

Aus dem
Lehrstuhl für Experimentelle Orthopädie und Arthroseforschung
Universität des Saarlandes
Prof. Dr. med. H. Madry

**ANALYSE DER RÄUMLICHEN
OSTEOCHONDRALEN HETEROGENITÄT BEI
FORTGESCHRITTENER HUMANER
GONARTHROSE - ZUSAMMENHANG ZWISCHEN
MIKROSTRUKTURELLEN VERÄNDERUNGEN
VON GELENKKNORPEL UND
SUBCHONDRALEM KNOCHEN MIT DER
BEINACHSE**

DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES GRADES EINES DOKTORS DER MEDIZIN

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2021

vorgelegt von Sophie Haberkamp
geboren am 17.06.1988 in Herdecke

Tag der Promotion: 15.07.2021

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Henning Madry

Prof. Thomas Tschernig

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	I
2	Zusammenfassung	1
3	Abstract	3
4	Einleitung.....	5
4.1	Überblick und Problematik.....	5
4.2	Anatomie und Funktion eines gesunden Kniegelenkes	6
4.3	Anatomie der osteochondralen Einheit	7
4.4	Arthrose	9
4.4.1	Ätiologie und Pathogenese	9
4.4.2	Epidemiologie	12
4.4.3	Risikofaktoren	13
4.4.4	Klinik	14
4.4.5	Ökonomische Betrachtungen	15
4.5	Ziele der Studie	15
4.6	Hypothese	16
5	Material und Methoden.....	17
5.1	Material.....	17
5.1.1	Geräte.....	17
5.1.2	Verwendete Materialien	18
5.1.3	Verwendete Chemikalien.....	18
5.1.4	Puffer und Lösungen	20
5.1.5	Biologische Materialien.....	22
5.1.6	Software	22
5.2	Methodik.....	23
5.2.1	Studiendesign	23
5.2.2	Gewinnung der Proben.....	24
5.2.3	Probenverarbeitung	25
5.2.4	Hochauflösendes Mikro-CT	26

5.2.5	Histologie	28
5.2.6	Biochemie	33
5.2.7	Auswertung der Röntgenbilder	36
5.2.8	Deskriptive topographische Analyse	39
5.2.9	Statistische Analysen	40
6	Ergebnisse	42
6.1	Histologische Auswertung	42
6.1.1	Einzelne topographische Regionen	42
6.1.2	Mediales Plateau versus laterales Plateau	43
6.1.3	Submeniskal versus zentral	46
6.2	Mikro-CT-Auswertung	47
6.2.1	Subchondrale Knochenplatte	47
6.2.2	Subartikuläre Spongiosa	50
6.3	Biochemische Auswertung	55
6.3.1	Vergleich einzelner Regionen	55
6.3.2	Vergleich mediales versus laterales Plateau	57
6.3.3	Vergleich submeniskale versus zentrale Regionen	57
6.4	Auswertung im klinischen Kontext	58
6.4.1	Präoperative Kniebeweglichkeit	59
6.4.2	Auswertung der nativradiologischen Ganzbeinaufnahmen	59
6.4.3	Grad der Varusfehlstellung	59
6.5	Korrelationsanalysen	66
6.5.1	Histologische Bewertungssysteme	66
6.5.2	Mikro-CT-Auswertung: Subchondrale Knochenplatte	67
6.5.3	Mikro-CT-Auswertung: Subartikuläre Spongiosa	70
6.5.4	Biochemische Auswertung	74
6.5.5	Klinische Daten	77
7	Diskussion	80
7.1	Histologische Auswertung	80
7.2	Mikro-CT-Auswertung	82

7.2.1	Subchondrale Knochenplatte.....	82
7.2.2	Subartikuläre Spongiosa.....	85
7.3	Biochemische Auswertung	87
7.4	Zusammenhang mit klinisch-relevanten Daten.....	88
7.5	Korrelationen	91
7.5.1	Histologische Bewertungssysteme / Mikro-CT subchondrale Knochenplatte	92
7.5.2	Histologische Bewertungssysteme / Mikro-CT subartikuläre Spongiosa	94
7.5.3	Biochemische Parameter / Mikro-CT-Parameter	94
7.6	Grenzen der Arbeit	94
7.7	Ausblick	95
8	Anhang.....	96
8.1	Abbildungsverzeichnis	96
8.2	Tabellenverzeichnis.....	98
8.3	Abkürzungsverzeichnis.....	100
9	Literaturverzeichnis	103
10	Danksagung	117
11	Lebenslauf	118
12	Publikationen	119
12.1	Originalarbeiten.....	119

2 Zusammenfassung

HINTERGRUND:

Diese Arbeit analysiert und korreliert räumlich-strukturelle Eigenschaften der osteochondralen Einheit des medialen und lateralen humanen Tibiaplateaus bei Patienten mit fortgeschrittener Gonarthrose. Hierbei wurde ein besonderer Fokus auf topographische Assoziationen sowie den klinisch relevanten Zusammenhang mit der Beinachse gelegt. Folgende Hypothesen wurden überprüft: (1) Arthrotische Veränderungen des hyalinen Gelenkknorpels sind im subchondralen Knochen reflektiert. (2) Veränderungen im Bereich des medialen und lateralen Tibiaplateaus korrelieren miteinander. (3) Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Beinachsenfehlstellung und dem Grad der Arthrose.

METHODEN:

In standardisierter Weise wurden während der Implantation von Kniegelenks-Totalendoprothesen explantierte Tibiaplateaus (n = 10) in jeweils 10 Subregionen der osteochondralen Einheit des medialen und lateralen humanen Tibiaplateaus unterteilt. Hierbei wurde in jeder Subregion jeweils ein anteriores und posteriores Areal definiert. Aus diesen Arealen wurde biochemisch je der DNS- und Proteoglykan-Gehalt sowie der makroskopische und histologische Arthrosegrad des hyalinen Gelenkknorpels mittels zweier etablierter Bewertungssysteme bestimmt. Ebenso wurde die Mikrostruktur der subchondralen Knochenplatte und der subartikulären Spongiosa mittels Mikro-Computertomographie (Mikro-CT) analysiert. Alle Daten wurden auf topographische Zusammenhänge und Korrelationen überprüft und mit dem Grad der Beinachse sowie der radiologischen Einteilung des Arthrosegrades nach Kellgren und Lawrence in Zusammenhang gestellt.

ERGEBNISSE:

Es lag ein signifikant höherer makroskopischer und histologischer Arthrosegrad im medialen Plateau gegenüber dem lateralen Tibiaplateau vor. Die biochemische Analyse deckte medial eine signifikant niedrigere Zellzahl als lateral auf. Im medialen Tibiaplateau zeigte sich eine signifikant höhere Dicke der subchondralen Knochenplatte sowie in der subartikulären Spongiosa signifikant höhere Knochenmineraldichte, Knochenvolumenanteil und Trabekelanzahl sowie ein signifikant niedrigerer Trabekelabstand und trabekulärer Knochen-Anordnungsfaktor. Die nativradiologische Evaluation wies signifikant höhere Arthrosegrade im medialen Plateau gegenüber dem lateralen Plateau auf. Korrelationsanalysen zwischen subchondralem Knochen und hyalinem Gelenkknorpel deckten zahlreiche signifikante Zusammenhänge auf. Generell war die Schwere der Beinachsenfehlstellung mit dem Grad der Arthrose und Veränderungen des subchondralen Knochens assoziiert. Im arthrotischen Knie besteht zudem bei Varusfehlstellung ein signifikanter Unterschied zwischen den Eigenschaften des medialen und lateralen Tibiaplateaus.

SCHUSSFOLGERUNG:

Die vorliegende Arbeit zeigt die Unterschiede innerhalb 10 Subregionen des medialen und lateralen Tibiaplateaus auf. Sie deckt ebenfalls signifikante Korrelationen zwischen Veränderungen des arthrotischen Gelenkknorpels bei Gonarthrose mit Veränderungen des subchondralen Knochens auf. Die Daten beweisen außerdem, dass der subchondrale Knochen von großer Bedeutung für die Progression der Arthrose ist. Desweiteren hat eine Beinachsenfehlstellung des Patienten einen relevanten Einfluss auf den Arthrosegrad. Diese Ergebnisse zur räumlichen osteochondralen Heterogenität in Zusammenhang mit einer varischen Beinachsenfehlstellung erweitern die wissenschaftliche Basis einer therapeutischen Umverteilung der einwirkenden Last bei fortgeschrittener medialer Varusgonarthrose.

3 Abstract

OBJECTIVE:

This study analyzes and correlates the spatiotemporal characteristics of the cartilage and the subchondral bone of the medial and lateral human tibial plateau in patients with advanced osteoarthritis (OA) of the knee. A special focus was placed on topographic associations within the osteochondral unit and on the clinically relevant correlations with axial alignment. The following hypotheses were tested: (1) Osteoarthritic alterations of the hyaline articular cartilage are reflected in the subchondral bone. (2) Alterations in the medial and lateral tibia plateaus correlate with each other. (3) A correlation exists between malalignment and the degree of OA.

METHODS:

Tibial plateaus that were removed during total knee arthroplasty (n = 10) were subdivided into 10 subregions containing osteochondral units of the medial and lateral tibial plateaus in a standardized procedure. In each subregion, an anterior and posterior area was topographically specified. In these areas, DNA and proteoglycan contents, as well as the macroscopic and histological degree of OA were determined using two established scoring systems. Similarly, the microstructures of the subchondral bone plate and of the subarticular spongiosa were analyzed by micro-computed tomography (micro-CT) analyses. All data were examined for topographic associations and correlations. Data were also correlated with both the degree of malalignment and the radiological grade of OA according to the Kellgren-Lawrence classification.

RESULTS:

A significantly higher macroscopic and microscopic degree of OA was present in the medial compared to the lateral tibial plateaus. Biochemical analysis of DNA contents indicated a significantly lower cell number in the medial compared to the

lateral tibial plateaus. In the medial plateau, a significantly higher thickness of the subchondral bone plate was seen. In the subarticular spongiosa, a significantly higher bone mineral density, bone volume fraction and trabecular number and significantly lower trabecular separation and trabecular pattern factor were identified. The radiological evaluation demonstrated significantly higher degrees of OA in the medial tibial plateau than in the lateral plateau. Correlation analyses revealed numerous significant relations between subchondral bone and the cartilage. The extent of axial malalignment was associated with the degree of OA alterations of the articular cartilage and subchondral bone. In knees with varus malalignment, a significant difference between the characteristics of the medial and lateral tibial plateau exists.

CONCLUSION:

The present study demonstrates considerable differences in 10 subregions of the medial and lateral tibial plateaus. Equally important, significant correlations between changes of the articular cartilage and alterations of the subchondral bone in knee OA are revealed. Furthermore, the data underline the major importance of the subchondral bone in the progression of OA. Moreover, axial malalignment has a relevant influence on the degree of OA. These findings concerning the spatial osteochondral heterogeneity in relation with varus malalignment of the knee expand the scientific basis of therapeutic load redistribution in advanced medial knee OA.

4 Einleitung

4.1 Überblick und Problematik

Die Arthrose ist eine degenerative Erkrankung, die primär mit geschädigter Integrität des Gelenkknorpels und Veränderungen des subchondralen Knochens einhergeht [4, 5].

Alle Gelenke des menschlichen Körpers können von arthrotischen Veränderungen betroffen sein. Sehr häufig ist dabei das Kniegelenk befallen. Die Kniegelenksarthrose (Gonarthrose) ist weltweit verbreitet und die häufigste Gelenkerkrankung [6, 7]. Sie gewinnt aufgrund des demografischen Wandels und der damit steigenden Lebenserwartung in der westlichen Welt zunehmend an Bedeutung. So wird in den kommenden Jahren mit einer steigenden Inzidenz und Prävalenz gerechnet [6, 8]. Als potentiell beeinflussbare Ursachen der Gonarthrose gelten Faktoren wie Übergewicht, Gelenktraumata, starke mechanische Überlastung, Achsfehlstellung, Muskelschwäche und Meniskusläsionen. Als nicht beeinflussbare Faktoren werden das Geschlecht, Alter, ethnische Herkunft und genetische Prädisposition angesehen [9-11].

Entgegen der verbreiteten Meinung, dass die Arthrose sich ausschließlich durch eine Veränderung der Knorpeloberfläche auszeichnet, bedingt die Erkrankung eine Schädigung des gesamten Gelenks [12]. Bei der Gonarthrose kommt es neben dem Knorpelschaden auch zu Veränderungen der Synovialmembran, Bänder, Menisken und Muskeln. Insbesondere von den Veränderungen betroffen ist jedoch der subchondrale Knochen, der sich unmittelbar unterhalb des Gelenkknorpels befindet [13]. Daher kann ein arthrotischer Knorpelschaden ursächlich für eine Veränderung des subchondralen Knochens sein [14]. Gleichzeitig können Veränderungen im subchondralen Knochen einen Knorpelschaden induzieren [15-17]. So konnte gezeigt werden, dass die subchondrale Knochenplatte an Dicke zunimmt, noch bevor eine degenerative

Veränderung im Knorpel nachzuweisen ist. Dies deutet auf eine entscheidende Rolle des subchondralen Knochens in der Pathogenese der Arthrose hin [18]. Die vorliegende Arbeit stellt insbesondere die Zusammenhänge zwischen Knorpel und subchondralem Knochen im arthrotischen Kniegelenk in den Fokus.

4.2 Anatomie und Funktion eines gesunden Kniegelenkes

Das Kniegelenk (*Articulatio genus*) ist das größte Gelenk des menschlichen Körpers. Es besteht aus drei miteinander artikulierenden Knochen. Das Femur bildet mit der Tibia das Femorotibialgelenk und mit der Patella das Femoropatellargelenk. Alle Gelenke werden von einer gemeinsamen Kapsel umschlossen. Das proximale Tibiofibulargelenk setzt sich aus Tibia und dem lateral anliegenden Fibulaköpfchen zusammen. Es befindet sich in einer separaten Gelenkkapsel und führt nur kleine Gleitbewegungen durch.

Das Femorotibialgelenk stellt sich proximal aus den bikondylären walzenförmigen Femurkondylen und distal aus zwei oval vertieften Gelenkflächen des Tibiaplateaus zusammen [19]. Das Tibiaplateau hat in sagittaler Ansicht medial eine leicht konkave und lateral eine konvexe Form. Zwischen den beiden Tibiaplateaus befindet sich die nicht von Knorpel überdeckte *Eminentia intercondylaris*. Das Tibiaplateau ist außerdem um ca. 4-5° nach dorsal geneigt [20]. Die durch die Neigung entstandene Divergenz zwischen Plateau und Femurkondylen wird durch die Menisken medial und lateral ausgeglichen. Sie vergrößern die Kontaktfläche im Gelenk, gleichen die Inkongruenz der Flächen aus, puffern und verteilen den Druck gleichmäßig. Es entstehen meniskofemorale und meniskotibiale Teilgelenke. Der laterale Meniskus liegt kreisförmig und der mediale halbmondförmig dem Tibiaplateau auf. Im Gegensatz zum lateralen Meniskus ist der mediale mit der Gelenkkapsel und dem *Ligamentum collaterale mediale* verwachsen. In der Mitte der Femurkondylen befinden sich die Kreuzbänder (*Ligamentum cruciatum anterius* und *posterius*). In beinahe allen Stellungen des Kniegelenks befinden sich Anteile der Kreuzbänder unter Spannung und stellen so eine wesentliche Gelenkstabilisierung sicher. Mithilfe der

zahlreichen Mechanorezeptoren kann das Gelenk gesteuert und durch Schutzreflexe vor pathologischen Stellungen geschützt werden [21, 22]. Die beiden Seitenbänder (Ligamentum collaterale fibulare und tibiale) verbinden den Epicondylus femoris lateralis bzw. medialis mit dem Fibulaköpfchen bzw. mit der dorsomedialen Fläche des Tibiaplateaus. Sie dienen der Stabilisierung des Kniegelenkes gegenüber Varus- bzw. Valgustress.

4.3 Anatomie der osteochondralen Einheit

Der hyaline Gelenknorpel ist mesenchymalen Ursprungs. Kennzeichnend für Knorpelgewebe sind im Vergleich zu anderen Geweben eine niedrige Zelldichte und das Fehlen von Gefäßen, Nerven und Lymphgefäßen. Je nach Funktion unterscheidet sich der Knorpel in seiner Zusammensetzung zwischen Bausteinen der Grundsubstanz, Kollagenen und elastischen Fasern. Der hyaline Knorpel lässt sich in vier horizontale Zonen einteilen: Unterschieden werden eine oberflächliche Schicht (I: Lamina splendens), eine mittlere Schicht (II: Transitionalzone), eine tiefe Schicht (III: Tangentialzone) sowie die kalzifizierte Zone (IV) [23]. In Zone I finden sich spindelförmige Knorpelzellen und Kollagenfasern parallel zur Oberfläche angeordnet. Der Kollagengehalt ist hier sehr hoch, die Proteoglykankonzentration hingegen niedrig. In der Zone II präsentieren sich die Zellen abgeflacht und zu Chondronen (Zellhaufen) zusammen gelagert. In Zone III sind die Chondrozyten als Säulen senkrecht zur Oberfläche angeordnet. Zwischen den Zellen verlaufen die Kollagene als Faserbündel. Die *Tidemark* bildet die Grenze zwischen dem hyalinen Knorpel und der Zone VI, dem kalzifizierten Knorpel [13, 24]. In diesem Knorpel sind Calciumkristalle in die extrazelluläre Matrix eingelagert. Die kalzifizierte Zone geht basal in den subchondralen Knochen über [13, 25, 26]. Die Zementlinie (*cement line*) separiert den kalzifizierten Knorpel von dem darunterliegenden subchondralen Knochen [1, 26].

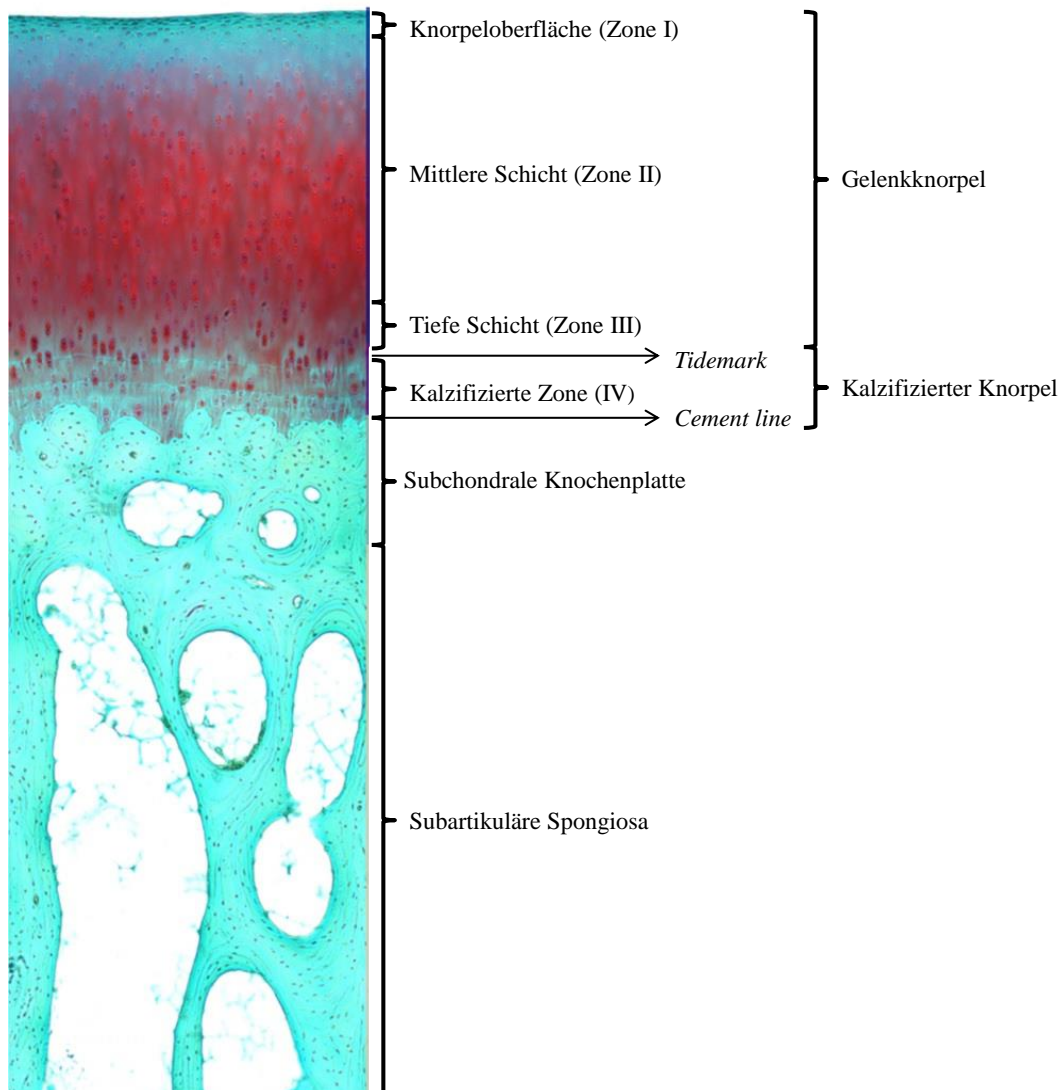


Abbildung 1: Anatomie der osteochondralen Einheit, bestehend aus hyalinem Gelenkknorpel, subchondraler Knochenplatte und subartikulärer Spongiosa (adaptiert nach [1]).

Die wichtigsten Eigenschaften des Knorpels sind die hohe Elastizität sowie die Aufnahme und Verteilung von Belastung. Makroskopisch scheint der hyaline Knorpel transparent und schimmert bläulich-weiß. Er bedeckt mit einer wenigen Millimeter dicken Schicht den subchondralen Knochen [27]. Das Knorpelgewebe besteht aus Knorpelzellen (Chondrozyten), eingebettet in eine aus Kollagenen und Proteoglykanen (Protein-Polysaccharid-Komplexe) gebildete extrazelluläre Matrix. Der hyaline Knorpel besteht überwiegend aus Typ-II-Kollagen, das ca. 50 % der Trockenmassen dieses Gewebes und ca. 95 % des gesamten Kollagens

ausmacht [28]. Außerdem finden sich noch Kollagene vom Typ V, VI, IX, X, XI, und XIV, sowie andere Makromoleküle. Gelenkknorpel enthält vor allem das Proteoglykan Aggrekan [29]. Die Proteoglykane sind über Verbindungsproteine an Hyaluronsäuremoleküle gebunden. Diese Struktur hat die Eigenschaft, besonders viel Wasser zu binden (hydrophil) und besitzt dadurch eine starke Druckfestigkeit. Während mechanischer Kompression des Knorpels entweicht das interstitielle Wasser aus der Knorpelmatrix und strömt bei Entlastung wieder zurück. Dieser Pumpmechanismus gewährleistet zum einen die Ernährung der Chondrozyten, zum anderen die Elimination von Abbauprodukten [30]. Typ-I-Kollagen weist auf das Bestehen von Faserknorpel hin. Dieser entsteht, wenn Chondrozyten zu Fibroblasten differenzieren, z.B. bei der Reparatur von Knorpelschäden. Der Reparaturknorpel weist eine deutlich geringere Belastbarkeit als der normale hyaline Knorpel auf.

4.4 Arthrose

Die Arthrose ist eine degenerative Gelenkerkrankung, die primär durch eine nicht entzündliche Zerstörung des hyalinen Gelenkknorpels und Schädigung angrenzender Strukturen charakterisiert ist. Bei der Gonarthrose kommt es durch verschiedene klinische und morphologische Faktoren zur Schädigung der knorpeligen Gelenkoberfläche und des subchondralen Knochens [13, 31, 32].

4.4.1 Ätiologie und Pathogenese

Ätiologisch wird zwischen der primären (idiopathischen) Gonarthrose und der sekundären Gonarthrose unterschieden. Bei der primären Arthrose liegen keine bekannten Ursachen vor, sondern sie versteht sich als ein degenerativer Prozess multifaktorieller, jedoch letztendlich unklarer Genese [7, 33, 34]. Die sekundäre Arthrose ist hingegen Folge eines oder mehrerer bekannter Faktoren. Ursächlich ist ein Missverhältnis zwischen Belastung und Belastbarkeit des Gelenkknorpels, welches zur Störung des Knorpelstoffwechsels mit verminderter Belastbarkeit führt. Bedeutsame Ursachen sind extraartikuläre mechanische Faktoren wie

angeborene bzw. posttraumatische Achsabweichungen, Bandinstabilitäten oder muskuläre Dysbalance sowie intraartikuläre mechanische Faktoren wie Meniskusläsionen, Osteochondrosis dissecans oder die aseptische Knochennekrose. Als weitere Ursachen kommen entzündliche Erkrankungen wie beispielsweise die bakterielle Arthritis in Betracht.

