. (2000). A conewise linear elasticity mixture model for the analysis of tension-compression nonlinearity in articular cartilage. *J Biomech Eng*, 122 (6), 576 – 586.
- 239 Song, Y., Greve, J. M., Carter, D. R., Koo, S., Giori, N. J. (2006). Articular cartilage MR imaging and thickness mapping of a loaded knee joint before and after meniscectomy. *Osteoarthritis Cartilage*, 14 (8), 728 – 737.
- 240 Song, Y., Greve, J.M., Carter, D.R., Giori, N.J. (2008). Meniscectomy alters the dynamic deformational behavior and cumulative strain of tibial articular cartilage in knee joints subjected to cyclic loads. *Osteoarthritis Cartilage*, 16 (12), 1545 – 1554.
- 241 Spahn, G., Wittig, R. (2003). Spannungs- und Bruchverhalten des gesunden Gelenkknorpels unter axialer Belastung. Eine biomechanische Untersuchung. *Zentralbl Chir*, 128 (1), 78 – 82.
- 242 Stannard, J. P., Cook, J. L., und Farr, J. (2013). Articular cartilage injury of the knee: Basic science to surgical repair. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag.
- 243 Steinmeyer, J., Knue, S., Raiss, R. X., Pelzer, I. (1999). Effects of intermittently applied cyclic loading on proteoglycan metabolism and swelling behaviour of articular cartilage explants. *Osteoarthritis Cartilage*, 7 (2), 155 – 164.
- 244 Stockwell, R. A., Billingham, M. E. J., Muir, H. (1983). Ultrastructural changes in articular cartilage after experimental section of the anterior cruciate ligament of the dog knee. *J Anat*, 132 (2), 425 – 439.
- 245 Stokes, I. A. F., Laible, J. P., Gardner-Morse, M. G., Costi, J. J., Iatridis, J. C. (2011). Refinement of elastic, poroelastic, and osmotic tissue properties of intervertebral disks to analyze behavior in Compression. *Ann Biomed Eng*, 39 (1), 122 – 131.
- 246 Stolberg-Stolberg, J. A., Furman, B. D., Garrigues, N. W., Lee, J., Pisetsky, D. S., Stearns, N. A., DeFrate, L. E., Guilak, F., Olson, S. A. (2013). Effects of cartilage impact with and without fracture on chondrocyte viability and the release of inflammatory markers. *J Orthop Res*, 31 (8), 1283 – 1292.
- 247 Suh, J.-K., Li, Z., Woo, S. L.-Y. (1995). Dynamic behavior of a biphasic cartilage model under cyclic compressive loading. *J Biomech*, 28 (4), 357 – 364.
- 248 Suh, J.-K. F., Youn, I., Fu, F. H. (2001). An in situ calibration of an ultrasound transducer. *J Biomech*, 34 (10), 1347 – 1353.
- 249 Sun, D. N., Guo X. E., Likhitanichkul, Lai, W. M., Mow, V. C. (2004). The influence of the fixed negative charges on mechanical and electrical behaviors of articular cartilage under unconfined compression. *J Biomech Eng*, 126 (1), 6 – 16.
- 250 Swann, A. C., Seedhom, B. B. (1993). The stiffness of normal articular cartilage and the predominant acting stress levels: Implications for the aetiology of osteoarthrosis. *Br J Rheumatol*, 32 (1), 16 – 25.
- 251 Szarko, M., Muldrew, K., Bertram, J. E. (2010). Freeze-thaw treatment effects on the dynamic mechanical properties of articular cartilage. *BMC Musculoskelet Disord*, 11 (231), 1 – 8.
- 252 Thambyah, A. (2007). Contact stresses in both compartments of the tibiofemoral joint are similar even when larger forces are applied to the medial compartment. *Knee*, 14 (4), 336 – 338.
- 253 Thambyah, A., Goh, J. C.H., De, S. D. (2005). Contact stresses in the knee joint in deep flexion. *Med Eng Phys*, 27 (4), 329 – 335.
- 254 Torzilli, P. A., Grigiene, R., Huang, C., Friedman, S. M., Doty, S. B., Boskey, A. L., Lust, G. (1997). Characterization of cartilage metabolic response to static and dynamic stress using a mechanical explant test system. *J Biomech*, 30 (1), 1 – 9.
- 255 Torzilli, P. A., Mow, V. C. (1976). On the fundamental fluid transport mechanisms through normal and pathological articular cartilage during function: II. The analysis, solution and conclusions. *J Biomech*, 9 (9), 587 – 606.
- 256 Töyräs, J., Korhonen, R. K., Voutilainen, T., Jurvelin, J. S., Lappalainen, R. (2005). Improvement of arthroscopic cartilage stiffness probe using amorphous diamond coating. *J Biomed Mater Res*, 73B (1), 15 – 22.