Das Kernelement der Gonarthrose ist die Degeneration des hyalinen Knorpels. Pathogenetisch kommt es nach einer anfänglichen Chondromalazie zu einem kontinuierlichen Verlust der Knorpelmatrix mit verminderter Widerstandsfähigkeit [35]. Die mechanische Belastung und biochemische Faktoren (Zytokine: Interleukin-1, TNF- α , Prostaglandine) führen zu einer Veränderung der Genexpression mit Schädigung der zellulären Homöostase. Es kommt zu einer verminderten Produktion physiologischer Matrixkomponenten (Proteoglykane, Typ-IIa-Kollagen) und zur vermehrten Produktion matrixabbauender Enzyme wie Matrixmetalloproteasen (MMP) oder Adamalysine (ADAM, ADAMT). Dieses Ungleichgewicht zwischen anabolen und katabolen Stoffwechselfvorgängen kann zur Apoptose der Chondrozyten führen [36].

Kommt es zur Aufrauhung der Oberfläche und Auffasern der darunterliegenden radiären Schicht des hyalinen Knorpels, geht die Verbundstruktur der Matrix verloren. Das abgeriebene Knorpelmaterial (Knorpeldetritus) gelangt in die Gelenkflüssigkeit und kann die sensible Synovialmembran reizen und eine Entzündungsreaktion auslösen (Begleitsynovialitis). Der Reibungswiderstand und dadurch auch die mechanische Schädigung nehmen zu, was zur Entstehung von Rissen in der Knorpelsubstanz führt. Die Reparaturmechanismen des Gelenkknorpels auf diese Schäden sind nur sehr eingeschränkt. Kleinere Knorpelschäden können mit minderwertigem Faserknorpel aufgefüllt werden. Größere Defekte führen hingegen zu einer Inkongruenz mit unregelmäßiger Druckverteilung und Spannungsspitzen an den Defekträndern, was ein Fortschreiten der Schädigung begünstigt.

Der subchondrale Knochen reagiert auf die vermehrten Druckverhältnisse mit zunehmender Mineralisierung und Obliteration der intertrabekulären Räume.

Es kommt zur subchondralen Sklerosierung [37]. Die erhöhte Dichte des Knochens kann negative mechanische Auswirkungen auf die Stoßdämpferfunktion des Knochens haben und so die Schädigung des darüberliegenden Knorpels weiter beschleunigen [13-15]. Unterhalb der Gelenkfläche kommt es zur Zystenbildung (Geröllzysten), im Übergang von Periost zu Gelenkknorpel und in der Hauptbelastungszone zur Bildung von Osteophyten (Knochenausziehungen). Der Knochen versucht die intraartikulären Druckverhältnisse durch eine Vergrößerung der Auflagefläche zu verbessern [6]. Das Vorhandensein derartig osteophytärer Ausziehungen ist ein zuverlässiges radiologisches Kriterium zur Diagnostik einer Gonarthrose [5, 38].

Die Synovialmembran kann mit einer Fibrosierung bzw. Hypertrophie reagieren. Eine vermehrte Zytokinproduktion der Synovialmembran kann wiederum die Matrixsynthese der Chondrozyten hemmen und durch ihre vorhandenen Nozizeptoren für die Schmerzsymptomatik mitverantwortlich sein. Die reaktiv vermehrte Produktion der Gelenkflüssigkeit kann zu einer zusätzlichen Bandlockerung und Instabilität führen [6].

Neuere Studien unterscheiden die arthrotischen Veränderungen der osteochondralen Einheit weiter in beginnende und fortgeschrittene Stadien der Arthrose. Im frühen Stadium der Arthrose findet ein erhöhter Knochenumbau (*remodeling*) mit einhergehendem Knochenverlust statt [37, 39]. Über eine Aktivierung der sekundären Ossifikationszentren durch subchondrale Mikrorisse (*microcracks*) kommt es zur Knochenresorption durch Osteoklasten sowie zur Knochenbildung durch Osteoblasten [40]. Der erhöhte Knochenumsatz führt zur Ausdünnung sowie zum Verlust von Festigkeit der subchondralen Knochenplatte [41, 42].

Im späten Arthrostadium ist eine Abnahme des Knochenumbaus zu beobachten mit Verdickung und Sklerosierung der subchondralen Knochenplatte sowie Zunahme des kalzifizierten Knorpels bei gleichzeitiger Abnahme der Knochenmineralisierung und Verlust des Gelenkknorpels [37, 43].

Im Kniegelenk kann zudem zwischen verschiedenen Lokalisationen der Arthrose differenziert werden. Zum einen wird zwischen der medialen Gonarthrose, die das mediale Kompartiment des femorotibialen Gelenkes betrifft, und der lateralen Gonarthrose unterschieden. Der dritte Gelenkabschnitt, das Femoropatellargelenk, kann ebenfalls betroffen sein. Eine Pangonarthrose bezeichnet eine Erkrankung aller drei Abschnitte des Knies. Bei vorhandener Valgusgonarthrose ist das laterale Kompartiment, bei der häufigeren Varusgonarthrose das mediale Kompartiment betroffen [44]. Aufgrund des Versagens der muskulären Stabilisierung kommt es oft zu einer vermehrten Belastung vorwiegend des bereits bei normalen Verhältnissen stärker beanspruchten medialen Kompartiments [45]. Die einseitige Überlastung führt zu einer Degeneration des medialen Knorpels mit Gelenkspaltverschmälerung. Es entsteht ein *Circulus vitiosus* mit der Folge einer Varusgonarthrose. Ein weiteres Fortschreiten führt schließlich zur Überdehnung des lateralen Seitenbandes sowie zur arthrosefördernden relativen Instabilität und Inkongruenz. So kann sich eine Varusgonarthrose auch bei zunächst regulärer Achsenstellung sukzessive entwickeln [46].

4.4.2 Epidemiologie

Schätzungen zur Verbreitung der Gonarthrose, die auf Grundlage epidemiologischer Studien vorgenommen werden, variieren erheblich. Typische Arthrosezeichen können im Röntgenbild schon sichtbar sein, ohne dass bei den Betroffenen Beschwerden auftreten. Genauso können arthrosebedingte Beschwerden auch ohne radiologischen Nachweis vorhanden sein [47]. Die Inzidenz der Gonarthrose wird auf jährlich 1 % der über 70-Jährigen geschätzt [7]. Nach einer Umfrage des Robert-Koch-Instituts zwischen 2003 und 2010 zum allgemeinen Vorkommen der Arthrose lag die Lebenszeitprävalenz bei Frauen im Jahre 2010 bei ca. 25 % und bei Männern bei ca. 17 %. Zwischen den Jahren 2003 und 2010 wurde ein Anstieg der Arthroseprävalenz bei Frauen um ca. 5 % und bei Männern um ca. 3 % verzeichnet [48]. Im Jahr 2000 wurden von der WHO (*World Health Organisation*) die muskuloskelettalen Erkrankungen an 3. Stelle der

DALYS-Rangliste (*disability adjusted life years* = Verlust an Lebensjahren durch Krankheit oder vorzeitigen Tod) gestellt [49]. Weiterhin gehen 80 % der arthrosebedingten Krankenhausaufenthalte mit einer Operation einher. Gemäß der Daten der Fallpauschale der DRG (*Diagnosis Related Groups*)-Statistik wurden im Jahr 2014 149.126 Knie-Totalendoprothesen (TEP)-Erstimplantationen in Deutschland durchgeführt [50]. Bei der Operation waren 17 % der Patientinnen und Patienten unter 60 Jahre alt, 72 % zwischen 60 und 79 Jahre, 12 % zwischen 80 und 89 Jahre und 0,2 % 90 Jahre alt oder älter. Zwischen 2003 und 2009 zeigte sich bei den altersstandardisierten Zahlen ein starker Anstieg der TEP-Erstimplantationen am Kniegelenk um 43 %. Diese deutliche Zunahme der Implantationen lässt sich bei näherer Betrachtung wohl nicht alleine auf den demographischen Wandel der Bevölkerung zurückführen [51]. Der Einsatz von künstlichen Kniegelenken in Deutschland 2009 pro 100.000 Einwohner lag bei mehr als 200, wohingegen der OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*)-Durchschnitt mit ca. 110 bei fast der Hälfte lag. Dies stellt eine mögliche Überversorgung in diesem Bereich zur Debatte [52].

4.4.3 Risikofaktoren

4.4.3.1 Allgemeine Risikofaktoren

Die Entstehung der Arthrose ist von multifaktorieller Genese. Ein wichtiger Risikofaktor ist die stetig älter werdende Bevölkerung. Die Prävalenz der Gonarthrose steigt mit dem Alter deutlich. Allerdings bedeutet dies nicht, dass das Alter die Bildung arthrotischer Gelenkveränderungen zwangsläufig bedingt. Ohne ungünstige Risikofaktorkonstellationen und folglich Knorpelverletzungen kann das Gelenk auch bei größerer Belastung bis ins hohe Lebensalter eine adäquate Funktionalität aufweisen. Das „Altersgelenk“ ist vom arthrotischen Gelenk durch Ausbleiben der typischen klinischen und radiologischen Anzeichen sowie Schmerzfreiheit zu unterscheiden [52, 53].

4.4.3.2 Adipositas

Als ein weiterer wichtiger Risikofaktor ist das Übergewicht anzusehen. Die Lebenszeitprävalenz der Arthrose nach *Body-Mass-Index* (BMI) liegt bei einem

BMI von $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ (Adipositas Grad 1) bei Frauen um 43 % und bei Männern um etwa 27 %. Eine nur halb so hohe Lebenszeitprävalenz der Arthrose findet sich bei Normalgewichtigen (BMI 18,5 bis 25 kg/m^2) [52]. Generell kann damit gerechnet werden, dass angesichts der zunehmenden Bewegungsarmut, des demographischen Alterungsprozesses der Bevölkerung in den Industrieländern und der Zunahme übergewichtiger Patienten die Inzidenz und Prävalenz insbesondere der Gonarthrose weiter ansteigen wird [53].

4.4.3.3 Beinachsenfehlstellung

Das Gelenkachsenverhältnis hat einen Einfluss auf das Fortschreiten der Arthrose. Hierbei ist der Einfluss vor allem biomechanischer Genese. Im aufrechten Gang werden beim Gesunden etwa 70 % der axialen Kraft über das mediale Kompartiment des Kniegelenks übertragen [54]. Die Achsenstellung des Kniegelenks führt bei einer Valgusfehlstellung zur Lateralisierung und bei einer Varusfehlstellung zunehmenden Medialisierung der Druckbelastung.[55]

4.4.4 Klinik

Die Gonarthrose ist ein langsam, aber stetig fortschreitender Prozess. Leitsymptome sind vor allem Schmerzen und ein Funktionsverlust des Gelenks. Im Verlauf kommt es zu einer Funktionseinschränkung mit Schmerzen und Ermüdungs- oder Steifigkeitsgefühl. Nach Schonung des Gelenks tritt häufig Besserung ein [56]. Bei weiterem Fortschreiten der Arthrose kommt es wiederholt zu akuten, sehr schmerzhaften Phasen, die auf eine Entzündung der Gelenkinnenhaut zurückzuführen sind. Beim Auftreten einer synovitischen Gelenkschwellung oder eines Gelenkergusses spricht man von einer aktivierten Arthrose. Die letztlich dekompensierte Phase zeichnet sich durch eine wesentliche Funktionsstörung mit Schmerzen bei geringen Bewegungen oder sogar in Ruhe aus. Es kommt zu einem chronischen Schmerz mit Schädigung angrenzender Strukturen wie Muskeln, Bändern und Sehnen [57]. In diesem Stadium besteht eine Gelenksteifigkeit. Die Patienten nehmen die Erkrankung als eine starke Einbuße ihrer Lebensqualität wahr. Der Einfluss des arthrotischen Schmerzgrades

auf die gesundheitsbezogene Lebensqualität (*health-related quality of life, HRQoL*) bedingt den hohen Stellenwert der Schmerzreduktion in der Arthrosetherapie [58].

4.4.5 Ökonomische Betrachtungen

In Deutschland ist die Gonarthrose eine Erkrankung von großer sozioökonomischer Bedeutung [59]. Sie ist eine der volkswirtschaftlich bedeutendsten, chronischen Krankheiten und trägt maßgeblich zur Summe aller Arbeitsunfähigkeitstage, Rehabilitationsmaßnahmen und Frühberentungen bei. In Deutschland wurden 2004 rund 6,77 Mrd. Euro für die Therapie aller Arten von Arthrose aufgewendet, wobei die Gonarthrose einen großen Anteil daran hatte [52]. Bereits 2003 prognostizierte die WHO, dass aufgrund der immer älter werdenden Bevölkerung die Arthrose zur vierthäufigsten Ursache für Erwerbs- und Arbeitsunfähigkeit bis zum Jahre 2020 werden würde [60].

4.5 Ziele der Studie

Das Ziel dieser experimentellen Studie war es, die Korrelation zwischen den histologischen und biochemischen Veränderungen des Gelenkknorpels sowie der Mikro-CT Analyse des darunterliegenden subchondralen Knochens zu bestimmen. Außerdem wurden durch eine topographische Analyse des Tibiaplateaus die verschiedenen Regionen detailliert untersucht und mögliche Risikoareale identifiziert. Abschließend wurden die klinischen Komponenten wie Beinachse, Beinstellung und Arthroseggrad anhand eines präoperativen Röntgenbildes evaluiert und in die Korrelationsanalyse eingeschlossen.

4.6 Hypothese

In der vorliegenden Dissertation wurden die folgenden Hypothesen überprüft:

- (1) Arthrotische Veränderungen des hyalinen Gelenkknorpels sind im subchondralen Knochen reflektiert.
- (2) Veränderungen im Bereich des medialen und lateralen Tibiaplateaus korrelieren miteinander.
- (3) Es besteht ein Zusammenhang zwischen der Beinachsenfehlstellung und dem Grad der Arthrose.

5 Material und Methoden

5.1 Material

5.1.1 Geräte

Neben Standard-Laborgeräten wurden zusätzlich folgende Geräte verwendet:

Gerät	Hersteller
Canon Powershot A480	Canon (Neu-Isenburg, Deutschland)
Digitalkamera CC-12 (auf Mikroskop BX-45)	Soft Imaging System (Münster, Deutschland)
Einbettmaschine EG 1140-C	Leica (Nussloch, Deutschland)
Gefrierschrank -20°C	Bosch (Gerlingern-Schillerhöhe, Deutschland)
Gefrierschrank -74°C Platinum 550	Angelantoni Industrie (Massa Martana PG, Italien)
GENios <i>microplate reader</i>	TECAN (Crailsheim, Deutschland)
Inkubator CB 150 (37°C)	Binder (Tuttlingen, Deutschland)
Magnetrührer RH basic 2	IKA (Staufen, Deutschland)
Mikrofokus-Computertomographie-Scanner	Skyscan (Kontich, Belgien)
Mikrofokus-Computertomographie-Röntgenröhre	Hamamatsu (Hamamatsu City, Japan)
Mikroskop BX-45	Olympus (Hamburg, Deutschland)
Mikroskop CK-2	Olympus (Hamburg, Deutschland)
Rotationsmikrotom RM 2135	Leica (Nussloch, Deutschland)
Tischzentrifuge Qualitron Mikrozentrifuge	Krackeler Scientific (Albany, NY, USA)
Vortex Reagenzglasnischer 7-2020	neoLab Migge (Heidelberg, Deutschland)
Waage EW-600-2M	Kern (Balingen, Deutschland)

Wärmeplatte HI 1220	Leica (Nussloch, Deutschland)
Wärmeschrank 62°C	Binder (Tuttlingen, Deutschland)
Wasserbad HI 1210	Leica (Nussloch, Deutschland)
Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen; F-Profil	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
OptiPlate-96 Black	Perkin Elmer (Waltham, MA, USA)

Tabelle 1: Verwendete Laborgeräte

5.1.2 Verwendete Materialien

Plastikartikel und Glasbehälter wurden von Falcon (Beckton Dickinson, Pont de Claix, Frankreich), Fisher (Schwerte, Deutschland), neoLab (Heidelberg, Deutschland) und VWR (Darmstadt, Deutschland) geliefert. Materialien für die Paraffineinbettung, Metallkassetten und Plastikabdeckungen sowie Objektträger und Deckgläser für die histologische Auswertung konnten von der Firma Roth (Karlsruhe, Deutschland) bezogen werden. Zur Anfertigung der histologischen Schnitte kamen Klingen der Firma Leica (Nussloch, Deutschland) zur Anwendung. Parafilm stammte von der Firma Fisher (Schwerte, Deutschland).

5.1.3 Verwendete Chemikalien

Laborchemikalien für die Herstellung von Puffern und Lösungen wurden generell von Merck (Darmstadt, Deutschland), Roth (Karlsruhe, Deutschland) oder Sigma (Taufkirchen, Deutschland) bezogen. Weitere Chemikalien:

Produkt	Hersteller
Albumin-Standard	Thermo Scientific (Rockford, IL, USA)
Bisbenzimid Hoechst 33258	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
BCA <i>Protein Assay Reagent B</i>	Thermo Scientific (Rockford, IL, USA)
BSA (bovines Serum Albumin)	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Chondroitin-6-Sulfat-Natriumsalz	Fluka (Buchs, Schweiz)
D-Cysteinhydrochloridmonohydrat	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Echtgrün (FCF)	ICN Biomedicals (Eschwege, Deutschland)
Eosin G	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Essigsäure (1 %)	Merck (Darmstadt, Deutschland)
Ethanol	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Formalin-Stammlösung (37 %)	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Hämatoxylin	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Papain	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Paraffin-Granulat „Roti Plast“	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Pierce-BCA-Protein-Assay-Reagent-A	Thermo Scientific (Rockford, IL, USA)
Roti-Histokitt II (Eindeckmittel)	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Safranin O	Roth (Karlsruhe, Deutschland)
Salzsäure (1 %)	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Standard-DNS-Lösung (10 ig/ml; Kalbsthymus)	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Wasserstoffperoxid	Sigma (Taufkirchen, Deutschland)
Xylol	Fischar (Saarbrücken, Deutschland)

Tabelle 2: Verwendete Chemikalien

5.1.4 Puffer und Lösungen

Puffer, Lösungen	Inhaltsstoffe	Konzentration, Menge, Volumen
1x TNE-Puffer	NaCl	5,8 g (100 mM)
	Na ₂ EDTA • 2H ₂ O	372 mg (1 mM)
	Tris/(HCl) (pH 7,4)	1322 mg (10 mM)
	H ₂ O	
Blockierungspuffer	BSA	6 ml
	PBS	200 ml
DAB-Lösung (3'3 Diaminobenzidine)	H ₂ O	5 ml
	Puffer (pH 7,5)	2 Tropfen
	DAB Substratreagenz	4 Tropfen
	H ₂ O ₂	2 Tropfen
DMMB-Lösung A	D-Cysteinhydrochlorid- monohydrat	0,05 g
	PBE	30 ml
DMMB-Lösung B	Chondroitin-6-Sulfat- Natriumsalz	0,053 g
	Lösung A	1 ml
	Lösung C	0,05 ml
DMMB-Lösung C	Lösung A	24,95 ml
	Lösung C	0,05 ml
	1,9-Dimethylmethylenblau	16 mg
	Natriumhydroxid (1 M)	25,60 ml
	Ethanol (95 %)	5 ml
DMMB-Färbelösung (pH 3,5)	Ameisensäure (90 %)	3 ml
	H ₂ O	ad 1000 ml
	Echtgrün	200 mg

	H ₂ O	ad 1000 ml
Entkalkungs-Lösung	Natriumcitrat	100 g
	Ameisensäure (90 %)	250 ml
	H ₂ O	ad 750 ml
Eosin-Lösung	Eosin G	10 g
	H ₂ O	ad 2000 ml
Formalin-Lösung (pH 7,4)	KH ₂ PO ₄	9,07 g
	Na ₂ HPO ₄	11,86 g
	Formalin-Stammlösung	140 ml
	H ₂ O	ad 1000 ml
Hämatoxylin-Lösung (nach Harris)	Hämatoxylin	10 g
	Ethanol (100 %)	120 ml
	Natrium-Jodat	10 g
	Aluminiumkaliumsulfat	200 g
	H ₂ O	ad 2000 ml
HCl-Lösung	HCl (40 %)	5,4 ml
	H ₂ O	ad 200 ml
NaCl-Lösung (150 mM)	NaCl	435 mg
	H ₂ O	ad 50 ml
Papain-Lösung	Papain	5 mg
	PBS	ad 40 ml
PBE	Na ₂ HPO ₄	7,1 g
	EDTA	1,86 g
	H ₂ O	500 ml
PBS (Phosphat gepufferte Salzlösung)	KCl (pH 7,2)	2,7 mM
	KH ₂ PO ₄	1,7 mM
	NaCl	136 mM

	Dinatriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄ • 7H ₂ O)	10 mM
Safranin O-Lösung	Safranin O	1 g
	H ₂ O	ad 1000 ml
Trypsin-Lösung (0,1 %)	Trypsin-Stammlösung (25 %)	800 ml
	PBS	ad 200 ml
Trypsin-Stammlösung	Trypsin	25 % (V/V)
	PBS	75 % (V/V)
Wasserstoffperoxid-Lösung (0,3 %)	H ₂ O ₂	0,6 ml
	H ₂ O	200 ml

Tabelle 3: Puffer und Lösungen

5.1.5 Biologische Materialien

Die Klinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie des Universitätsklinikums des Saarlandes, Homburg/Saar, stellte humane Tibiaplateaus zur Verfügung. Die Tibiaplateaus wurden im Rahmen einer Implantation einer Kniegelenks-Totalendoprothese entnommen und im nativen, sterilen Zustand unter Raumtemperatur in die Räumlichkeiten des Zentrums für Experimentelle Orthopädie transportiert. Die Ethikkommission der Ärztekammer Saarland genehmigte die Untersuchungen und Auswertungen.

5.1.6 Software

Für die Auswertung digitaler Bilder kam das Programm analySIS (Soft Imaging System, Münster, Deutschland) zum Einsatz. Zur statistischen Auswertung wurde die Software Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) herangezogen und die Korrelationen mithilfe von SPSS® (Version 20.0, IBM, Chicago, IL, USA) bestimmt. Zur Rekonstruktion der Mikrofokus-

Computertomographie Bilder wurde die Software NRecon (Skyscan, Kontich, Belgien) verwendet. Die Daten wurden mithilfe des CT-Analyzer (Skyscan) bearbeitet und mit dem DataViewer (Skyscan) betrachtet.

5.2 Methodik

5.2.1 Studiendesign

Nach Entnahme der arthrotischen Tibiaplateaus wurden diese in standardisierter Weise in je 10 Knochen-Knorpel-Proben zersägt. Dann wurden Knorpelproben für biochemische Untersuchungen (DNS, Proteoglykane) entnommen und der subchondrale Knochen mittels Mikro-CT analysiert.

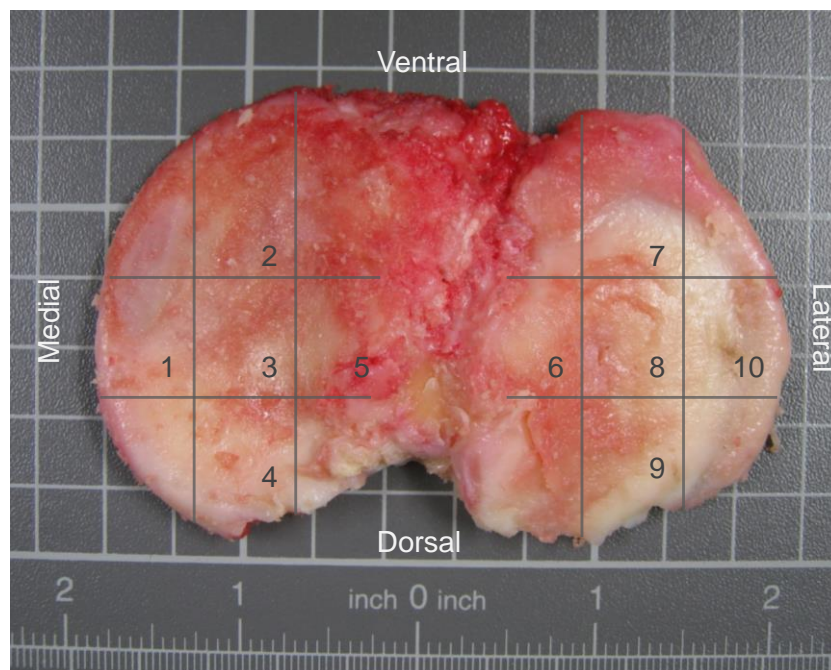


Abbildung 2: Ansicht auf ein humanes Tibiaplateau (rechts). Die grauen Linien zeigen die standardisierte Aufteilung der je 5 medialen und 5 lateralen osteochondralen Blöcke an.

Nach Dekalzifizierung konnten histologische Schnitte angefertigt werden, um so den Arthrosegrad mittels des Mankin- und OARSI-Bewertungssystems zu ermitteln. Die ermittelten Ergebnisse wurden anschließend auf Korrelation und signifikante Unterschiede zwischen den beiden Bewertungssystemen überprüft.

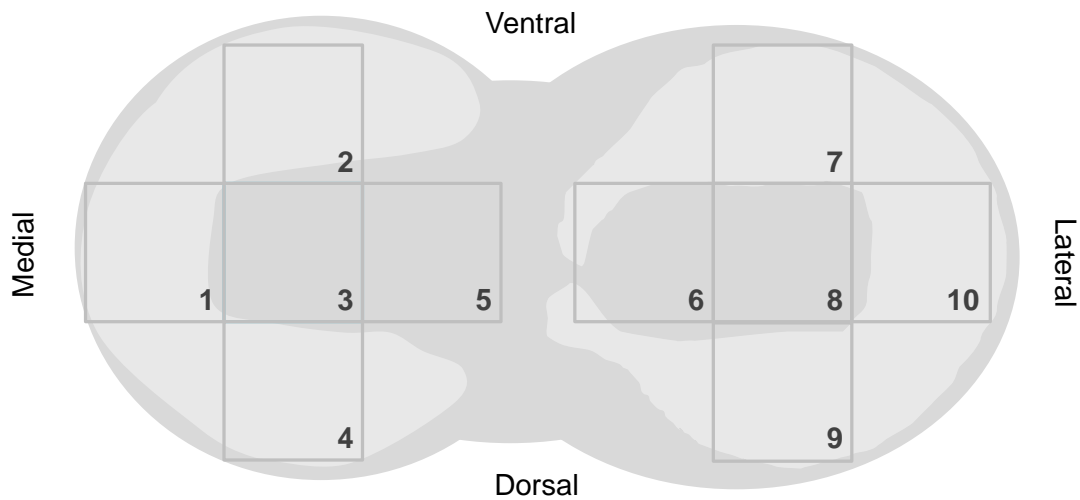


Abbildung 3: Schematische Zeichnung eines rechten Tibiaplateaus von oben. Die Menisken sind in hellgrauer Farbe markiert, das knöcherne Plateau in dunkelgrau. Die Regionen wurden von 1 bis 10 nummeriert. Die Regionen 1-5 liegen im Bereich des medialen Plateaus und die Regionen 6-10 im Bereich des lateralen Plateaus.

Die einzelnen Regionen sind in Tabelle 4 definiert. Die Regionen 1, 2 und 4 sowie 7, 9 und 10 befinden sich unterhalb der Menisken (submeniskal). Die Regionen 3 und 5 sowie 6 und 8 werden als zentrale Regionen bezeichnet.

5.2.2 Gewinnung der Proben

Untersucht wurden adulte, humane Tibiaplateaus von Patienten, die in der Klinik für Orthopädie und Orthopädische Chirurgie des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg/Saar im Zeitraum zwischen Januar 2012 und Juni 2012 einen Oberflächenersatz des Kniegelenkes erhielten. Das Patientenkollektiv beinhaltete 6 weibliche und 4 männliche Patienten. Als Tibiaplateau bezeichnet man die gesamte proximale Gelenkfläche der Tibia inklusive des ca. 1 cm breiten subchondralen Knochens der proximalen Tibia. Nach der Explantation erfolgte die Lagerung der Tibiaplateaus bei 4°C bis zur Weiterverarbeitung.

Region	Definition
Region 1	Medial submeniskal
Region 2	Medial anterior submeniskal
Region 3	Medial zentral
Region 4	Medial posterior submeniskal
Region 5	Medial eminentianah zentral
Region 6	Lateral eminentianah zentral
Region 7	Lateral anterior submeniskal
Region 8	Lateral zentral
Region 9	Lateral posterior submeniskal
Region 10	Lateral submeniskal

Tabelle 4: Definition der einzelnen Regionen.

5.2.3 Probenverarbeitung

Für die Untersuchung der Mikro-CT-Parameter sowie der histologischen und histochemischen Analysen wurden die Tibiaplateaus mit einer Handsäge in 10 identische osteochondrale Blöcke aufgeteilt. Auf diese Weise entstanden quadratische Proben mit einer Grundfläche von ca. 1 cm². Um den posterioren Anteil eines jeden Blocks zu erkennen, wurde dieser mit einem Meißel im Winkel von 45° abgeschrägt (Abb. 4). Für die biochemischen Untersuchungen wurden mit einem Skalpell Knorpelproben, jeweils an der anterioren und an der posterioren Seite der Probe, entnommen. Diese Proben wurden bis zur Weiterverarbeitung in Eppendorf-Röhrchen bei -80°C tiefgefroren. Die Knochen-Knorpelblöcke wurden für 24 h in 4 %igem Formalin fixiert und anschließend in 70 %igem Ethanol für die Mikro-CT-Analyse aufbewahrt.

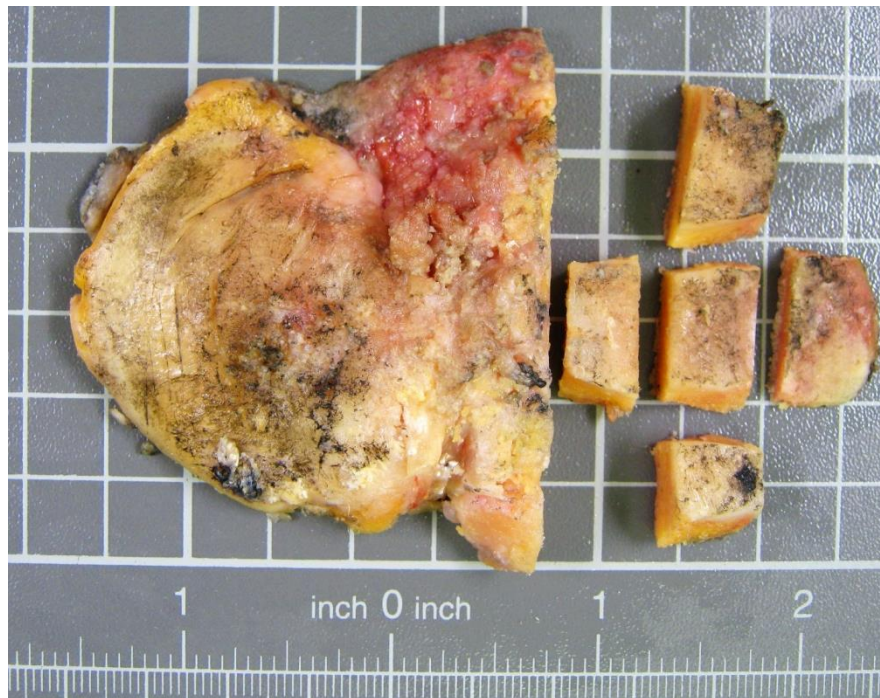


Abbildung 4: Arthrotisches rechtes Tibiaplateau. Das laterale Kompartiment ist exemplarisch in fünf Regionen zerteilt.

5.2.4 Hochauflösendes Mikro-CT

5.2.4.1 Mikro-CT-Darstellung

Zur detaillierten, dreidimensionalen Darstellung und Bestimmung verschiedener morphometrischer Parameter des Knochens diente das Mikro-CT (Skyscan 1172, Kontich, Belgien), welches mit einer drehbaren Abtastbühne, einer beweglichen Kamera und mit einer Mikrofokus-Röntgenröhre (Spotlight < 5 μm ; Hamamatsu, Japan) ausgestattet ist [61, 62]. Das Mikro-CT lässt eine Untersuchung des Gewebes mit einer Auflösung bis auf eine Pixelgröße von 0,8 μm zu [63]. Es wurden jeweils vier Proben in einem speziell dafür konstruierten Kunststoffzylinder übereinander platziert und fixiert, um ein Verrutschen während der Messung zu vermeiden. Abschließend wurde das Gefäß mit 70 %iger Ethanol-Lösung aufgefüllt, um Luftblasen, die sich in CT-Bildern als Artefakte abbilden könnten, zu verdrängen, und mit Parafilm verschlossen. Als Vorbereitung jeder Mikro-CT-Aufnahme wurde zunächst eine nativradiologische Probeaufnahme durchgeführt.

So konnte die Messregion durch Bestimmung des zu untersuchenden Bereiches der jeweiligen Probe festgelegt werden. Pro Probe wurden zwischen 900 und 1200 16-bit Röntgenbilder erstellt (Röhrenspannung 70 kV, Stromstärke 139 μ A, räumliche Auflösung 15 μ m). Es wurde ein 0,5 mm Aluminium-Kupfer-Filter zwischen Röntgenstrahlquelle und Detektor platziert. Die Kamera rotierte mit einer Belichtungszeit von 2400 ms pro Röntgenbild 0,4° um die Probe. Die Parameter *frame averaging*, *random movement* und *ring artifact correction* wurden aufgrund empirischer Vorversuche jeweils mit 3, 15, 7 (ohne Einheit) festgelegt.

5.2.4.2 Rekonstruktion der Mikro-CT-Bilder

Die Rekonstruktion digitalisierter Röntgenbilder erfolgte mittels modifiziertem *conebeam* Algorithmus nach Feldkamp *et al.* [64, 65] (Skyscan NRecon). Zur Einstellung binärer Bilder wurden Graustufen-Schwellenwerte von 8 bzw. 255 gewählt, welche in Vorversuchen gezeigt haben, dass sie den Knochen bestmöglich abbilden.

5.2.4.3 Analyse

Die Analyse wurde mit der Software des Herstellers CT-Analyzer (Skyscan) durchgeführt [63]. Aus dem Datensatz der zuvor rekonstruierten Querschnittsbilder wurden Schnitte ausgewählt, die sich am Anfang und am Ende der Probe befanden und sowohl die subartikuläre Spongiosa als auch die subchondrale Knochenplatte zeigten. An diesen Schnitten konnte die zweidimensionale *region of interest* (ROI) festgelegt werden. Im nächsten Schritt wurden diese miteinander verbunden, um ein dreidimensionales *volume of interest* (VOI) zu bilden. Pro Probe resultierten zwei VOI, deren anatomische Grenzen sich an den Strukturen der subchondralen Knochenplatte und der subartikulären Spongiosa orientierten. Das VOI der subchondralen Knochenplatte umfasste das Volumen des kortikalen Knochens direkt unterhalb der Zementlinie (*cement line*) [26, 66, 67]. Das zweite VOI zeigte die dreidimensionale Mikroarchitektur des trabekulären Netzwerks der subartikulären Spongiosa. Dies ermöglichte eine Analyse des subchondralen Knochens mit insgesamt 200 VOI (10 Tibiaplateaus mit je 10 Proben mit jeweils 2 VOI).

5.2.4.4 Mikro-CT-Parameter

Für jede VOI wurden die folgenden dreidimensionalen Parameter mit der Software CT-Analyzer (Skyscan) berechnet: Knochenvolumenanteil (*bone volume fraction*, BV/TV), Knochenoberfläche/Volumen-Verhältnis (*bone surface/volume ratio*, BS/BV) und Knochenoberflächendichte (*bone surface density*, BS/TV). Die Knochenmineraldichte (BMD) wurde anhand der ermittelten Grauwerte (Abschwächungskoeffizienten) errechnet. Zwei Calciumhydroxyapatit (CaHA)-Phantome (in 70 %igem Ethanol) mit bekannten BMD-Werten von 250 und 750 mg CaHA/cm³ dienten als Eichparameter. Die kortikale Dicke (*cortical thickness*, Ct.Th) wurde nur in der subchondralen Knochenplatte bestimmt, dagegen wurde die Trabekeldicke (*trabecular thickness*, Tb.Th), der Trabekelabstand (*trabecular separation*, Tb.Sp), die Trabekelanzahl (*trabecular number*, Tb.N) sowie der trabekuläre Knochen-Anordnungsfaktor (*trabecular pattern factor*, Tb.Pf) ausschließlich im subartikulären Knochen festgelegt [62, 68, 69].

5.2.5 Histologie

5.2.5.1 Entkalkung

Nach Fixierung in Formaldehydlösung und Mikro-CT-Analyse wurden die osteochondralen Blöcke in die Entkalkungslösung gegeben. Insgesamt konnten die Proben über einen Zeitraum von 4 bis 6 Wochen entkalkt werden, wobei die Entkalkungslösung wöchentlich gewechselt wurde. Die Vollständigkeit des Entkalkungsvorganges wurde palpatorisch mittels einer 22G-Kanüle überprüft.

5.2.5.2 Entwässerung und Einbetten

Zum Entwässern der einzelnen Proben wurden diese in die dafür vorgesehene Einbettungskassetten gelegt, verschlossen und beschriftet. Die Proben durchliefen zur Dehydrierung im Abstand von 60 Minuten eine aufsteigende Ethanolreihe (70 %, 80 %, 95 % 2 x, 100 % 2 x), wurden in Xylol gelagert (2 x 1 h) und schließlich in flüssiges Paraffin (62°C; 1 h und ü.N.) überführt. Im Anschluss an die Entwässerung wurden die Präparate mittig in einer Metallkassette in standardisierter Ausrichtung platziert sowie das flüssige Paraffin mittels einer Einbettmaschine (EG 1140-C, Leica, Nussloch, Deutschland) appliziert. Die

Metallkassette wurde nach vollständiger Füllung auf einer Kälteplatte zum Aushärten gebracht.

5.2.5.3 **Schneiden**

Nach der kompletten Aushärtung der Paraffinblöcke und Kühlung bei -20°C wurden diese mit Hilfe eines Rotationsmikrotoms (Leica RM 2135) mit einem Einmalmikrotommesser (Leica Typ 819, Neigungswinkel der Klinge von 6 – 7°) in 3 µm dicke Schnitte zerteilt. Die gewonnenen Paraffinschnitte konnten mit einem Pinsel in ein warmes (24°C) Wasserbad (Leica HI 1210) überführt werden. Dann wurden die Schnitte auf albuminbeschichtete Objektträger übertragen, auf einer Wärmeplatte (Leica HI 1220) gelagert (42°C, 20 min) und über Nacht bei 62°C in einem Wärmeschrank zur Anheftung gebracht.

5.2.5.4 **Färbungen**

Die einzelnen Färbemethoden wurden in jeweils 200 ml Glasbehältern durchgeführt und maximal 10 Schnitte in einer dafür vorgesehen Halterung platziert. Um die Schnitte vom Paraffin zu befreien und zu hydrieren, wurden sie zuerst in Xylol (2 x 5 min) eingetaucht und durchliefen dann eine absteigende Alkoholreihe. Hierbei wurden die Schnitte je zweimal für 2,5 Minuten in 100 %iges und 95 %iges Ethanol und einmal für 2,5 Minuten in 80 %iges Ethanol gegeben. Es wurden die nachfolgend beschriebenen histologischen Standardfärbungen durchgeführt [70, 71].

5.2.5.5 **Hämatoxylin Eosin**

Nach der Entparaffinierung konnten die Schnitte 10 Minuten in Hämatoxylin-Lösung nach Harris gefärbt und anschließend mit destilliertem Wasser abgespült werden. Danach wurden die Schnitte für 3 Sekunden in einer HCl-Lösung differenziert, über 4 Minuten in 60°C warmem Wasser gebläut und 2,5 Minuten in Hämatoxylin nach Harris angefärbt. Vor dem nächsten Färbeschritt wurden die Präparate dreimal kurz in destilliertes Wasser getaucht, um anschließend die Färbung mit einer Eosin-Lösung (Zusatz von 2 - 3 Tropfen 3 %iger Essigsäure) durchzuführen [70-72].

5.2.5.6 Safranin O/Echtgrün (Safranin O)

Nach zehnmütigem Bad in Hämatoxylin nach Weigert wurden die Präparate zur Grünfärbung von Cytoplasma und Kollagen für 4 Minuten in eine Echtgrün-Lösung (0,02 %) gegeben. Nach Spülen mit Leitungswasser wurden sie dreimal kurz in Essigsäure (1 %) und anschließend 5 Minuten in Safranin O-Lösung (0,1 %) überführt, um die in der Knorpelmatrix lokalisierten Mucopolysaccharide anzufärben [71, 73].

5.2.5.7 Masson-Goldner-Trichromfärbung

Begonnen wurde mit einer 10-minütigen Kernfärbung mit Eisenhämatoxylin. Nach dem Waschen der Präparate mit *aqua bidest.* wurden diese 10 Minuten mit Säurefuchsin-Ponceau gefärbt, mit 0,5 %iger Essigsäure gespült und 8 Minuten in Orange G koloriert. Nach erneutem Spülen mit *aqua bidest.* fand eine Gegenfärbung mit Lichtgrün statt [74].

Zum Entwässern durchliefen die Präparate nach Beenden des Färbedurchganges eine aufsteigende Alkoholreihe (umgekehrt zu den Schritten des Entparaffinierens) und wurden abschließend in Xylol überführt (2 x 5 min). Schließlich wurden sie mit kleinen Deckgläschen eingedeckt (Roti-Histokitt II) und zur vollständigen Aushärtung über Nacht getrocknet.

5.2.5.8 Evaluation

Zur Evaluation der Knorpelbeschaffenheit wurden die gefärbten histologischen Schnitte ausgewertet. Die Beurteilung erfolgte bei 20- und 40-facher Vergrößerung. Zur Anwendung kam das klassische Bewertungssystem nach Henry Mankin [2], welches die Gelenkdestruktion anhand der Struktur des Knorpels, der Chondrozyten, der Intensität der Safranin O/Echtgrün-Färbung und der *tidemark* graduiert.

Kriterium	Punktzahl	Histologische Kennzeichen
Oberflächenstruktur	0	Normal
	1	Oberflächenunregelmäßigkeiten
	2	Pannus und Oberflächenunregelmäßigkeiten
	3	Risse bis in die Übergangszone
	4	Risse bis in die tiefe Zone
	5	Risse bis in die kalzifizierte Zone
Chondrozytenzahl	0	Normal
	1	Diffuse Hyperzellularität
	2	Zellklone
	3	Hypozellularität
Safranin O/Echtgrün-Färbung (Matrixanfärbbarkeit)	0	Normal
	1	Leicht reduzierte Anfärbung
	2	Mäßig reduzierte Anfärbung
	3	Stark reduzierte Anfärbung
	4	Keine Anfärbung
	5	Totale Desorganisation
Tidemark	0	Intakt
	1	Von Gefäßen durchbrochen

Tabelle 5: Bewertungssystem nach Mankin *et. al.* [2]

Des Weiteren wurde eine Evaluierung der mit Safranin O/Echtgrün gefärbten Schnitte mit dem OARSI (*Osteoarthritis Research Society International*)-Bewertungssystem vorgenommen [3].

Grad	Assoziierte Kriterien
Grad 0: Intakte Oberfläche	<p>Matrix: Normale Architektur</p> <p>Zellen: Intakte, angemessene Orientierung, Knorpelmorphologie intakt</p>
Grad 1: Oberfläche intakt	<p>Matrix: Oberflächliche Zone intakt, Ödeme und/oder oberflächliche Fibrillationen (Abschürfung), fokale oberflächliche Matrixverdichtung</p> <p>Zellen: Abgestorben, Proliferation (<i>Cluster</i>), Hypertrophie, Reaktion der oberflächlichen Zone muss größer sein, oberflächliche Fibrillationen</p>
Grad 2: Oberflächendiskontinuität	<p>Matrix: Wie oben und Matrixdiskontinuität in der Oberflächenzone (tiefe Fibrillationen)</p> <p>Kationischer Farabbau der Matrix (Safranin O/Echtgrün oder Toluidinblau) in den oberen 1/3 des Knorpels</p> <p>Fokale perichondrale Zunahme der Färbung (Mittlere Zone)</p> <p>Desorientierung von Chondronen</p> <p>Zellen: Abgestorben, Proliferation (<i>Clusters</i>), Hypertrophie</p>
Grad 3: Vertikale Fissuren (Risse)	<p>Matrix: Wie oben + vertikale Fissuren bis in die mittlere Zone, verzweigte Fissuren</p> <p>Kationischer Farabbau (Safranin O/Echtgrün) bis in die letzten 2/3 des Knorpels (Tiefe Zone), neue Kollagenanordnung (polarisiert im Lichtmikroskop)</p> <p>Zellen: Abgestorben, Regeneration (<i>Cluster</i>), Hypertrophie, Knorpelbereich grenzt an Fissuren</p>
Grad 4: Erosion	<p>Verlust von Knorpelmatrix: Ablösung der oberflächlichen Schicht, Zystenform in der mittleren Schicht, Aushöhlung: Verlust der Oberflächenschicht und mittlere Zone der Matrix</p>

Grad 5: Denudierung	Oberfläche: Sklerotischer Knochen oder flächenhafte Abtragung, Reparaturgewebe und Faserknorpel mit abgetragener Oberfläche. Mikrofrakturierung mit Erneuerung nur begrenzt auf die Knochenoberfläche
Grad 6: Deformation	Knochenumbau (mehr als nur osteophytische Formationen) einschließlich: Mikrofrakturierungen mit Faserknorpel und Knochenaufbau, der über die vorherige Oberfläche hinausragt.

Tabelle 6: OARSI-Bewertungssystem nach Pritzker *et al.* [3]

5.2.6 Biochemie

5.2.6.1 Papainverdau

Um die biochemische Analyse des Knorpelgewebes durchführen zu können, wurden die Knorpelproben zunächst mit Papain verdaut. Die Papainlösung (25 mg/ml) wurde mit PBS verdünnt und jeder Probe (n = 200) in einem Eppendorfröhrchen 400 µl der Verdauungslösung zugeführt und über Nacht inkubiert (60°C). Im Anschluss folgten fluorometrische und photometrische Analysen.

5.2.6.2 DNS-Bestimmung (Hoechst 33258-Test)

Zur fluorometrischen Bestimmung des DNS-Gehalts kam der Hoechst 33258-Test zur Anwendung. Der interkalierende Fluoreszenzfarbstoff Bisbenzimid Hoechst 33258 lagert sich bevorzugt zwischen Adenin/Thymin-Basenpaaren der doppelsträngigen DNS an [75]. Zur Erstellung einer Standardverdünnungsreihe wurden eine Kalbsthymus-DNS-Lösung (10 µg/ml) und eine TNE-Pufferlösung verwendet (Standardreihe A - F). Es wurde eine DNS-Standardreihe (Tab. 7) festgelegt und mit TNE-Pufferlösung auf 100 µl aufgefüllt.

Standard	DNS-Standard	TNE	DNS-Gehalt
A	0 μ l	100 μ l	0 ng
B	5 μ l	95 μ l	50 ng
C	10 μ l	90 μ l	100 ng
D	20 μ l	80 μ l	200 ng
E	50 μ l	50 μ l	500 ng
F	90 μ l	10 μ l	900 ng

Tabelle 7: DNS-Standardreihe

In jede der 96 Vertiefungen der *well*-Platte wurden 10 μ l der verdauten Probe pipettiert und je 90 μ l TNE-Puffer hinzugefügt. Der Bisbenzimidazolfarbstoff Hoechst 33258 wurde im Verhältnis 1:500 in einem TNE-Puffer gelöst und lichtgeschützt bei 8°C gelagert. Zügig (zeit- und lichtabhängige Reaktion) wurden jeweils 100 μ l des verdünnten Farbstoffes auf alle *wells* (inkl. Standardreihe) verteilt und die Emission der Wellenlänge 458 nm mit einem Photometer (GENios plate reader, Crailsheim, Deutschland) bei einer Exzitationswellenlänge von 365 nm detektiert. So konnte eine Standardkurve erstellt werden, anhand derer der DNS-Gehalt der einzelnen Proben errechnet werden konnte.