- 257 Töyräs, J., Rieppo, J., Nieminen, M. T., Helminen, H. J., Jurvelin, J. S. (1999). Characterization of enzymatically induced degradation of articular cartilage using high frequency ultrasound. *Phys. Med. Biol.*, 44 (11), 2723 – 2733.
- 258 Treppo, S., Koeppe, H., Quan, E. C., Cole, A. A., Kuettner, K. E., Grodzinsky, A. J. (2000). Comparison of biomechanical and biochemical properties of cartilage from human knee and ankle pairs. *J Orthop Res*, 18 (5), 739 – 748.
- 259 van der Veen, A. J., van Dieën, J. H., Nadort, A., Stam, B., Smit, T. H. (2007). Intervertebral disc recovery after dynamic or static loading in vitro: Is there a role for the endplate? *J Biomech*, 40 (10), 2230 – 2235.
- 260 Venn, M., Maroudas, A. (1977). Chemical composition and swelling of normal and osteoarthrotic femoral head cartilage: I. Chemical composition. *Ann Rheum Dis*, 36 (2), 121 – 129.
- 261 Wang, C. C.-B., Hung, C. T., Mow, V. C. (2001). An analysis of the effects of depth-dependent aggregate modulus on articular cartilage stress-relaxation behavior in compression. *J Biomech*, 34 (1), 75 – 84.
- 262 Wang, Q., Zheng, Y. P., Leung, G., Lam, W. L., Guo, X., Lu, H. B. Qin, L., Mak, A. F. T. (2008). Altered osmotic swelling behavior of proteoglycan-depleted bovine articular cartilage using high frequency ultrasound. *Phys Med Biol*, 53 (10), 2537 – 2552.
- 263 Wang, Q., Zheng, Y.P., Niu H. J., Mak, A. F. T. (2007). Extraction of mechanical properties of articular cartilage from osmotic swelling behavior monitored using high frequency ultrasound. *J Biomech Eng*, 129 (3), 413 – 422.
- 264 Warner, M. D., Taylor, W. R., Clift, S. E. (2001). Finite element biphasic indentation of cartilage: A comparison of experimental indenter and physiological contact geometries. *Proclnst Mech Eng H*, 215 (5), 487 – 496.
- 265 Wheaton, A. J., Borthakur, A., Shapiro, E. M., Regatte, R. R., Akella, S. V. S., Kneeland, J. B., Reddy, R. (2004). Proteoglycan loss in human knee cartilage: quantitation with sodium MR Imaging—feasibility study. *Radiology*, 231 (3), 900 – 905.
- 266 Wilson, W., van Donkelaar, C. C., van Rietbergen, B., Huiskes, R. (2005). A fibril-reinforced poroviscoelastic swelling model for articular cartilage. *J Biomech*, 38 (6), 1195 – 1204.
- 267 Wirth, C. J. (2002). *Orthopädie und orthopädische Chirurgie*. Stuttgart [u.a.]: Georg Thieme Verlag.
- 268 Wolf, A., Ackermann, B., Steinmeyer, J. (2006). Collagen synthesis of articular cartilage explants in response to frequency of cyclic mechanical loading. *Cell Tissue Res*, 327 (1), 155 – 166.
- 269 Woolf, A. D., Pfleger, B. (2003). Burden of major musculoskeletal conditions. *Bulletin of the World Health Organization*, 81 (9), 646 – 656.
- 270 Wu, J. Z., Herzog, W. (2002). Elastic anisotropy of articular cartilage is associated with the microstructures of collagen fibers and chondrocytes. *J Biomech*, 35 (7), 931 – 942.
- 271 Xia, Y. (2013). MRI of articular cartilage at microscopic resolution. *Bone Joint Res*, 2 (1), 9 – 17.
- 272 Yao, J. Q., B.B. Seedhom. (1999). Ultrasonic measurement of the thickness of human articular cartilage in situ. *Rheumatology*, 38 (12), 1269 – 1271.
- 273 Yoon, C.-H., Kim, H.-S., Ju, J. H., Jee, W.-H., Park, S.-H., Kim, H.-Y. (2008). Validity of the sonographic longitudinal sagittal image for assessment of the cartilage thickness in the knee osteoarthritis. *Clin Rheumatol*, 27 (12), 1507 – 1516.
- 274 Zhang, L., Szeri, A. Z. (2008). Transport of neutral solute in articular cartilage: Effect of microstructure anisotropy. *J Biomech*, 41 (2), 430 – 437.

### Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Rainer Burgkart, der mich während meiner Promotion durch seine Hingabe an die Wissenschaft und Forschung sowie seine Menschlichkeit stets von Neuem begeistern konnte.

Zudem danke ich meinen Betreuern, Dr. Josef Stolberg-Stolberg, für seine zielorientierte und gewinnbringende Mithilfe sowie Dipl. Ing. Peter Föhr, der mir mit seinem wertvollen technischen Rat jederzeit zur Seite stand.

Zuletzt geht mein herzlicher Dank an die Mitarbeiter des Labors für Biomechanik sowie an meine Freunde und Familie für ihre Unterstützung.

Gewidmet meiner Schwester.