5.2.6.3 Protein-Bestimmung (Bicinchoninsäure-Test)

Der Bicinchoninsäure-Test (*bicinchoninic acid*, BCA) ist eine Methode zur quantitativen Proteinbestimmung und erfolgt mit einem BCA-Assay-Kit (Pierce, USA). Hierbei wird zweiwertiges Kupfer durch Proteine in alkalischer Lösung zu einwertigem Kupfer reduziert. Dadurch bilden sich Komplexe mit der Bicinchoninsäure und erzeugen einen violetten Farbumschlag, dessen Absorption bei einer Wellenlänge von 562 nm photometrisch ausgewertet werden kann. In einer 96 *well*-Platte wurde zunächst eine Standardreihe (A - I, Tab. 8) mit Rinderserumalbumin (BSA) bekannter Konzentrationen in Doppelbestimmung erstellt. Die BCA-Lösung wurde in einem Mischverhältnis 50:1 [Lösung A (Puffer-

Lösung):Lösung B (BCA-Lösung)] vorbereitet. Es erfolgte die Pipettierung von jeweils 5 µl der Probe in eine transparente Mikrotiterplatte. Danach wurden je 200 µl des bereits vorbereiteten Arbeitsreagenz (Mischung aus Puffer-, BCA- und Kupfersulfat-lösung) hinzugefügt, auf einem Plattenschüttler gemischt (30 s), abgedeckt, inkubiert (37°C; 30 min) und die Extinktion bei 530 nm gemessen. Aus den Absorptionswerten der Standardreihe konnte eine Kalibrierungsgerade erstellt und die Proteinkonzentration jeder Probe berechnet werden [76].

Lösung	H ₂ O	BSA	BSA-Konzentration
A	0 µl	75 µl stock	2000 µg/ml
B	31,3 µl	93,8 µl stock	1500 µg/ml
C	81,3 µl	81,3 µl stock	1000 µg/ml
D	43,8 µl	43,8 µl von B	750 µg/ml
E	81,3 µl	81,3 µl von C	500 µg/ml
F	81,3 µl	81,3 µl von E	250 µg/ml
G	81,3 µl	81,3 µl von F	125 µg/ml
H	100 µl	25 µl von G	25 µg/ml
I	100 µl	0 µl	0 µg/ml

Tabelle 8: Bicinchoninsäure-Test: Standardreihe

5.2.6.4 Proteoglykan-Bestimmung

Für die photometrische Bestimmung der Proteoglykane wurde der Dimethylmethylenblau-Test (DMMB) gewählt. Sowohl Chondroitinsulfat als auch das Proteoglykan in den Proben binden an DMMB; die photometrische Detektion beider Substanzen ist vergleichbar [77]. Es wurde eine Standardreihe mit bekannter Menge Chondroitinsulfat auf einer transparenten Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen in Doppelbestimmung angelegt. Folgende Lösungen wurden hergestellt [78]:

Lösung A: 0,05 g D-Cysteinhydrochloridmonohydrat + 30 ml PBE

Lösung B: 0,053 g Chondroitin-6-Sulfat-Natriumsalz + 1 ml Lösung A

Lösung C: 24,95 ml Lösung A + 0,05 ml Lösung B

Lösung	Konzentration	Mischverhältnis
A	100 % Lösung C	(40 µl Lsg. C + 0 µl Lsg. A)
B	80 % Lösung C	(32 µl Lsg. C + 8 µl Lsg. A)
C	60 % Lösung C	(24 µl Lsg. C + 16 µl Lsg. A)
D	40 % Lösung C	(16 µl Lsg. C + 24 µl Lsg. A)
E	20 % Lösung C	(8 µl Lsg. C + 32 µl Lsg. A)
F	0 % Lösung C	(0 µl Lsg. C + 40 µl Lsg. A)

Tabelle 9: Dimethylmethylenblau-Test: Standardreihe

Nun wurden je Vertiefung 10 µl papainverdautes Knorpelgewebe entlang der Standardreihe pipettiert und darauf 250 µl DMMB-Färbelösung appliziert. Im Anschluss wurde die Absorption der Blaufärbung bei 530 nm Wellenlänge im GENios plate reader (TECAN, Crailsheim, Deutschland) bestimmt. Mit den Absorptionswerten der Standardreihe für Chondroitinsulfat wurde eine Kalibrierungsgerade erstellt. Anhand der Steigungsformel konnte die Menge an Proteoglykan der einzelnen Proben berechnet werden.

5.2.7 Auswertung der Röntgenbilder

Die Auswertung der präoperativen Röntgenbilder wurde jeweils anhand einer Ganzbeinaufnahme und einer Aufnahme des Kniegelenks in zwei Ebenen vorgenommen.

Mit diesen Aufnahmen konnte die anatomische Beinachse präoperativ bestimmt werden. Dazu wurde der Mittelpunkt der Femurschaftbreite im Übergang vom mittleren zum distalen Schaftdrittel mit der Fossa intercondylaris verbunden

(anatomische Femurachse). Zusätzlich wurden die Mittelpunkte des Sprunggelenks und des Tibiaplateaus verbunden (anatomische Tibiaachse). Anschließend konnte der Winkel, in dem sich diese Geraden schneiden, bestimmt werden (anatomische Beinachse). Valgus- bzw. Varusfehler werden in Winkelgraden angegeben; negative Werte kennzeichnen dabei eine varische Abweichung der gemessenen Werte von der anatomischen valgischen Beinachse von 6° , positive Werte bezeichnen eine valgische Abweichung von der anatomischen Beinachse [7, 79]. Außerdem erfolgte die Bestimmung der Traglinie, auch Mikulicz-Linie genannt. Sie verläuft durch das Hüftkopfbereich und das Zentrum des oberen Sprunggelenkes und sollte unter physiologischen Bedingungen durch das Kniegelenkzentrum verlaufen. Bei einer Varusstellung (O-Bein) liegt dabei die Traglinie medial des Kniegelenkzentrums, bei einer Valgusstellung (X-Bein) entsprechend lateralseitig [7, 79]. In Abb. 5 verläuft die Mikulicz-Linie medial des Kniegelenkzentrums und weist somit auf eine Varusfehlstellung hin.

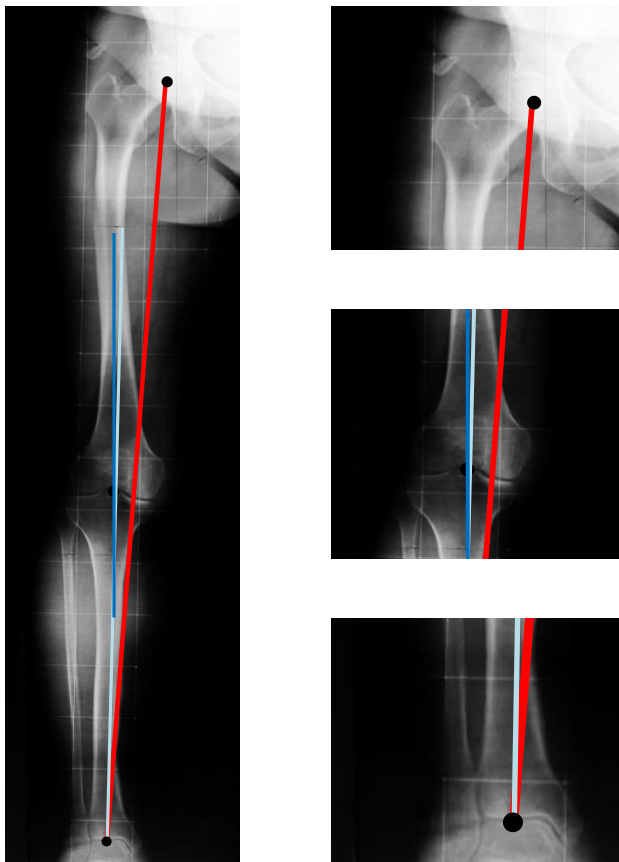


Abbildung 5: Röntgenaufnahme des rechten Beins im p.a.-Strahlengang mit Mikulicz-Linie (rot), anatomischer Femurachse (dunkelblau) und anatomischer Tibiaachse (hellblau).

Die Patienten wurden nach dem Grad ihrer Varusfehlstellung in drei Gruppen eingeteilt: Gruppe 1: 1-3° Achsenabweichung, Gruppe 2: 4-6° und Gruppe 3: >7°. Dieser Grad der Varusfehlstellung beschreibt die Differenz zwischen der gemessenen anatomischen Beinachse von der anatomischen Beinachse von 6° Valgus [79]. Es wurde der Grad der Arthrose (Mankin-Bewertungssystem) mit dem Grad der Varusfehlstellung verglichen. Dabei wurden die Regionen 1, 3, 5 (mediales Plateau) und 6, 8, 10 (laterales Plateau) untersucht.

Die Röntgenbilder wurden darüber hinaus anhand der radiologischen Kriterien nach Kellgren und Lawrence hinsichtlich des Ausmaßes der Gonarthrose klassifiziert [38]. Nach dieser Klassifikation werden nativradiologische Veränderungen in folgende fünf Schweregrade eingeteilt.

Grad	Definition
0	Keine arthrotischen Veränderungen
1	Mögliche Verschmälerung des Kniegelenkspalts und mögliche Osteophytenbildung
2	Sichtbare Verschmälerung des Kniegelenkspalts und sichtbare Osteophyten, mäßige subchondrale Sklerosierung
3	Sichtbare Verschmälerung des Kniegelenkspalts, deutliche Osteophyten, subchondrale Sklerosierung und mögliche Deformation der periostalen Oberfläche
4	Weitgehender bis vollständiger Verlust des Kniegelenkspalts, ausgeprägte Osteophyten, ausgeprägte Sklerose und sichtbare Deformation der periostalen Oberfläche

Tabelle 10: Klassifikation der Arthrose nach Kellgren und Lawrence [38]



Abbildung 6: Röntgenaufnahme eines gesunden linken Kniegelenks im a.p. Strahlengang

5.2.8 Deskriptive topographische Analyse

Mit den gewonnenen Daten konnte eine topographisch gegliederte, graphische Darstellung des Tibiaplateaus erstellt werden. Der Mittelwert der Daten pro Region wurde mit Hilfe einer Farbskala schematisch abgebildet. Folgende Parameter wurden in diese deskriptive, graphische Darstellung eingeschlossen: BV/TV, BMD, Ct.Th der subchondralen Knochenplatte, BMD, BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp und Tb.Pf der subartikulären Spongiosa, DNS-Gehalt, Proteoglykangehalt, Proteoglykan/DNS-Verhältnis sowie histologische Auswertungen (Mankin- und OARSI-Bewertungssystem) des Gelenkknorpels.

5.2.9 Statistische Analysen

5.2.9.1 Vergleichende Analyse

Um histologische und biochemische Daten sowie Mikro-CT-Parameter untereinander zu vergleichen, wurde der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet. Für alle statistischen Auswertungen wurden p-Werte unter 0,05 als signifikant angesehen. Alle Berechnungen erfolgten mit Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

5.2.9.2 Korrelationsanalyse

Die Berechnung der Korrelationskoeffizienten für lineare Zusammenhänge erfolgte nach Pearson mittels der Computersoftware SPSS (IBM, Chicago, USA) und Microsoft Excel. Der Korrelationskoeffizient variiert von +1 bis -1, wodurch nicht nur die Stärke des Zusammenhangs angegeben werden kann (Tab. 12), sondern auch die Richtung (gleichgerichtet oder entgegengesetzt). Für alle statistischen Auswertungen wurde $p < 0,05$ als Signifikanzniveau festgelegt [80].

Folgende Parameter wurden auf Korrelation geprüft:

1. Parameter	2. Parameter
<u>Mikro-CT:</u>	<u>Histologie:</u>
- BMD	- Mankin
- BV/TV	- OARSI
- Ct.Th	
<u>Mikro-CT:</u>	<u>Biochemie:</u>
- BMD	- DNS-Gehalt
- BV/TV	

Histologie:

- Mankin
- OARSI

Biochemie:

- DNS-Gehalt

Histologie und Mikro-CT:

- Mankin
- OARSI
- BMD
- Ct.Th

Klinische Parameter:

- BMI
- Gewicht
- Kellgren-Lawrence-Klassifikation

Tabelle 11: Korrelationsanalyse

Der Korrelationskoeffizient (r) zeigt die Korrelation zwischen zwei Werten an, von keinem Zusammenhang bis hin zu sehr starkem Zusammenhang.

Wert	Korrelationskoeffizient
$r = < 0,19$	Kein Zusammenhang
$0,2 < r < 0,29$	Schwacher Zusammenhang
$0,3 < r < 0,49$	Mittelstarker Zusammenhang
$0,5 < r < 0,69$	Starker Zusammenhang
$0,7 < r < 0,99$	Sehr starker Zusammenhang

Tabelle 12: Interpretation des Korrelationskoeffizienten (r) [81]

6 Ergebnisse

6.1 Histologische Auswertung

Charakteristisch für den arthrotisch veränderten Gelenkknorpel zeigten sich allgemein in der histologischen Auswertung Risse bis in die tiefe Zone, eine Hypozellularität des Knorpelgewebes sowie eine mäßig bis schlechte Anfärbung durch Safranin O/Echtgrün. Im medialen Plateau bestand eine insgesamt schlechtere Knorpelqualität als im lateralen Plateau.

6.1.1 Einzelne topographische Regionen

Bei der Analyse der histologischen Schnitte mittels des Mankin- und OARSI-Bewertungssystems konnten zusätzlich Unterschiede innerhalb der einzelnen Regionen des Tibiaplateaus festgestellt werden.

Regionen	Knorpelstruktur MW ± SD	Chondrozyten MW ± SD	Safranin O MW ± SD	Tidemark MW ± SD	Mankin MW ± SD	OARSI MW ± SD
1	4,00 ± 1,11	2,97 ± 0,10	3,63 ± 0,43	0,53 ± 0,50	11,13 ± 1,7	4,07 ± 1,14
2	3,60 ± 1,34	2,83 ± 0,36	3,33 ± 0,74	0,17 ± 0,36	9,93 ± 2,19	3,80 ± 0,98
3	3,43 ± 1,12	2,73 ± 0,38	3,07 ± 1,12	0,37 ± 0,46	9,60 ± 2,82	3,84 ± 1,23
4	3,23 ± 1,60	2,87 ± 0,23	3,53 ± 0,98	0,23 ± 0,42	9,87 ± 2,82	3,33 ± 1,72
5	2,87 ± 1,06	2,67 ± 0,47	2,63 ± 0,75	0,00 ± 0,00	8,17 ± 2,02	2,83 ± 1,06
6	2,90 ± 1,02	2,70 ± 0,48	2,83 ± 0,77	0,10 ± 0,32	8,53 ± 2,23	3,10 ± 1,19
7	2,30 ± 1,33	2,63 ± 0,43	3,23 ± 0,86	0,47 ± 0,50	8,63 ± 2,50	2,47 ± 1,18
8	2,23 ± 1,10	2,57 ± 0,47	2,73 ± 0,80	0,30 ± 0,48	7,83 ± 2,21	2,43 ± 1,21
9	2,37 ± 1,20	2,63 ± 0,43	2,93 ± 0,56	0,07 ± 0,21	8,00 ± 1,90	2,53 ± 1,12
10	2,33 ± 1,04	2,43 ± 0,45	2,80 ± 0,55	0,27 ± 0,41	7,83 ± 1,86	2,57 ± 1,01

Tabelle 13: Ergebnisse der histologischen Auswertung der einzelnen Regionen nach den Mankin- und OARSI-Bewertungssystemen

In Region 1 fand sich stets der höchste Arthrosegrad und in Region 8 der niedrigste. Die Region 8 zeigte in der Mankin-Gesamtsumme einen Wert von $7,83 \pm 2,21$. Dagegen war der Wert in Region 1 in der Mankin-Gesamtsumme mit $11,13 \pm 1,7$ signifikant ($p = 0,002$) höher (Tab. 13). Zur Visualisierung wurde eine deskriptive topographische Analyse durchgeführt (Abb.7).

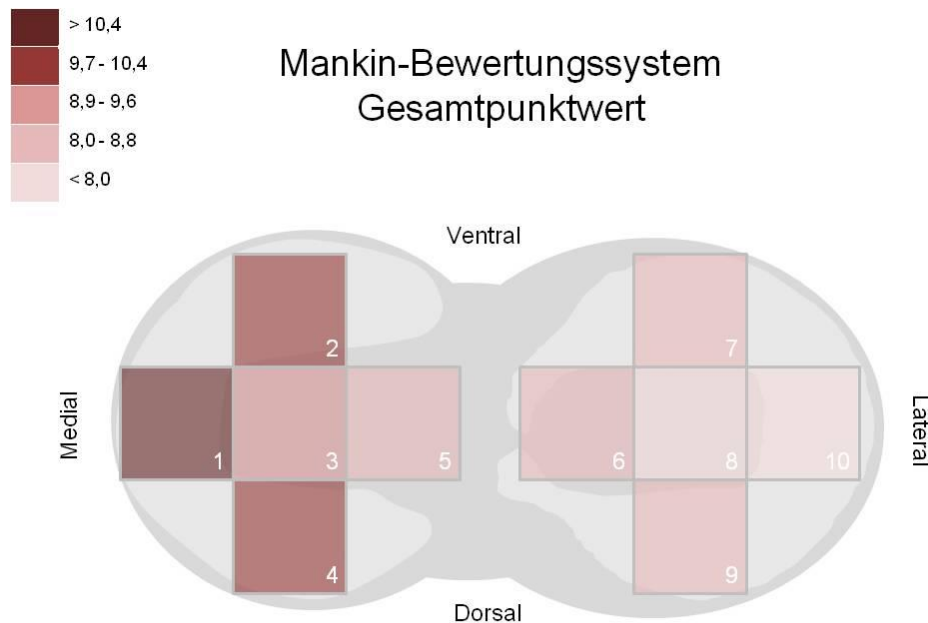


Abbildung 7: Mankin-Bewertungssystem. Dunkle Farbtöne zeigen einen hohen Arthrosegrad an.

6.1.2 Mediales Plateau versus laterales Plateau

Bei der mikroskopischen Evaluation der histologischen Schnitte zeigte sich in der Gesamtpunktzahl eine fortgeschrittene Arthrose im medialen (Regionen 1, 2, 3, 4 und 5) gegenüber dem lateralen Plateau (Regionen 6, 7, 8, 9 und 10) ($p = 0,026$). Signifikante Unterschiede ergaben sich auch in der Oberflächenstruktur des Knorpels, der Anzahl der Chondrozyten und der Gesamtsumme (Tab. 14, Abb. 8) [2]. Nur für die Matrixanfärbbarkeit mit Safranin O/Echtgrün und die *Tidemark* fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen medial und lateral.

Mankin-Bewertungssystem	medial	lateral	p
	MW ± SD	MW ± SD	
Knorpelstruktur	3,43 ± 0,42	2,43 ± 0,27	0,003
Chondrozyten	2,81 ± 0,12	2,59 ± 0,10	0,013
Matrixanfärbbarkeit (Safranin O/Echtgrün)	3,24 ± 0,40	2,91 ± 0,20	0,147
Tidemark	0,26 ± 0,20	0,24 ± 0,16	0,868
Summe	9,74 ± 1,06	8,17 ± 0,39	0,026

Tabelle 14: Ergebnisse der histologischen Auswertung des medialen und lateralen Tibiaplateaus nach dem Mankin-Bewertungssystem [2]

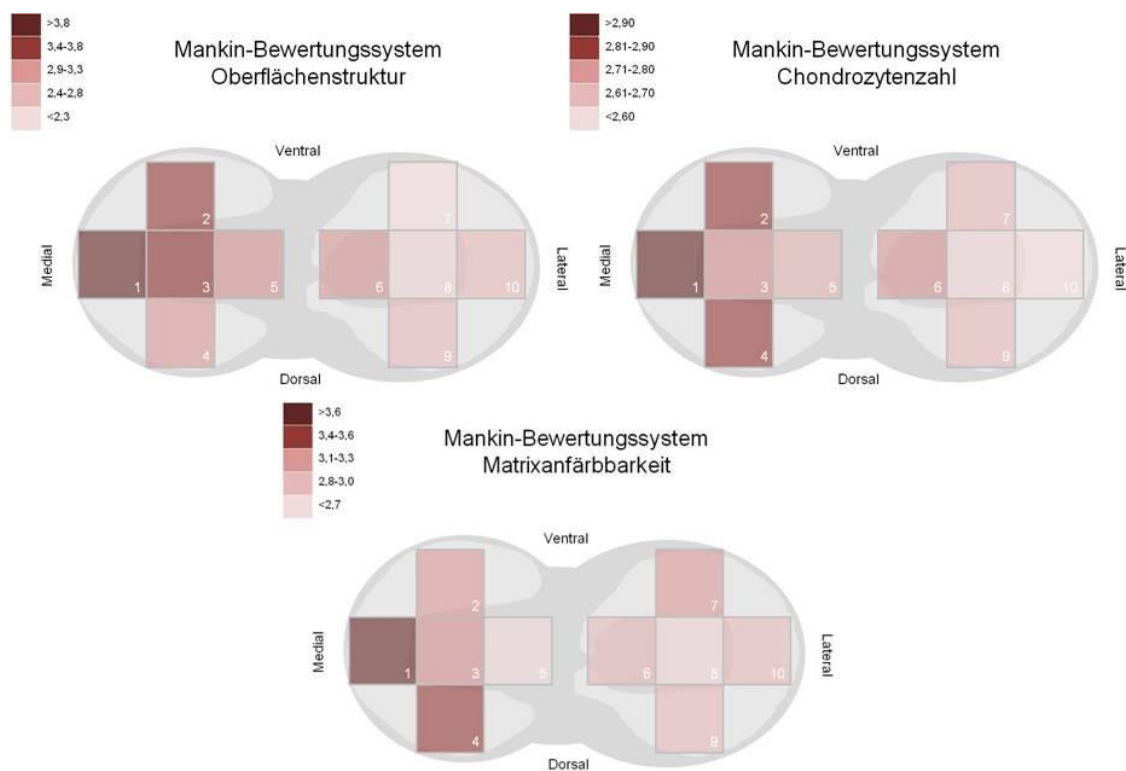


Abbildung 8: Deskriptive topographische Analyse der Oberflächenstruktur des Knorpels, der Chondrozytenzahl und der Matrixanfärbbarkeit mit Safranin O/Echtgrün.

Die Daten des OARSI-Bewertungssystems bestätigten die Ergebnisse des Mankin- Bewertungssystems. Es ergab sich mit Werten von medial $3,57 \pm 0,5$ und lateral $2,62 \pm 0,27$ ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Kompartimenten ($p = 0,009$) (Tab.15, Abb. 9) [3].

OARSI-Bewertungssystem	medial	lateral	p
	MW \pm SD	MW \pm SD	
Summe	$3,57 \pm 0,49$	$2,62 \pm 0,27$	0,009

Tabelle 15: Ergebnisse der histologischen Auswertung des medialen und lateralen Tibiaplateaus nach dem OARSI-Bewertungssystem

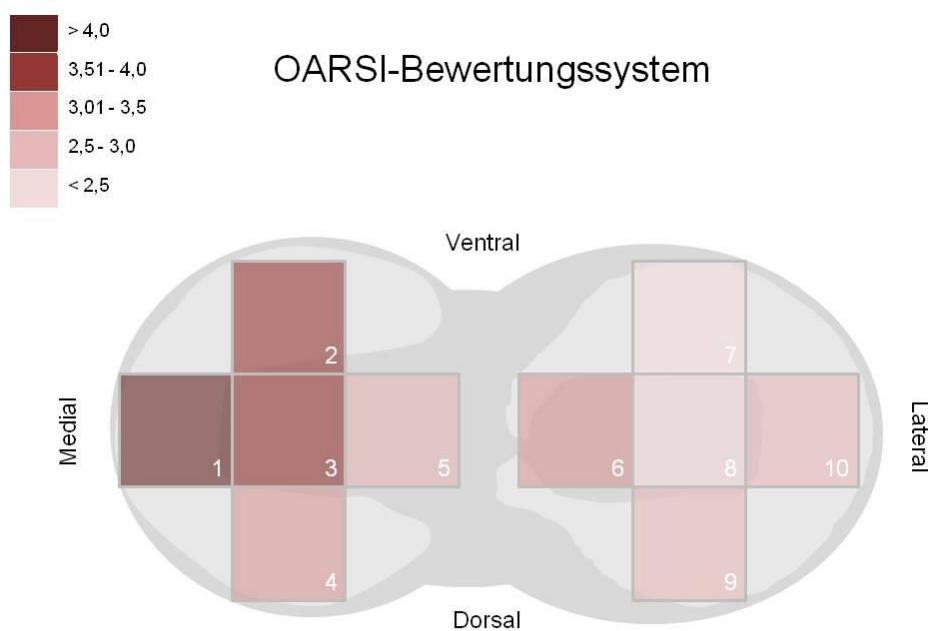


Abbildung 9: OARSI-Bewertungssystem. Dunkle Farbtöne zeigen einen hohen Arthrosegrad an. Im medialen Plateau zeigten sich insgesamt höhere Arthrosegrade als im lateralen Plateau.

6.1.3 Submeniskal versus zentral

Die vom Meniskus bedeckten (submeniskalen) Areale (mediale Regionen: 1, 2, 4 und laterale Regionen: 7, 9, 10) wiesen bei Bestimmung durch das Mankin-Bewertungssystem einen tendenziell höheren Arthrosegrad als die vom Meniskus unbedeckten Areale (mediale Regionen: 3, 5 und laterale Regionen: 6, 8) ($p = 0,153$) auf. Ein signifikanter Unterschied ($p = 0,012$) bestand diesbezüglich für den Parameter der Matrixanfärbbarkeit mit Safranin O/Echtgrün ($p = 0,012$). Das OARSI-Bewertungssystem bestätigte den tendenziell etwas höheren Arthrosegrad in den submeniskalen Regionen (Tab. 16, Abb. 7 - 9).

Parameter	submeniskal MW \pm SD	zentral MW \pm SD	p
Knorpelstruktur	2,97 \pm 1,40	2,86 \pm 1,12	0,653
Chondrozyten	2,73 \pm 0,39	2,67 \pm 0,44	0,477
Matrixanfärbbarkeit	3,24 \pm 0,75	2,82 \pm 0,85	0,012
Tidemark	0,29 \pm 0,43	0,19 \pm 0,38	0,239
Mankin (Summe)	9,23 \pm 2,24	8,53 \pm 2,34	0,153
OARSI (Summe)	3,12 \pm 1,33	3,05 \pm 1,24	0,767

Tabelle 16: Ergebnisse der histologischen Auswertung der submeniskalen und zentralen Regionen nach dem Mankin- und OARSI-Bewertungssystem

6.2 Mikro-CT-Auswertung

6.2.1 Subchondrale Knochenplatte

Mit den gewonnenen mikrostrukturellen Parametern der subchondralen Knochenplatte wurden die medialen und lateralen Plateauhälften, die einzelnen Regionen untereinander sowie die submeniskalen und zentralen Regionen miteinander verglichen.

6.2.1.1 Einzelne Regionen

Die Analyse der einzelnen Regionen zeigte Unterschiede innerhalb des Tibiaplateaus auf. In der Region 2 fand sich die höchste ($813,59 \text{ mg/cm}^3 \pm 57,89$) und in Region 10 die niedrigste BMD ($639,59 \text{ mg/cm}^3 \pm 205,10$). Die größte Dicke der subchondralen Knochenplatte bestand in Region 1 ($0,79 \text{ mm} \pm 0,32$) und die niedrigste in Region 10 ($0,34 \text{ mm} \pm 0,11$) (Tab. 17). In Abbildung 10 ist die deskriptive Analyse der Mikro-CT-Auswertung der subchondralen Knochenplatte graphisch zusammengefasst.

Regionen	BMD (mg/cm^3)	BV/TV (%)	BS/BV (mm^{-1})	BS/TV (mm^{-1})	Ct.Th (mm)
	MW \pm SD	MW \pm SD	MW \pm SD	MW \pm SD	MW \pm SD
1	$776,58 \pm 62,17$	$77,86 \pm 13,68$	$21,77 \pm 12,71$	$15,45 \pm 4,17$	$0,79 \pm 0,32$
2	$813,59 \pm 57,89$	$85,06 \pm 5,58$	$15,53 \pm 4,48$	$13,05 \pm 3,19$	$0,69 \pm 0,22$
3	$722,60 \pm 185,4$	$82,82 \pm 8,45$	$18,26 \pm 6,55$	$14,72 \pm 3,66$	$0,70 \pm 0,20$
4	$717,48 \pm 193,3$	$81,93 \pm 7,91$	$16,61 \pm 7,23$	$13,24 \pm 4,94$	$0,61 \pm 0,22$
5	$668,35 \pm 211,7$	$88,46 \pm 5,05$	$14,92 \pm 4,91$	$13,09 \pm 4,08$	$0,74 \pm 0,23$
6	$703,73 \pm 230,8$	$85,38 \pm 6,69$	$13,17 \pm 2,44$	$11,13 \pm 1,61$	$0,67 \pm 0,24$
7	$664,58 \pm 211,5$	$78,83 \pm 8,27$	$17,52 \pm 6,20$	$13,46 \pm 3,76$	$0,47 \pm 0,15$
8	$685,00 \pm 226,9$	$86,78 \pm 4,82$	$14,21 \pm 4,38$	$12,19 \pm 3,20$	$0,59 \pm 0,14$
9	$703,67 \pm 208,8$	$81,60 \pm 8,14$	$16,14 \pm 4,39$	$13,09 \pm 3,63$	$0,48 \pm 0,17$
10	$639,59 \pm 205,1$	$68,51 \pm 9,14$	$20,77 \pm 7,65$	$13,99 \pm 4,59$	$0,34 \pm 0,11$

Tabelle 17: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchungen der subchondralen Knochenplatte der einzelnen Regionen.

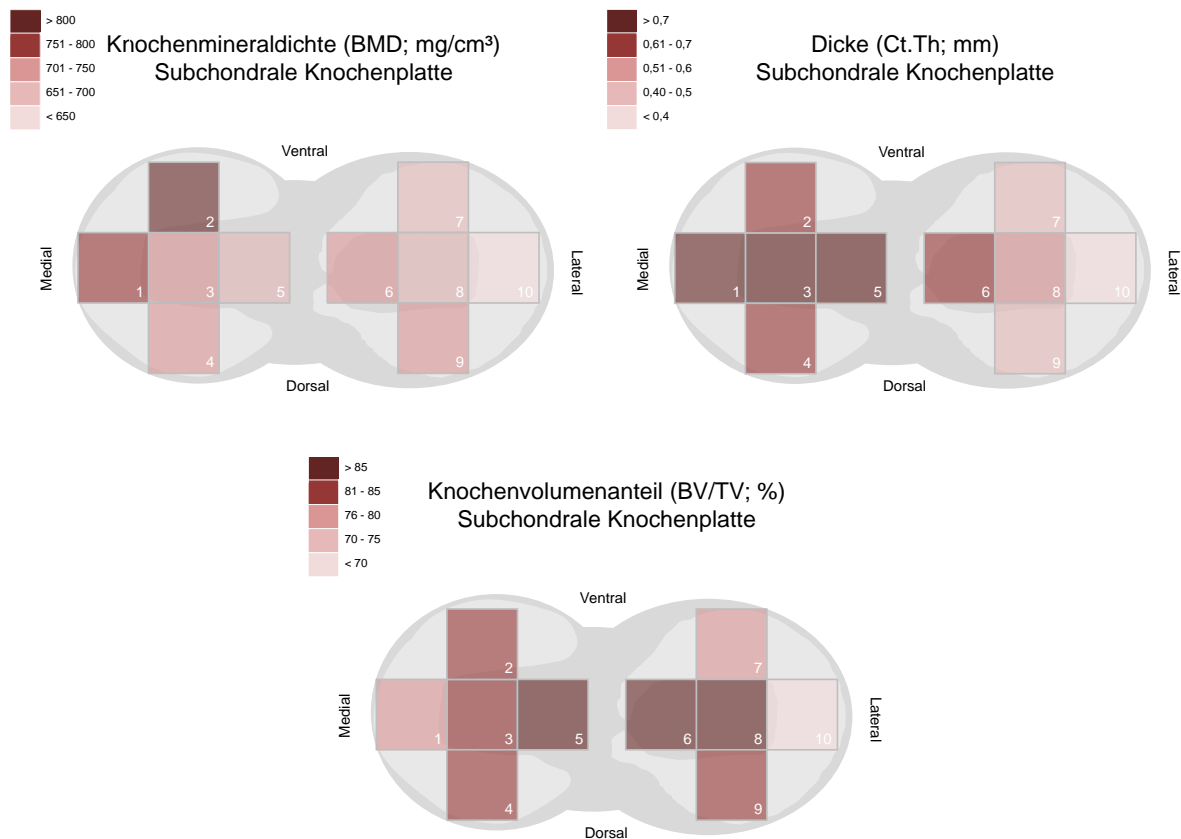


Abbildung 10: Auswertung der Mikro-CT-Ergebnisse (BMD, Ct.Th und BV/TV) der subchondralen Knochenplatte

6.2.1.2 Mediales Plateau versus laterales Plateau

Die mediale (0,71 mm) subchondrale Knochenplatte war signifikant dicker als die laterale (0,51 mm) ($p = 0,021$). Die BMD, BV/TV, BS/TV und BS/BV zeigten im medialen Plateau tendenziell höhere Werte als im lateralen Plateau, jedoch ohne das Signifikanzniveau zu erreichen (Tab.18, Abb. 10).

Parameter	Einheit	medial	lateral	p
		MW ± SD	MW ± SD	
BMD	mg/cm ³	739,27 ± 56,34	679,31 ± 27,46	0,075
BV/TV	%	83,23 ± 3,92	80,22 ± 7,26	0,446
BS/BV	mm ⁻¹	17,42 ± 2,74	16,36 ± 2,99	0,576
BS/TV	mm ⁻¹	13,91 ± 1,11	12,77 ± 1,13	0,146
Ct.Th	mm	0,71 ± 0,06	0,51 ± 0,12	0,021

Tabelle 18: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchungen der subchondralen Knochenplatte: Unterschiede zwischen dem medialen und lateralen Tibiaplateau

6.2.1.3 Submeniskal versus zentral

In den submeniskalen Regionen (medial: 1, 2, 4; lateral: 6, 8, 10) zeigte sich eine signifikant ($p = 0,019$) niedrigere Ct.Th ($0,57 \text{ mm} \pm 0,25$) als in den unbedeckten Regionen (medial: 3, 5; lateral: 6, 8) ($0,68 \text{ mm} \pm 0,21$). Auch die BS/BV war submeniskal ($18,06 \text{ mm}^{-1} \pm 7,69$) gegenüber zentral ($15,14 \text{ mm}^{-1} \pm 5,00$) signifikant erhöht ($p = 0,024$). Im Gegensatz dazu war die BV/TV in den submeniskalen Arealen signifikant geringer ($78,97 \% \pm 10,19$) als in den zentralen Arealen ($85,86 \% \pm 6,51$) ($p < 0,001$) (Tab. 19, Abb. 10).

Parameter	Einheit	submeniskal	zentral	p
		MW ± SD	MW ± SD	
BMD	mg/cm ³	719,25 ± 174,29	694,92 ± 207,06	0,542
BV/TV	%	78,97 ± 10,19	85,86 ± 6,51	<0,001
BS/BV	mm ⁻¹	18,06 ± 7,69	15,14 ± 5,00	0,024
BS/TV	mm ⁻¹	13,71 ± 4,00	12,78 ± 3,42	0,216
Ct.Th	mm	0,57 ± 0,25	0,68 ± 0,21	0,019

Tabelle 19: Ergebnisse der Mikro-CT-Auswertung der submeniskalen und zentralen Regionen der subchondralen Knochenplatte

6.2.2 Subartikuläre Spongiosa

Auch im Bereich der subartikulären Spongiosa wurden mikrostrukturell die medialen und lateralen Plateauhälften, die einzelnen Regionen untereinander sowie die submeniskalen und zentralen Regionen miteinander verglichen.

6.2.2.1 Einzelne Regionen

Der größte Unterschied der BMD konnte zwischen der Region 10 ($574,28 \text{ mg/cm}^3 \pm 198,76$) und den Regionen 1 ($711,02 \text{ mg/cm}^3 \pm 80,93$) und 2 ($711,25 \text{ mg/cm}^3 \pm 35,31$) gefunden werden. Die höchste BV/TV wurde hingegen in Region 3 ($40,57 \% \pm 11,06$) und die niedrigste in Region 10 ($15,66 \% \pm 4,08$) gemessen. Die Tb.Th wies innerhalb des Plateaus nur geringe Unterschiede zwischen den Regionen auf. Die Dicke der Trabekel zeigte sich in Region 4 am höchsten ($0,16 \text{ mm} \pm 0,03$) und in den Regionen 7 ($0,14 \text{ mm} \pm 0,02$) und 9 ($0,14 \text{ mm} \pm 0,2$) am niedrigsten. Die Region 10 wies die höchste Tb.Sp ($0,60 \text{ mm} \pm 0,14$) sowie die niedrigste Tb.N ($1,11 \text{ mm}^{-1} \pm 0,34$) auf. Im Vergleich dazu zeigte die Region 1 die geringste Tb.Sp ($0,30 \text{ mm} \pm 0,11$) und die höchste Tb.N ($3,01 \text{ mm}^{-1} \pm 1,31$) (Tab. 20, Abb. 11).

Regionen	BMD (mg/cm ³)	BV/TV (%)	BS/BV (mm ⁻¹)	BS/TV (mm ⁻¹)	Tb.Th (mm)	Tb.Sp (mm)	Tb.N (mm ⁻¹)	Tb.Pf (mm ¹)
	MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD
1	711,02 ± 80,93	39,65 ± 14,89	26,94 ± 14,9	9,83 ± 3,76	0,14 ± 0,04	0,30 ± 0,11	3,01 ± 1,31	8,25 ± 13,36
2	711,25 ± 35,31	33,02 ± 9,14	22,30 ± 3,61	7,21 ± 1,93	0,15 ± 0,03	0,41 ± 0,11	2,24 ± 0,72	-6,81 ± 8,63
3	676,76 ± 176,7	40,57 ± 11,06	23,94 ± 5,44	9,63 ± 2,95	0,14 ± 0,03	0,32 ± 0,11	3,01 ± 0,97	-12,04 ± 9,39
4	663,21 ± 185,61	30,30 ± 9,09	22,87 ± 5,38	6,84 ± 2,6	0,16 ± 0,03	0,42 ± 0,13	1,90 ± 0,64	-1,27 ± 5,66
5	636,88 ± 216,3	34,02 ± 11,68	21,45 ± 3,49	7,06 ± 1,9	0,15 ± 0,02	0,43 ± 0,13	2,23 ± 0,77	-6,52 ± 6,81
6	645,88 ± 205,33	23,75 ± 9,5	22,92 ± 4,33	5,20 ± 1,57	0,16 ± 0,03	0,54 ± 0,14	1,50 ± 0,54	-0,33 ± 4,97
7	604,03 ± 206,79	17,28 ± 5,41	28,02 ± 4,98	4,71 ± 1,18	0,14 ± 0,02	0,54 ± 0,13	1,27 ± 0,36	5,56 ± 4,84
8	627,97 ± 213,38	24,09 ± 11,27	25,29 ± 4,09	6,04 ± 3,16	0,15 ± 0,02	0,47 ± 0,17	1,70 ± 1,07	1,85 ± 8,11
9	603,14 ± 190,1	24,16 ± 17,07	28,42 ± 5,55	6,27 ± 3,14	0,14 ± 0,02	0,45 ± 0,2	1,76 ± 1,16	2,48 ± 11,73
10	574,28 ± 198,76	15,66 ± 4,08	27,98 ± 6,0	4,30 ± 1,18	0,15 ± 0,03	0,60 ± 0,14	1,11 ± 0,34	7,42 ± 4,03

Tabelle 20: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchung der subartikulären Spongiosa der einzelnen Regionen

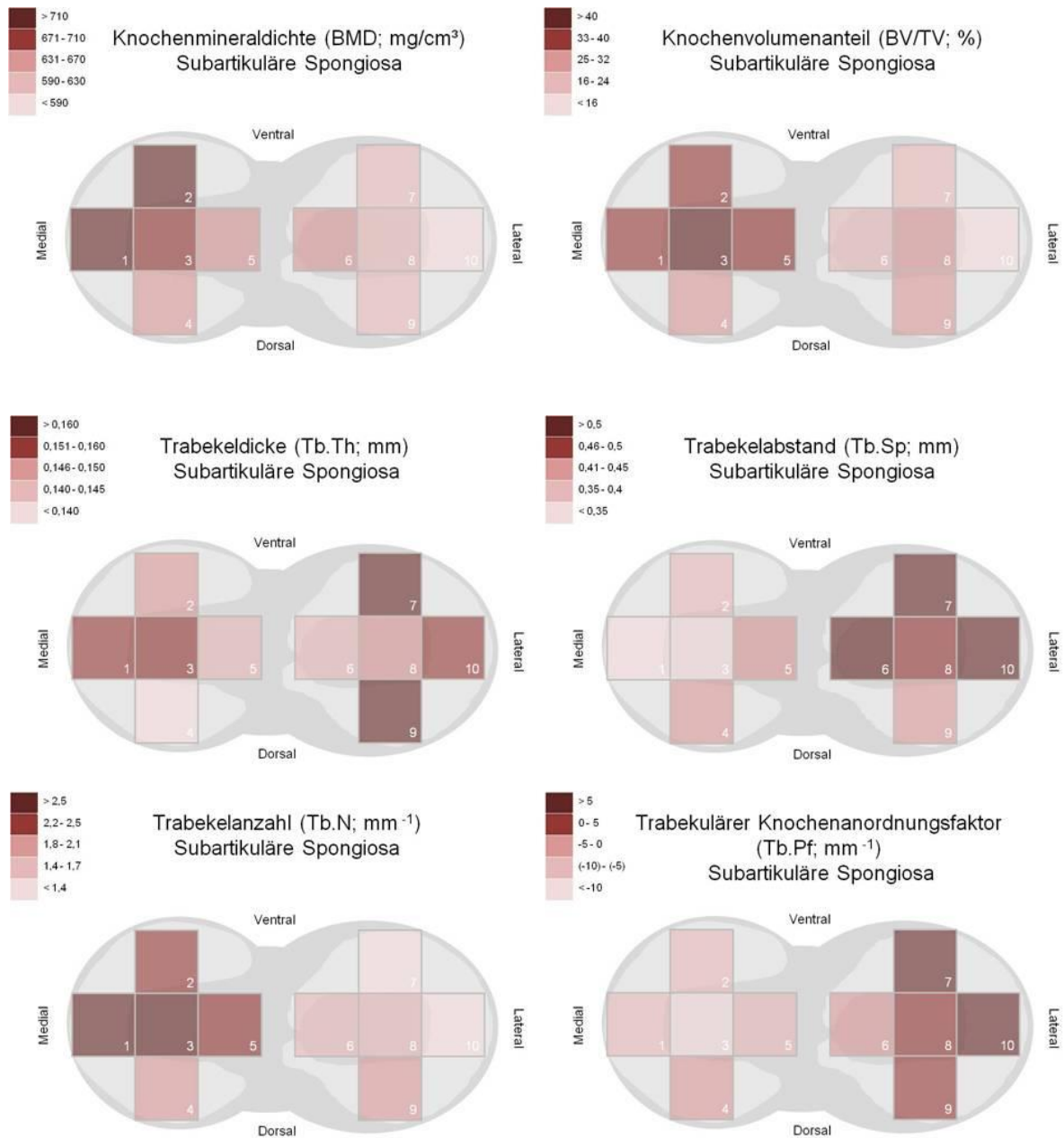


Abbildung 11: Deskriptive topographische Darstellung der mikrostrukturellen Analyse der BMD, BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N und Tb.Pf der subartikulären Spongiosa

6.2.2.2 Vergleich mediales versus laterales Plateau

Die subartikuläre Spongiosa zeigte im medialen Plateau eine signifikant höhere BMD als im lateralen Plateau. Das mediale Plateau wies außerdem eine signifikant größere BV/TV, BS/TV sowie eine größere Tb.N auf. Es konnte zusätzlich gegenüber dem lateralen Plateau eine signifikant niedrigere Tb.Sp ($p = 0,007$) und ein niedrigerer Tb.Pf ($p = 0,002$) im medialen Plateau festgestellt werden (Tab. 21, Abb. 11).

Parameter	Einheit	medial	lateral	p
		MW \pm SD	MW \pm SD	
BMD	mg/cm ³	679,83 \pm 31,98	611,06 \pm 27,22	0,006
BV/TV	%	35,51 \pm 4,42	20,99 \pm 4,17	0,001
BS/BV	mm ⁻¹	23,50 \pm 2,13	26,53 \pm 2,37	0,066
BS/TV	mm ⁻¹	8,12 \pm 1,48	5,30 \pm 0,84	0,010
Tb.Th	mm	0,15 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	0,463
Tb.Sp	mm	0,38 \pm 0,06	0,51 \pm 0,05	0,004
Tb.N	mm ⁻¹	2,48 \pm 0,50	1,47 \pm 0,28	0,007
Tb.Pf	mm ¹	-6,98 \pm 3,88	3,40 \pm 3,08	0,002

Tabelle 21: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchungen der subartikulären Spongiosa: Unterschiede zwischen dem medialen und lateralen Tibiaplateau

6.2.2.3 Vergleich submeniskal versus zentrale Regionen

Der trabekuläre Knochenanordnungsfaktor (Tb.Pf) zeigte signifikant höhere Werte submeniskal als zentral. Ein signifikanter Unterschied ergab sich ebenfalls bei der Analyse der BS/BV (submeniskal: $26,09 \text{ mm}^{-1} \pm 7,79$, zentral: $23,40 \text{ mm}^{-1} \pm 4,46$). In den submeniskalen Regionen wurde bei Untersuchung der BMD kein Unterschied gegenüber den zentralen Regionen festgestellt. Die BV/TV war in den submeniskalen Regionen niedriger als in den zentralen Arealen. In Tb.N, Tb.Th und Tb.Sp waren nur geringe Unterschiede zwischen den Regionen festzustellen (Tab. 22, Abb. 11).

Parameter	Einheit	submeniskal	zentral	p
		MW \pm SD	MW \pm SD	
BMD	mg/cm ³	644,49 \pm 165,76	646,87 \pm 196,43	0,950
BV/TV	%	26,68 \pm 13,59	30,61 \pm 12,7	0,144
BS/BV	mm ⁻¹	26,09 \pm 7,79	23,4 \pm 4,46	0,031
BS/TV	mm ⁻¹	6,53 \pm 3,01	6,98 \pm 2,92	0,451
Tb.Th	mm	0,15 \pm 0,03	0,15 \pm 0,02	0,352
Tb.Sp	mm	0,45 \pm 0,16	0,44 \pm 0,16	0,826
Tb.N	mm ⁻¹	1,88 \pm 1,03	2,11 \pm 1,02	0,274
Tb.Pf	mm ¹	-0,15 \pm 10,28	-4,26 \pm 9,07	0,038

Tabelle 22: Ergebnisse der Mikro-CT-Auswertung der submeniskalen und zentralen Regionen der subartikulären Spongiosa

6.3 Biochemische Auswertung

6.3.1 Vergleich einzelner Regionen

Der höchste DNS-Gehalt des Knorpelgewebes fand sich in Region 9 ($4,09 \text{ ng}/\mu\text{g} \pm 5,56$), der niedrigste hingegen in Region 3 ($1,37 \text{ ng}/\mu\text{g} \pm 0,74$). Der höchste Proteoglykangehalt zeigte sich in Region 7 ($3,37 \mu\text{g}/\mu\text{g} \pm 1,23$) (Tab. 23). Zur Visualisierung wurde auch hier ein deskriptiver Vergleich von DNS-Gehalt, Proteoglykangehalt und des Proteoglykan/DNS-Verhältnisses durchgeführt und graphisch dargestellt (Abb. 12).

Regionen	DNS ($\text{ng}/\mu\text{g}$) MW \pm SD	Proteoglykan ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) MW \pm SD	Proteoglykan/DNS-Verhältnis ($\mu\text{g}/\text{ng}$) MW \pm SD
1	$2,45 \pm 1,07$	$2,88 \pm 0,56$	$1,40 \pm 0,46$
2	$2,07 \pm 1,02$	$3,27 \pm 1,08$	$2,96 \pm 2,51$
3	$1,37 \pm 0,74$	$1,96 \pm 0,78$	$1,80 \pm 1,07$
4	$1,95 \pm 1,04$	$2,40 \pm 0,58$	$2,03 \pm 1,32$
5	$2,21 \pm 1,17$	$2,37 \pm 1,23$	$1,30 \pm 0,55$
6	$2,97 \pm 2,60$	$2,71 \pm 1,50$	$1,21 \pm 0,65$
7	$2,99 \pm 1,06$	$3,37 \pm 1,00$	$2,12 \pm 2,60$
8	$3,74 \pm 3,82$	$2,67 \pm 1,37$	$1,14 \pm 0,45$
9	$4,09 \pm 5,56$	$2,55 \pm 0,77$	$1,16 \pm 0,40$
10	$3,43 \pm 2,20$	$3,15 \pm 1,44$	$1,04 \pm 0,45$

Tabelle 23: Ergebnisse der biochemischen Untersuchung des Gelenkknorpels aller 10 Regionen

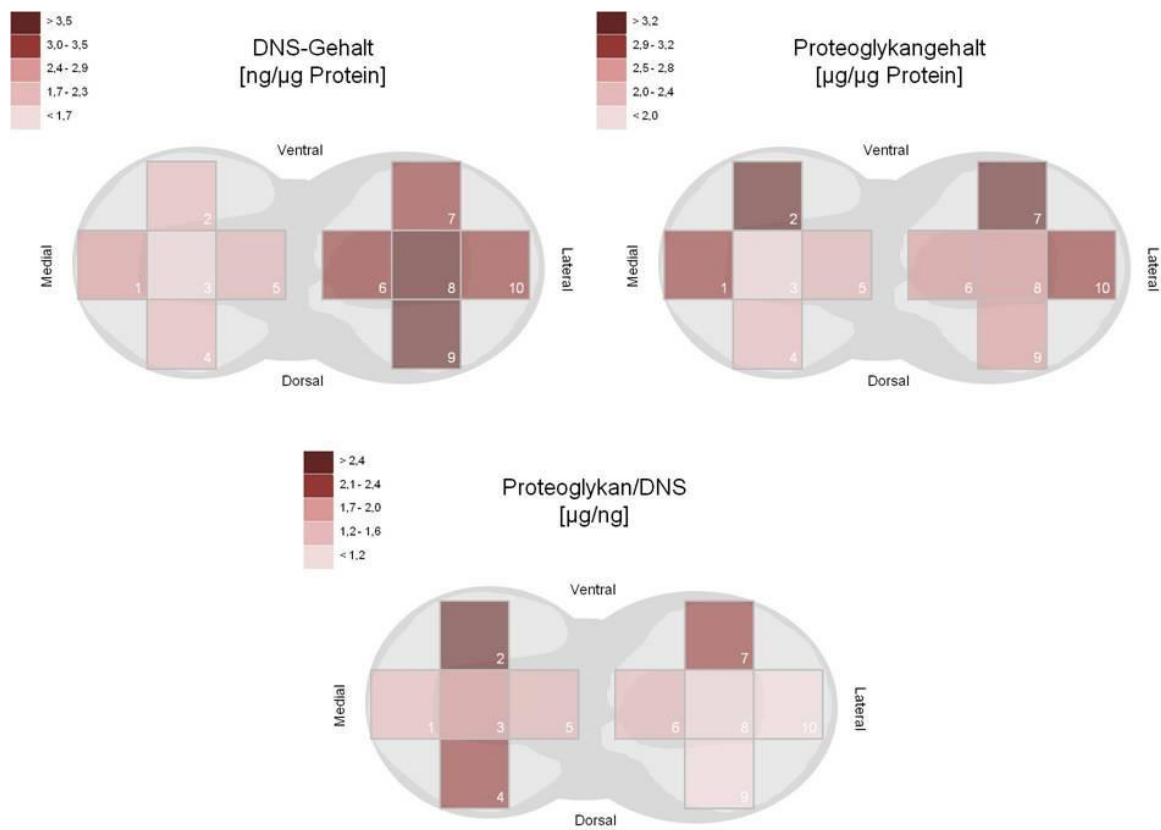


Abbildung 12: Biochemische Auswertung: DNS-, Proteoglykangehalt und Proteoglykan/DNS Verhältnis

6.3.2 Vergleich mediales versus laterales Plateau

Der Knorpel im medialen Plateau zeigte einen signifikant erniedrigten DNS-Gehalt gegenüber dem lateralen Plateau ($p = 0,001$). Für den Proteoglykangehalt und das Proteoglykan/DNS-Verhältnis wurde kein signifikanter Unterschied zwischen medial und lateral festgestellt (Tab. 24, Abb. 12).

Parameter	medial MW \pm SD	lateral MW \pm SD	p
DNS (ng/ μ g)	2,01 \pm 0,40	3,44 \pm 0,49	0,001
Proteoglykan (μ g/ μ g)	2,58 \pm 0,51	2,89 \pm 0,35	0,295
Proteoglykan/DNS (μ g/ng)	1,90 \pm 0,66	1,33 \pm 0,44	0,155

Tabelle 24: Biochemische Eigenschaften des medialen und lateralen Tibiaplateaus im Vergleich

6.3.3 Vergleich submeniskale versus zentrale Regionen

Ein signifikant höherer Gehalt ($p = 0,032$) an Proteoglykanen bestand in den submeniskalen Regionen (2,94 μ g/ μ g \pm 0,98) gegenüber den zentralen Regionen (2,43 μ g/ μ g \pm 1,2) (Tab. 25, Abb. 12). Die Parameter DNS-Gehalt und Proteoglykan/DNS-Verhältnis zeigten in diesem Vergleich keine signifikanten Unterschiede.

Parameter	submeniskal MW \pm SD	zentral MW \pm SD	p
DNS (ng/ μ g)	2,83 \pm 2,59	2,57 \pm 2,48	0,617
Proteoglykan (μ g/ μ g)	2,94 \pm 0,98	2,43 \pm 1,24	0,032
Proteoglykan/DNS (μ g/ng)	1,78 \pm 1,67	1,36 \pm 0,74	0,089

Tabelle 25: Ergebnisse der biochemischen Untersuchung der submeniskalen und zentralen Regionen des Gelenkknorpels

6.4 Auswertung im klinischen Kontext

Die untersuchten Proben entstammen aus einem Patientenkollektiv von sechs weiblichen und vier männlichen Patienten, die zum Entnahmezeitpunkt im Durchschnitt 66,3 Jahre alt waren. Der BMI der Patienten lag im Mittel bei 30,1 kg/m² ± 5,6, wobei die weiblichen Patienten mit 30,9 kg/m² ± 6,6 (Adipositas Grad I) höhere Werte als die männlichen Patienten (28,9 kg/m² ± 4,3; Präadipositas) aufwiesen.

Alter	Geschlecht	BMI kg/(m) ²	Prä-OP Kniebeweglich- keit	Kellgren- Lawrence- Klassifikation		anatomische Beinachse (°Varus)	Gruppe nach Varus- fehl- stellung
				medial	lateral		
64	w	40,2	0/0/100	4	3	6	2
64	m	31,6	0/10/110	4	2	3	1
74	m	25,7	0/0/120	4	3	7	2
77	w	21,0	0/0/70	4	3	9	3
69	w	32,3	0/20/80	4	3	3	1
67	w	35,2	0/0/100	3	2	10	3
65	m	24,8	0/3/105	4	3	6	2
46	m	33,6	0/0/130	3	2	4	2
68	w	27,7	0/0/110	3	2	3	1
69	w	28,9	0/0/110	2	2	11	3

Tabelle 26: Darstellung der klinischen Daten. Die Einteilung der Patienten erfolgte nach Grad der Varusfehlstellung in 3 Gruppen (Gruppe 1: 1-3°, Gruppe 2: 4-6° und Gruppe 3: >7° Varusabweichung von der Norm)

Bei allen Patienten wurde präoperativ anhand der Kellgren-Lawrence-Klassifikation [38] eine Gonarthrose verifiziert. Die Patienten wiesen

Arthrosegrade nach Kellgren und Lawrence zwischen 2 und 4 auf, welche einer leichten bis ausgeprägten Gonarthrose entsprechen (Tab. 10). In den medialen Gelenkkompartimenten bestand ein Mittelwert von $3,4 \pm 0,7$ und in den lateralen von $2,6 \pm 0,7$ ($p = 0,020$).

6.4.1 Präoperative Kniebeweglichkeit

Bei allen Patienten wurde präoperativ die Kniebeweglichkeit nach der Neutral-Null-Methode (Norm: $5-10^\circ/0/120-150^\circ$) gemessen. Bei einer mittleren Flexionsfähigkeit von $103,5^\circ \pm 17,6^\circ$ präsentierten alle Patienten ein relatives Beugedefizit. Dabei lag die Flexionsfähigkeit der weiblichen Patienten mit $95,0^\circ \pm 16,7^\circ$ unter jener der männlichen Patienten ($116,3^\circ \pm 11,1^\circ$) (Tab. 26).

6.4.2 Auswertung der nativradiologischen Ganzbeinaufnahmen

Nach Auswertung der röntgenologischen Ganzbeinaufnahmen der Patienten im Stehen lag im Mittel eine anatomische Beinachse von $-6,2^\circ \pm 3,2^\circ$ vor, was eine varische Abweichung von der physiologischen anatomischen Beinachse (Norm: 6° Valgus) um $12,2^\circ \pm 3,2^\circ$ anzeigt.

6.4.3 Grad der Varusfehlstellung

Die Patienten wurden nach dem Grad ihrer Varusfehlstellung in drei Gruppen eingeteilt. Auffällig war ein abnehmender Arthrosegrad von medial nach lateral in allen drei Gruppen (Tab. 26). Dabei war der Unterschied des Arthrosegrades zwischen dem medialen und lateralen Plateau in Gruppe 1 ($p = 0,046$) und Gruppe 3 signifikant ($p = 0,002$). Im medialen Plateau in Gruppe 3 zeigten sich insgesamt höhere Mankin-Werte als in den Gruppen 1 und 2. Ein signifikanter Unterschied war hier jedoch nicht festzustellen. Im Vergleich dazu konnten im lateralen Plateau in Gruppe 3 niedrigere Arthrosegrade als in Gruppe 1 und 2 gemessen werden (Abb. 13). Der histologische Arthrosegrad nach OARSI unterschied sich signifikant zwischen dem medialen und lateralen Plateau in Gruppe 1 ($p = 0,018$) und in Gruppe 3 ($p = 0,002$) (Abb. 14).

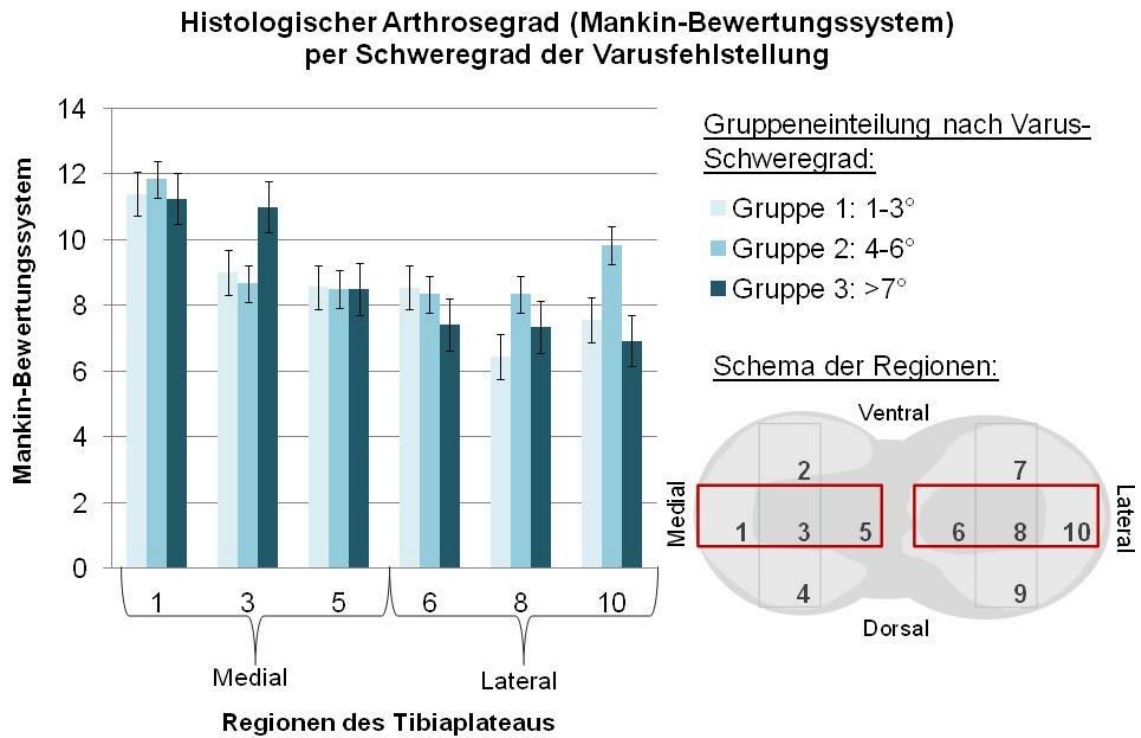


Abbildung 13: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zu dem histologischen Arthrosegrad nach Mankin [2]

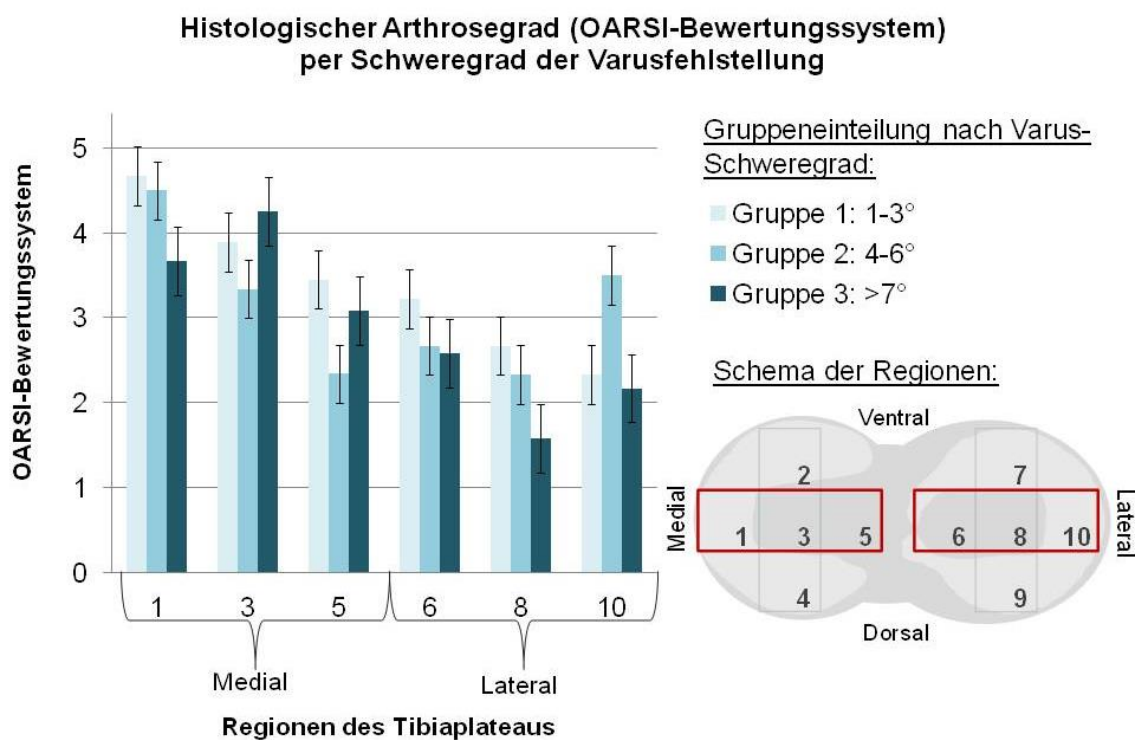


Abbildung 14: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zu dem histologischen Arthrosegrad nach OARSI [3]

Bei Untersuchung der BMD der subchondralen Knochenplatte (Abb. 15) in Relation zum Grad der Varusfehlstellung zeigten sich in Gruppe 2 nur diskrete Veränderungen zwischen den Regionen. Hingegen waren in der Gruppe 1 und 3 starke Schwankungen zwischen den Regionen zu finden. In der Gruppe 3 fiel die Knochenmineraldichte nach lateral um ca. 180 mg/cm³ ab: In der größten Belastungszone (Region 1) war in der Gruppe 3 der höchste BMD-Wert zu finden (793,5 mg/cm³ ± 94,09). Demgegenüber bestand in der am wenigsten belasteten Region 10 auch der niedrigste gemessene BMD-Wert (611,46 mg/cm³ ± 264,9).

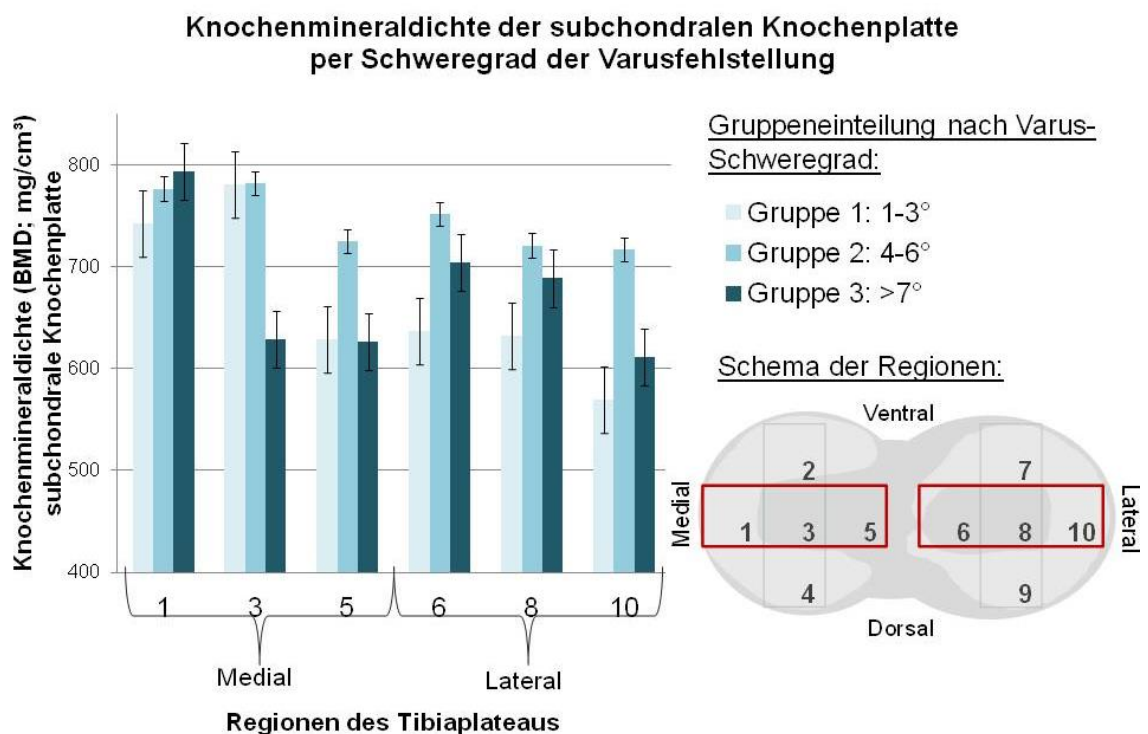


Abbildung 15: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zu der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte (BMD; mg/cm³)

In Abbildung 16 ist die Dicke der subchondralen Knochenplatte (Ct.Th) in Relation zum Schweregrad der Varusfehlstellung abgebildet. Die Ct.Th zeigte signifikante Unterschiede zwischen dem medialen und lateralen Plateau in Gruppe 2 ($p = 0,004$) und in Gruppe 3 ($p = 0,018$). Ein signifikanter Unterschied ergab sich in Gruppe 3 zwischen Region 5 und 10 ($p = 0,017$).

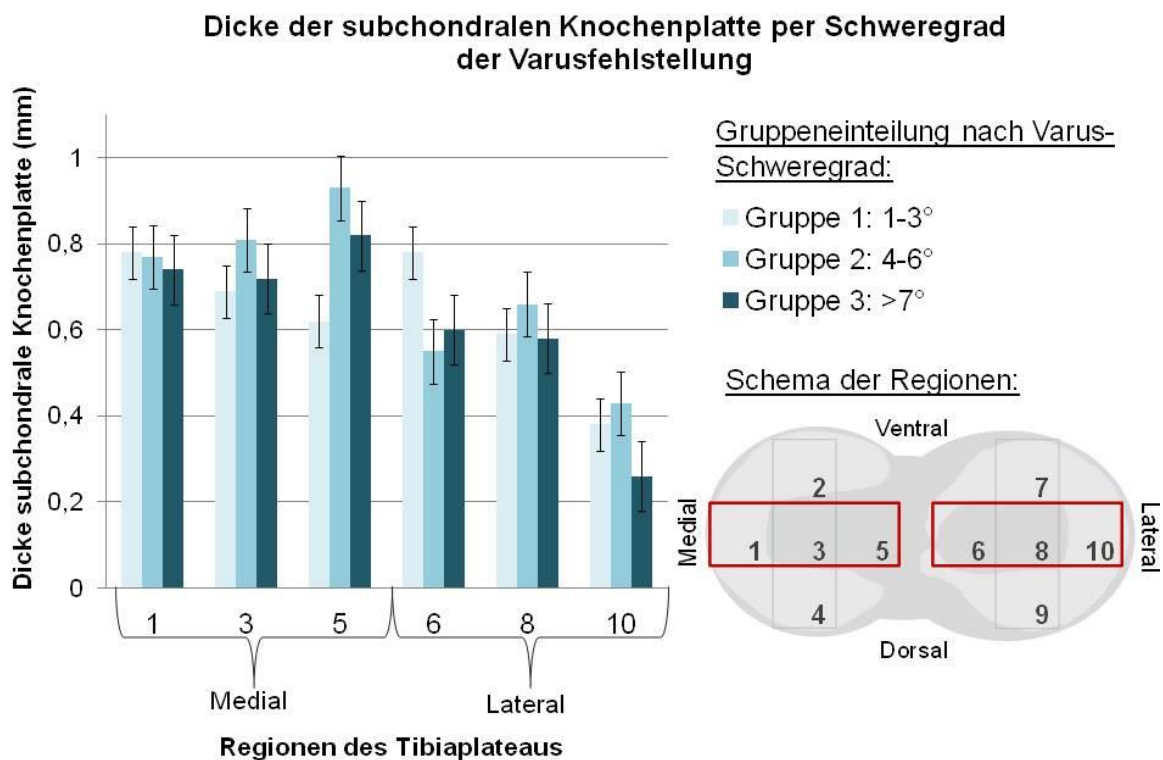


Abbildung 16: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zur Dicke der subchondralen Knochenplatte (Ct.Th; mm)

Abbildung 17 zeigt die Dicke der Trabekel verglichen mit dem Grad der Varusfehlstellung. Die Trabekeldicke war in allen Regionen im Durchschnitt in Gruppe 1 am höchsten ($0,16 \text{ mm} \pm 0,03$) und damit signifikant ausgeprägter als in Gruppe 2 ($0,13 \text{ mm} \pm 0,02$; $p = 0,004$).

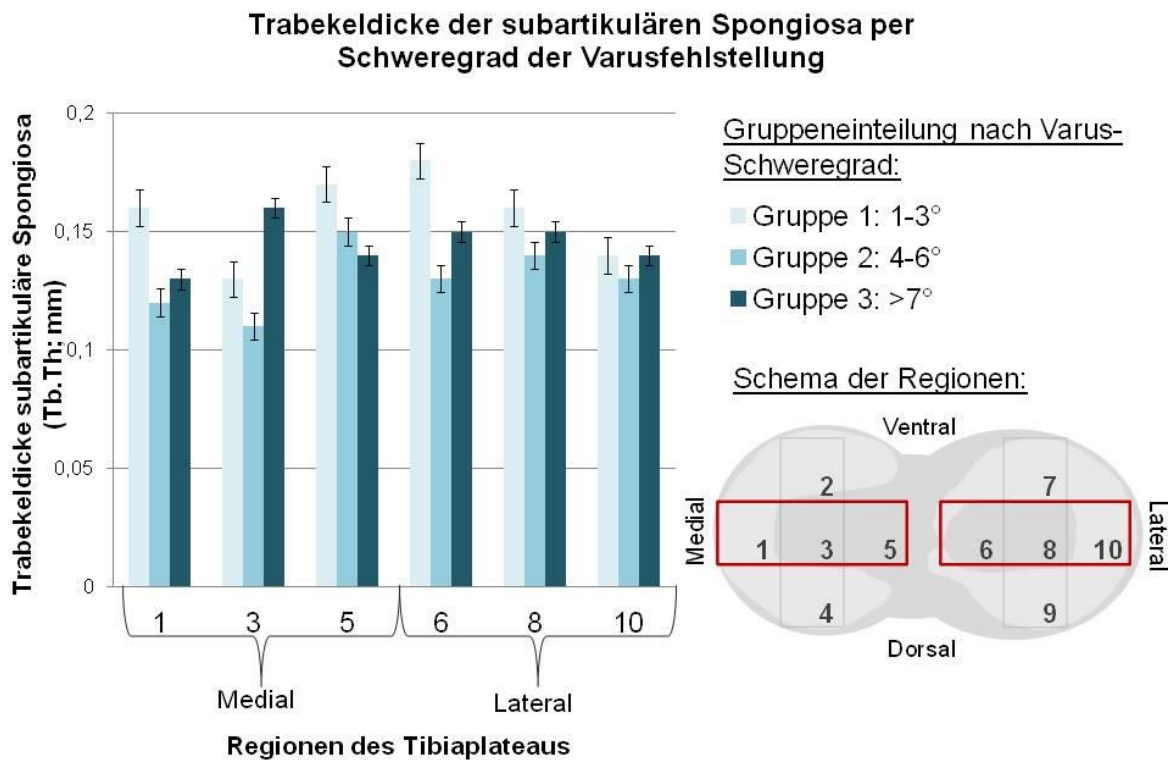


Abbildung 17: Grad der Varusfehlstellung in Relation zur Trabekeldicke (Tb.Th; mm)

Hinsichtlich der Trabekelanzahl lagen in allen 3 Gruppen signifikant höhere Werte im medialen als im lateralen Plateau vor (Gruppe 1: $p = 0,004$, Gruppe 2: $p = 0,002$, Gruppe 3: $p = 0,001$). Dabei war die Trabekelanzahl in Gruppe 2 ($2,58 \text{ mm}^{-1} \pm 1,21$) am höchsten und in der Gruppe 1 am niedrigsten ($1,89 \text{ mm}^{-1} \pm 0,98$) (Abb.18).

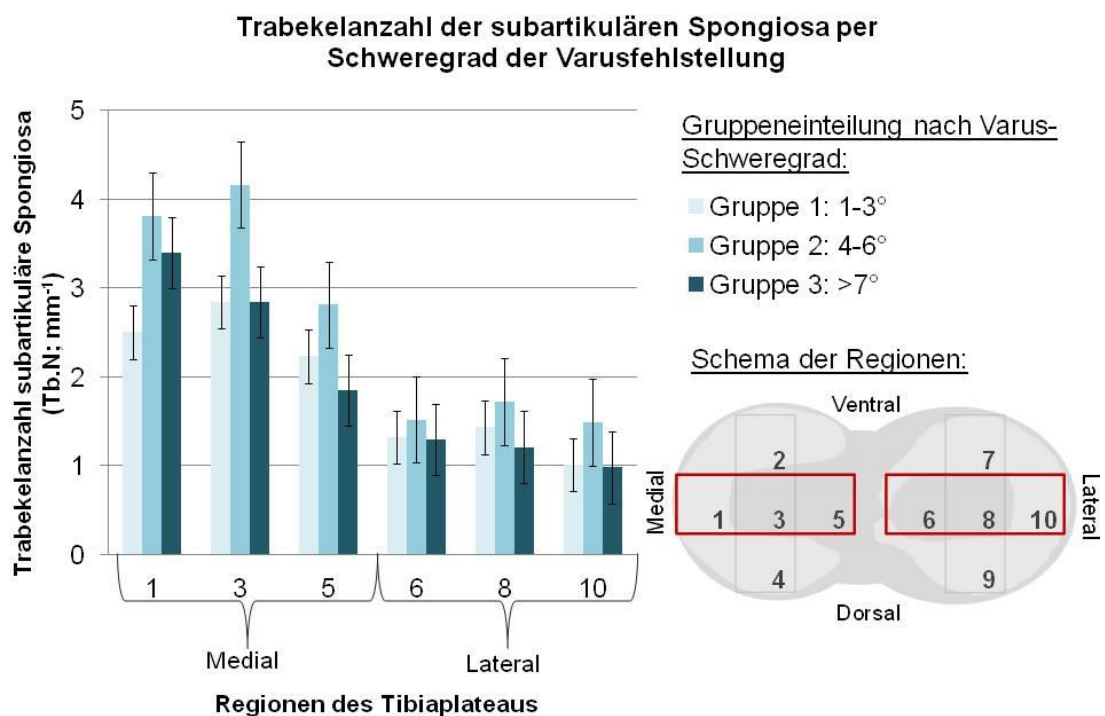


Abbildung 18: Grad der Varusfehlstellung in Relation zur Trabekelanzahl (Tb.N.; mm^{-1})

Die Relation zwischen dem Grad der Varusfehlstellung und dem DNS-Gehalt des Gelenkknorpels zeigt Abbildung 19. Im Durchschnitt errechnete sich für die Gruppe 2 ($1,69 \text{ ng}/\mu\text{g} \pm 0,54$) der niedrigste DNS-Gehalt und für die Gruppe 3 der höchste ($3,22 \text{ ng}/\mu\text{g} \pm 2,34$). Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen waren mit $p = 0,005$ signifikant. Des Weiteren konnte in allen drei Gruppen im medialen Plateau ein geringerer DNS-Gehalt als im lateralen Plateau festgestellt werden.

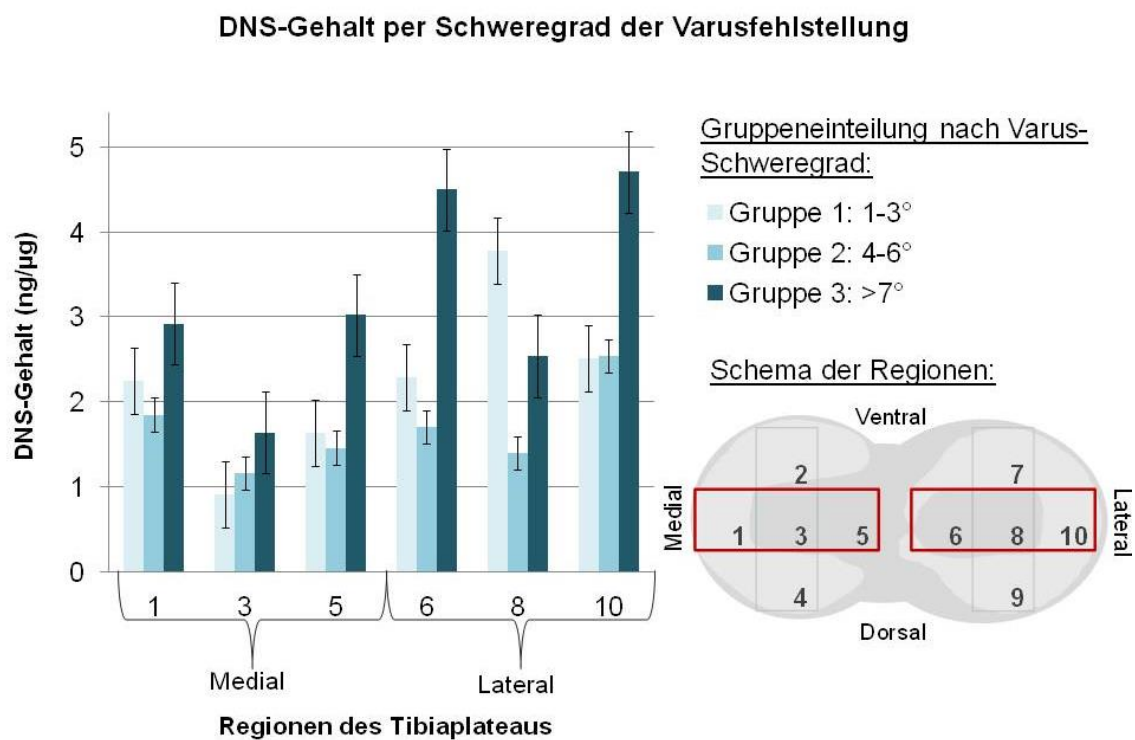


Abbildung 19: Der Grad der Varusfehlstellung verglichen mit dem DNS-Gehalt des Gelenkknorpels ($\text{ng}/\mu\text{g}$)

6.5 Korrelationsanalysen

6.5.1 Histologische Bewertungssysteme

Bei der Korrelationsanalyse der Gesamtpunktwerte des Mankin- und des OARSI-Bewertungssystems aller 100 Messwerte (10 Plateaus mit je 10 Regionen) zeigte sich ein fast-linearer Zusammenhang ($r = 0,89$; $p < 0,001$) (Abb. 20). Das Mankin-Bewertungssystem und das OARSI-Bewertungssystem korrelierten in allen 10 Regionen signifikant miteinander ($p = 0,001$). Für jede Region konnte ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,70 - 0,99$ errechnet werden, entsprechend einem sehr starken Zusammenhang zwischen den Variablen (Tab. 12, Abb. 21).

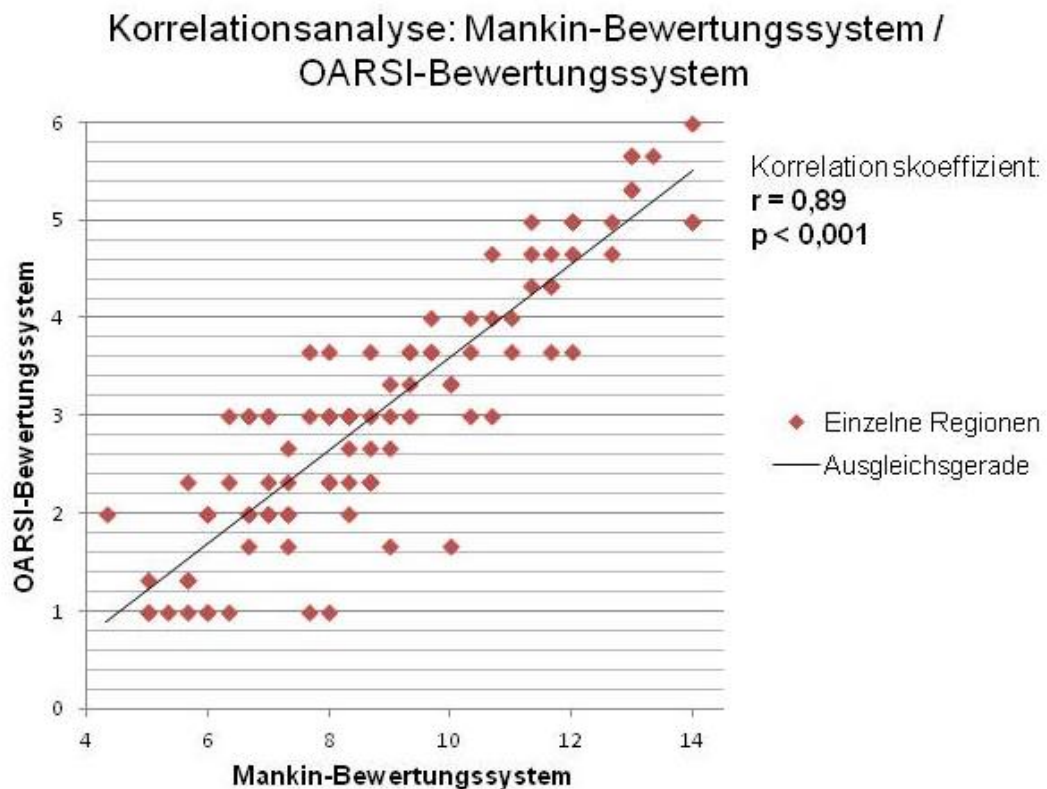


Abbildung 20: Streudiagramm zur Korrelationsanalyse des OARSI- und des Mankin-Bewertungssystems

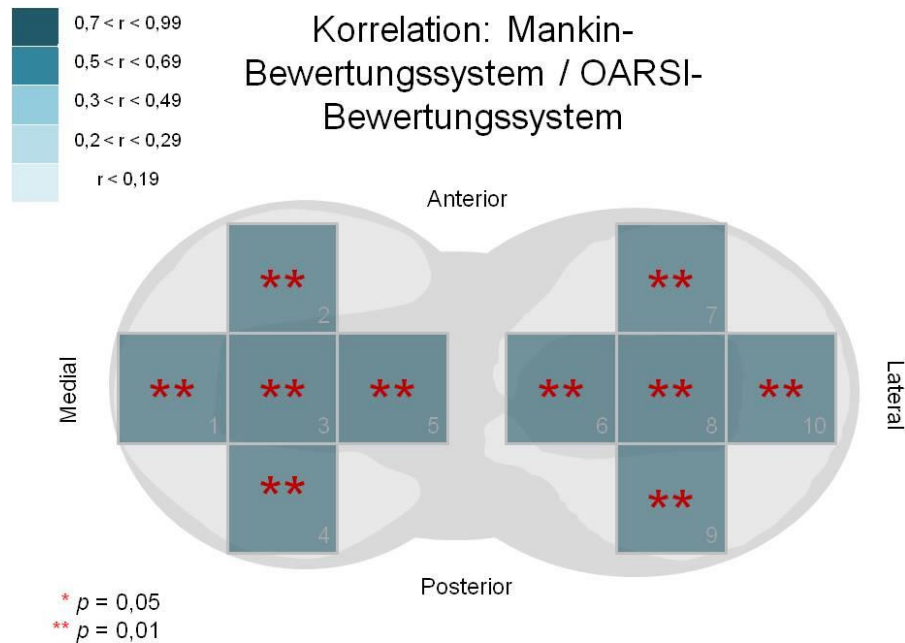


Abbildung 21: Die Korrelationsanalyse zwischen den beiden histologischen Bewertungssystemen ergab in allen 10 Regionen einen sehr starken, statistisch signifikanten Zusammenhang ($p = 0,010$)

6.5.2 Mikro-CT-Auswertung: Subchondrale Knochenplatte

6.5.2.1 Korrelationsanalyse: Mankin-Bewertungssystem und BMD

Die Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte mit dem Mankin-Bewertungssystem ergab übergreifend keinen signifikanten Zusammenhang beider Variablen ($r = -0,055$; $p = 0,584$). Bei Analyse der einzelnen Regionen wies jedoch vor allem die Region 5 einen signifikanten ($p = 0,017$), sehr stark negativen Zusammenhang ($r = -0,72$) auf. Die Regionen 1, 2, 3, 7 und 9 zeigten mit Korrelationskoeffizienten von $r = 0,20 - 0,50$ einen schwachen bis mittelstarken Zusammenhang (Abb. 22).

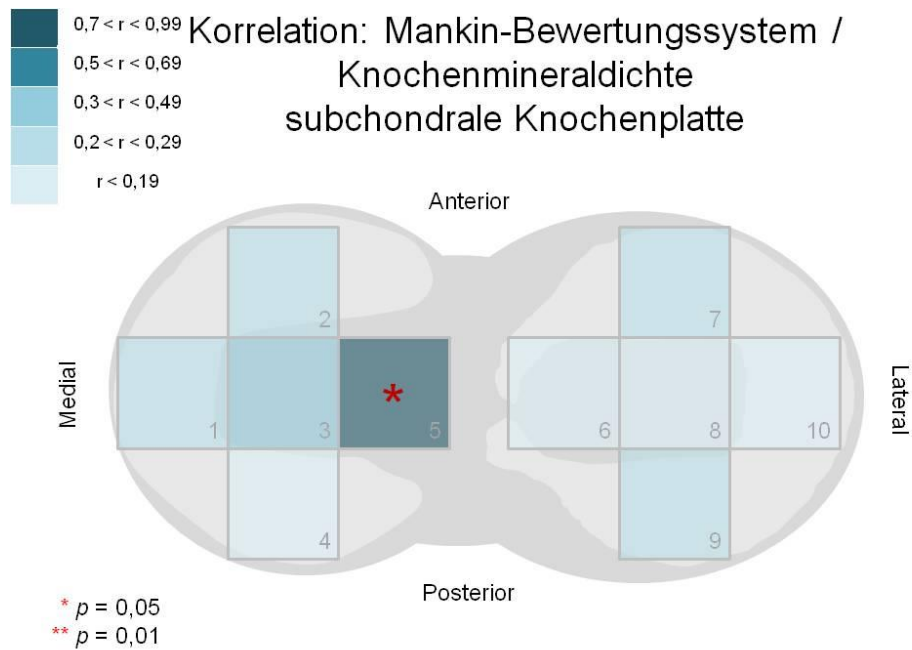


Abbildung 22: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte

6.5.2.2 Korrelationsanalyse: Mankin-Bewertungssystem und Ct.Th

Mittelstarke Zusammenhänge wurden zwischen der Dicke der subchondralen Knochenplatte (Ct.Th) und dem Mankin-Bewertungssystem beobachtet. Eine Korrelationsanalyse aller 100 Messwerte ergab einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,42$ ($p < 0,001$) (Abb. 23). Bei der Analyse der einzelnen Regionen zeigte sich insbesondere für Region 2 eine sehr starke, signifikante ($p = 0,001$) Korrelation von $r = 0,87$. (Abb. 24).

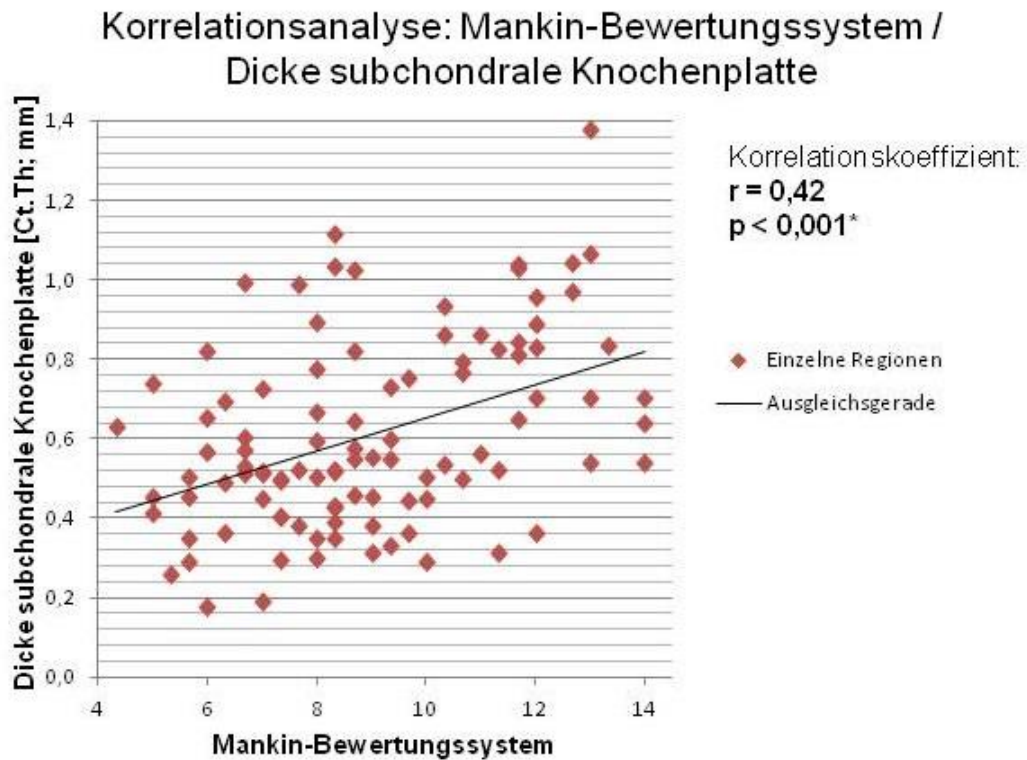


Abbildung 23: Streudiagramm zur Korrelationsanalyse aller 100 Messwerte des Mankin-Bewertungssystems mit der Dicke der subchondralen Knochenplatte

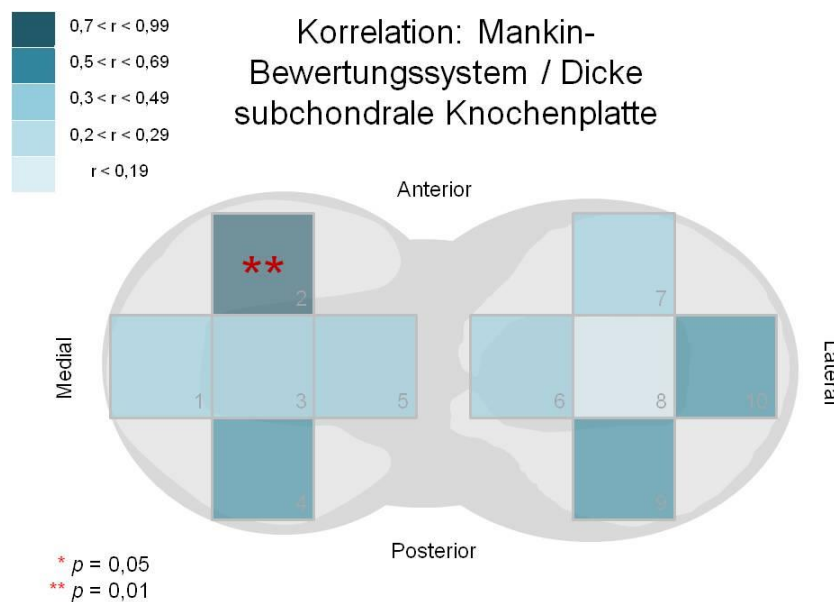


Abbildung 24: Korrelationsanalyse der Dicke der subchondralen Knochenplatte (Ct.Th) mit dem Mankin-Bewertungssystem

6.5.2.3 Korrelationsanalyse: OARSI-Bewertungssystem und Ct.Th

Weiterhin ließ sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem OARSI-Bewertungssystem und der Dicke der subchondralen Knochenplatte in Region 2 von $r = 0,83$ ($p = 0,003$) und in Region 1 von $r = 0,64$ ($p = 0,045$) nachweisen. Für die Regionen 4, 7, und 10 zeigten sich mittelstarke Zusammenhänge von $0,3 < r < 0,49$ (Abb. 25).

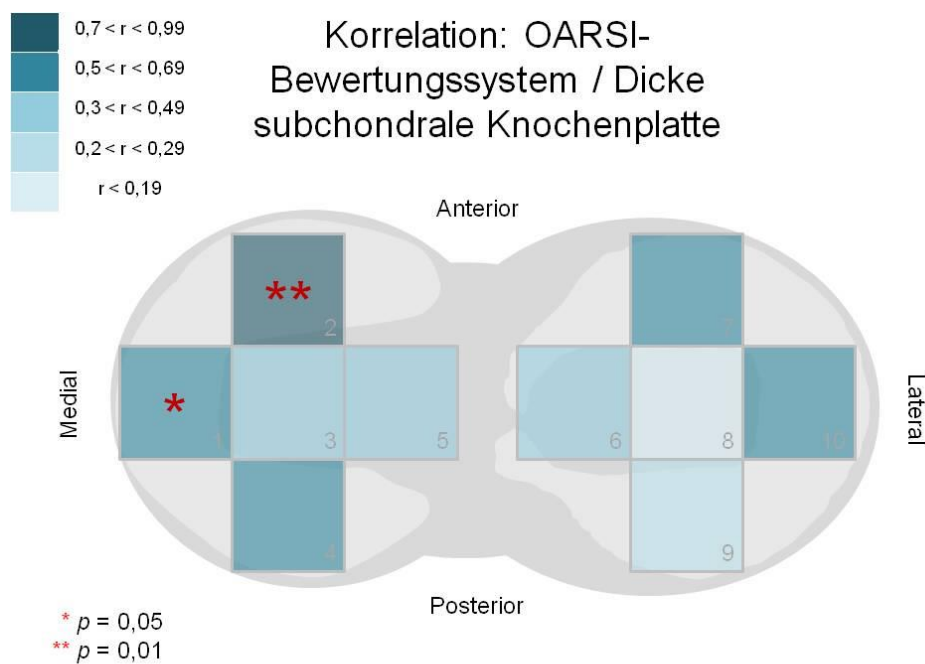


Abbildung 25: Korrelationsanalyse der Dicke der subchondralen Knochenplatte (Ct.Th) mit dem OARSI-Bewertungssystem

6.5.3 Mikro-CT-Auswertung: Subartikuläre Spongiosa

6.5.3.1 Korrelationsanalyse: Mankin-Bewertungssystem und BMD

Die Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit der Knochenmineraldichte der subartikulären Spongiosa ergab keine signifikanten Zusammenhänge ($r = -0,03$; $p = 0,767$). Bei der Betrachtung der einzelnen Regionen offenbarte sich nur in Region 5 mit $r = -0,72$ ein stark negativer, signifikanter ($p = 0,018$) Zusammenhang (Abb. 26).

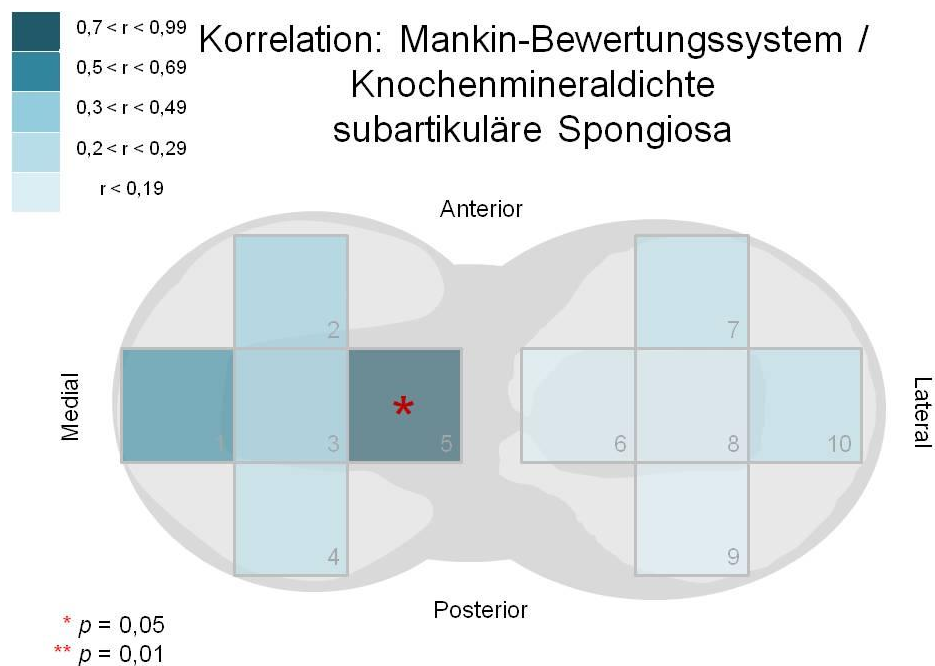


Abbildung 26: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems und der BMD der subartikulären Spongiosa

6.5.3.2 Korrelationsanalyse: Mankin-Bewertungssystem und BV/TV

Bei der Betrachtung der Korrelationsanalyse zwischen dem Mankin-Bewertungssystem und dem Knochenvolumenanteil (BV/TV) ergab sich insgesamt ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,37$ ($p < 0,001$) (Abb. 27). Die differenzierte Korrelationsanalyse der einzelnen Regionen zeigte in den Regionen 2 und 6 einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,70$ ($p = 0,034$) bzw. $r = 0,75$ ($p = 0,012$) (Abb. 28).

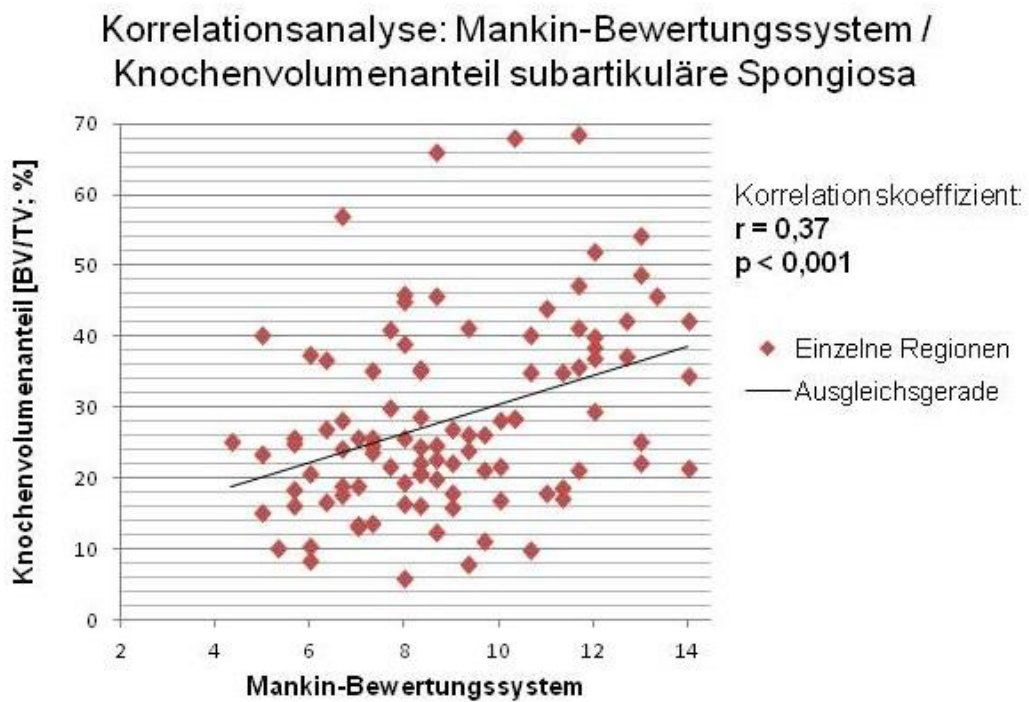


Abbildung 27: Streudiagramm zur Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit dem Knochenvolumenanteil der subartikulären Spongiosa

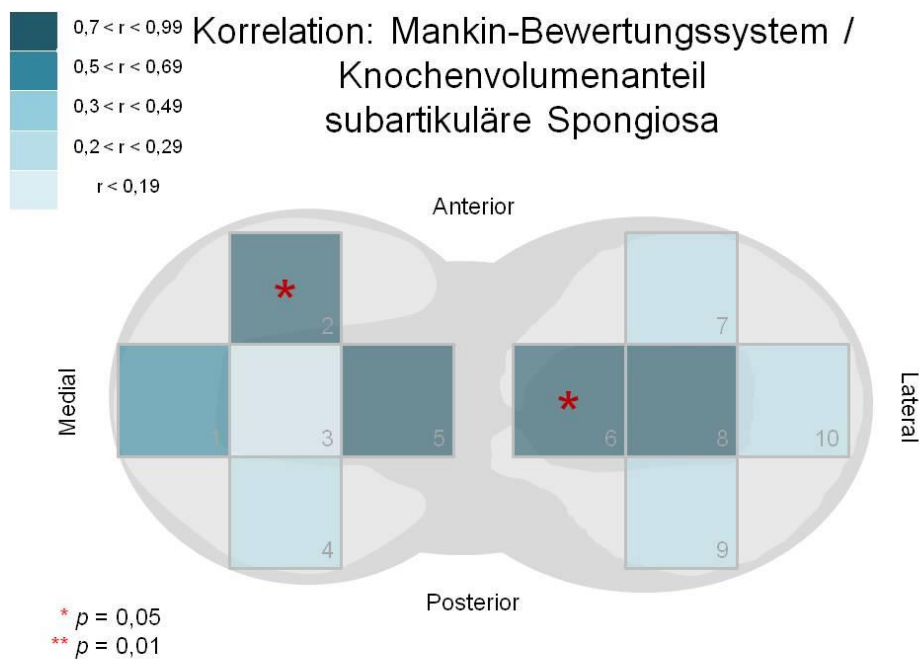


Abbildung 28: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit dem Knochenvolumenanteil der subartikulären Spongiosa

6.5.3.3 Korrelationsanalyse: Mankin-Bewertungssystem und Tb.Pf

Eine mittelstarke, negative Korrelation von $r = -0,45$ ($p < 0,001$) konnte zwischen dem Mankin-Bewertungssystem und dem trabekulären Knochenanordnungsfaktor (Tb.Pf) für alle 100 Proben errechnet werden (Abb. 29). Die Korrelationsanalyse der einzelnen Regionen zeigte in den Regionen 2 und 8 ein Signifikanzniveau von $p < 0,050$. In Region 6 lag ein Korrelationskoeffizient von $r = -0,77$ sowie ein Signifikanzniveau von $p = < 0,01$ vor (Abb. 30).

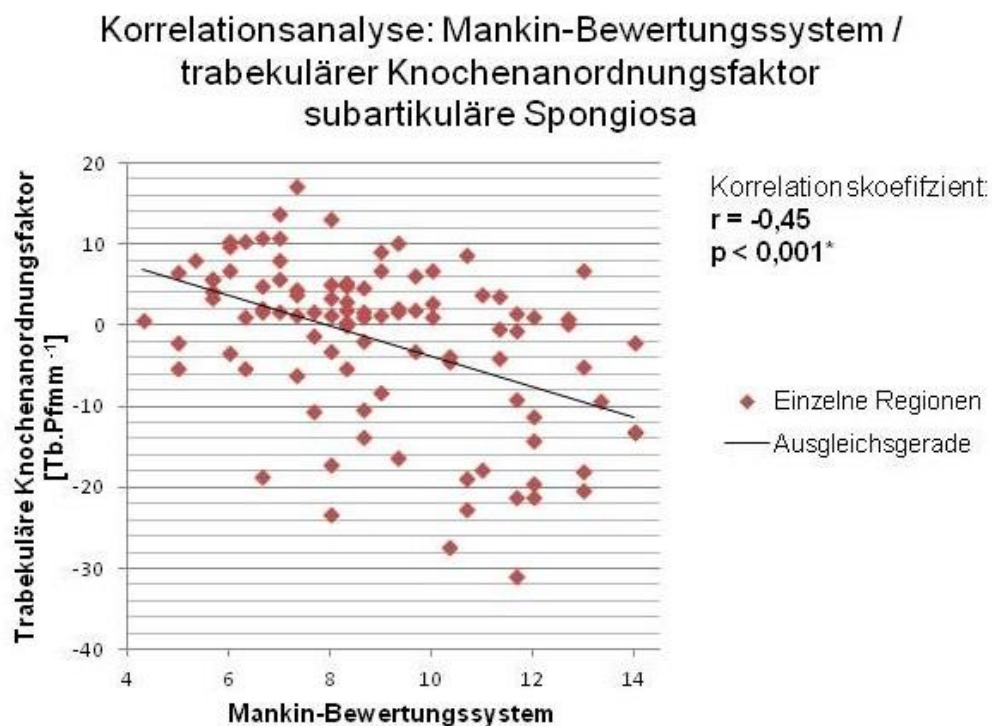


Abbildung 29: Streudiagramm der Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems und des trabekulären Knochenanordnungsfaktors

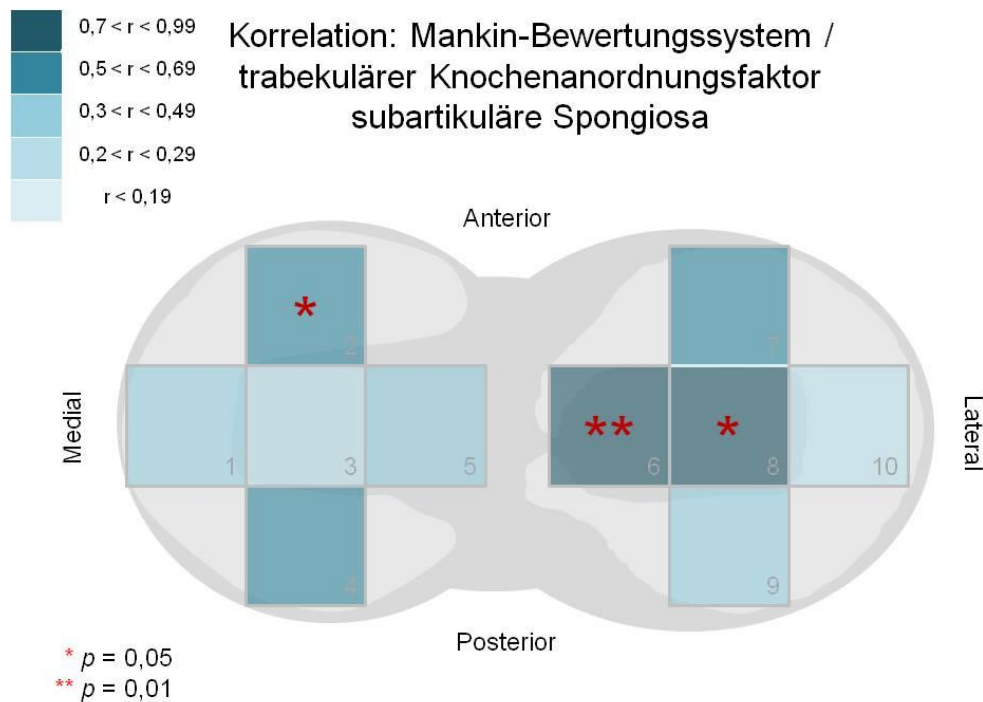


Abbildung 30: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems und des trabekulären Knochenanordnungsfaktors (Tb.Pf)

6.5.4 Biochemische Auswertung

6.5.4.1 Korrelationsanalyse: Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte und DNS-Gehalt

Die Korrelationsanalyse zwischen DNS-Gehalt und der BMD der subchondralen Knochenplatte zeigte einen negativen, mittelstarken Zusammenhang ($r = -0,30$; $p = 0,002$) (Abb. 31). Vor allem in den Regionen 3 ($r = -0,80$; $p = 0,005$) und 4 ($r = -0,70$; $p = 0,03$) zeigten sich sehr starke Zusammenhänge in der Korrelationsanalyse (Abb. 32).

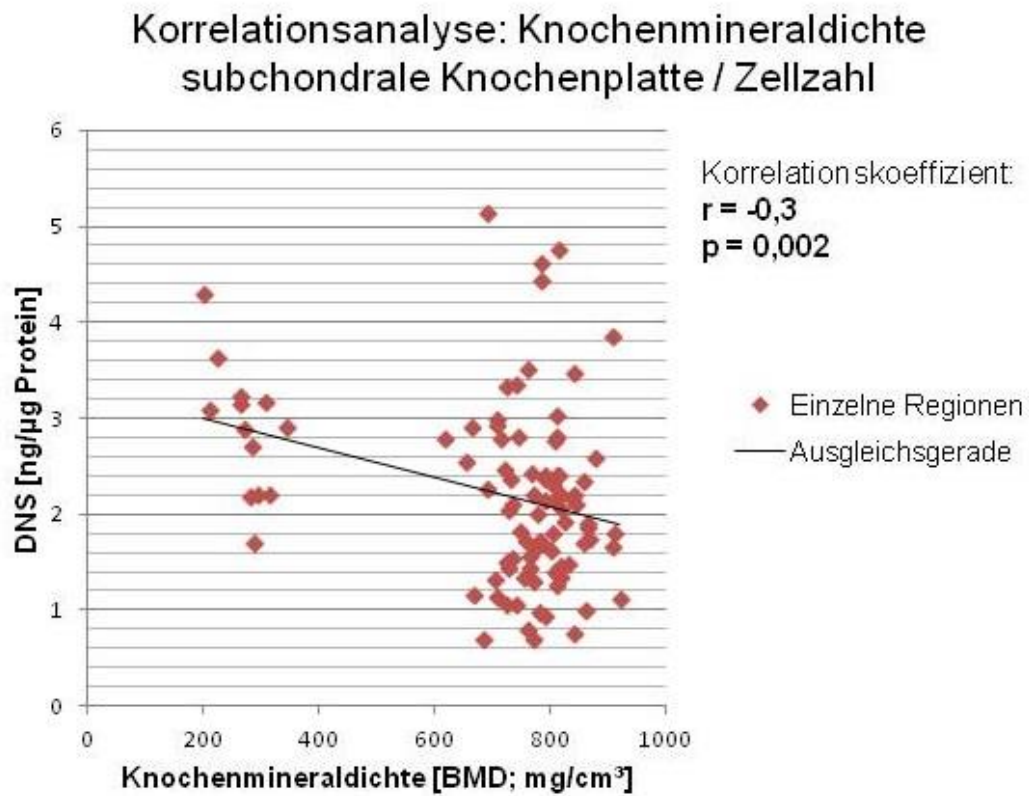


Abbildung 31: Streudiagramm der Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte und des DNS-Gehalts des Gelenknorpels

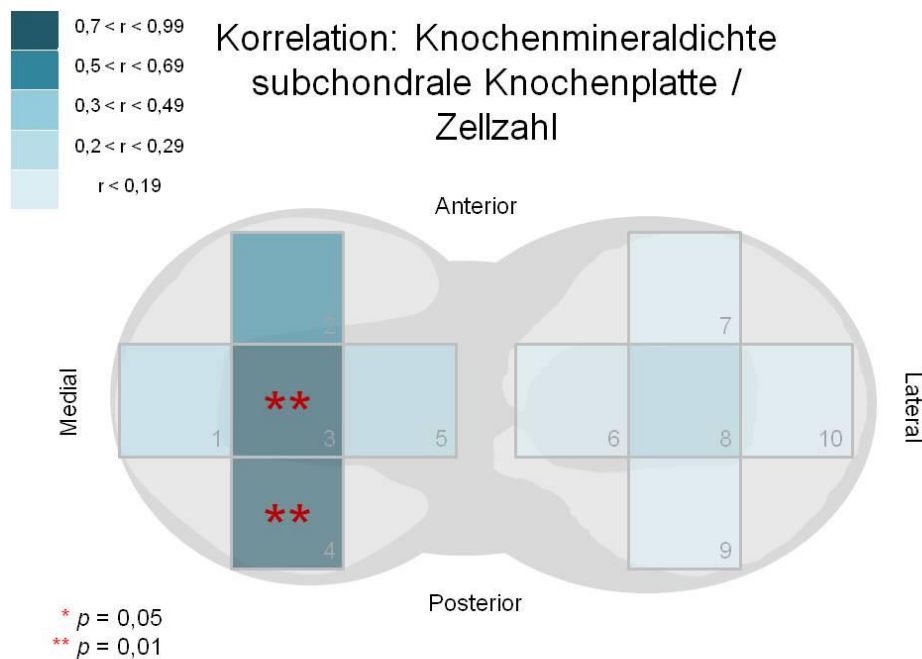


Abbildung 32: Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte und des DNS-Gehalts

6.5.4.2 Korrelationsanalyse: Knochenmineraldichte der subartikulären Spongiosa und DNS-Gehalt

Für die BMD der subartikulären Spongiosa wurde mit dem DNS-Gehalt des Gelenkknorpels im Mittel über alle Regionen ein Korrelationskoeffizient von $r = -0,37$ ermittelt ($p < 0,001$) (Abb. 33). Bei der Analyse der einzelnen Regionen fielen sehr starke Korrelationen in Region 3 ($r = 0,83$; $p = 0,003$) und 4 ($r = 0,60$) auf (Abb. 34).

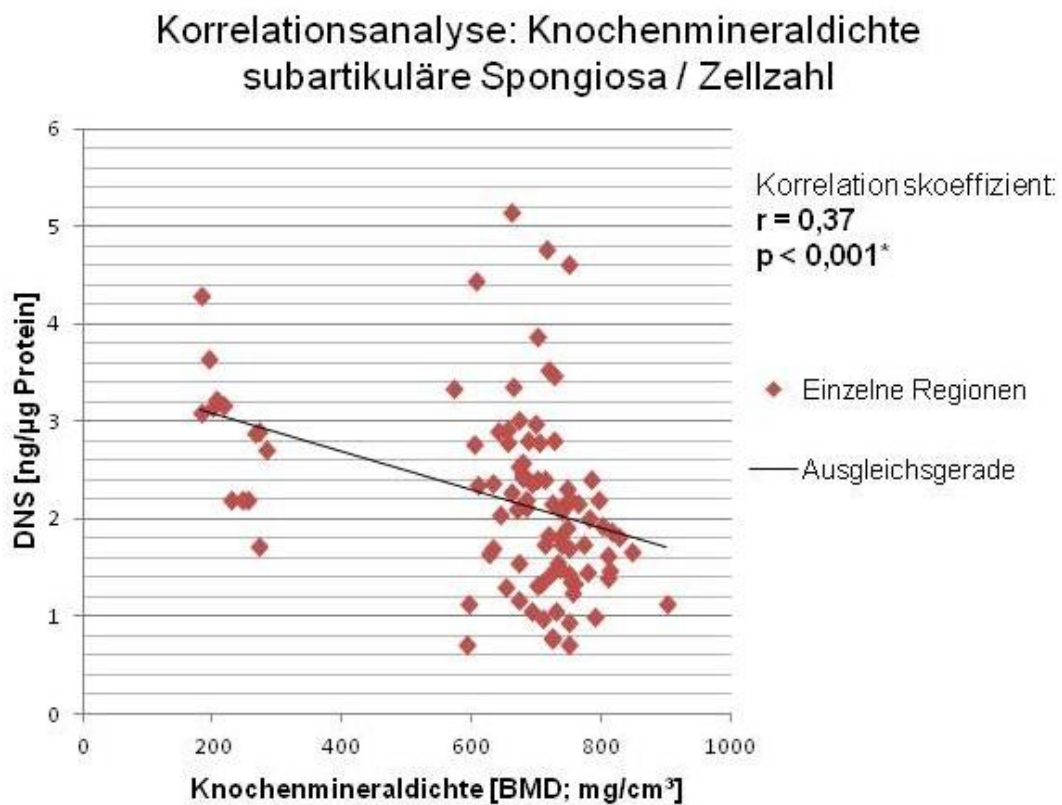


Abbildung 33: Streudiagramm der Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subartikulären Spongiosa und des DNS-Gehalts des Gelenkknorpels

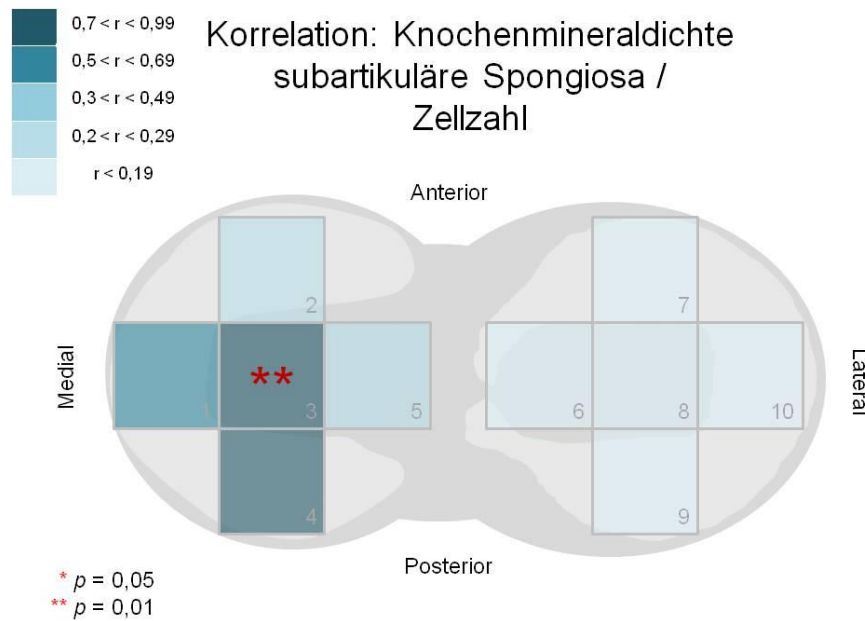


Abbildung 34: Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subartikulären Spongiosa und des DNS-Gehalts des Gelenkknorpels

6.5.5 Klinische Daten

6.5.5.1 Korrelationsanalyse: Histologische Bewertungssysteme und Kellgren-Lawrence-Klassifikation

Bei der Berechnung klinischer Parameter konnte ein positiver Zusammenhang zwischen der Kellgren-Lawrence-Klassifikation und dem Mankin-Bewertungssystem gezeigt werden ($r = 0,83$; $p = 0,003$) (Abb. 35). Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,79$ ($p = 0,007$) zeigte sich außerdem eine starke Korrelation zwischen der Kellgren-Lawrence-Klassifikation und dem OARSI-Bewertungssystem.

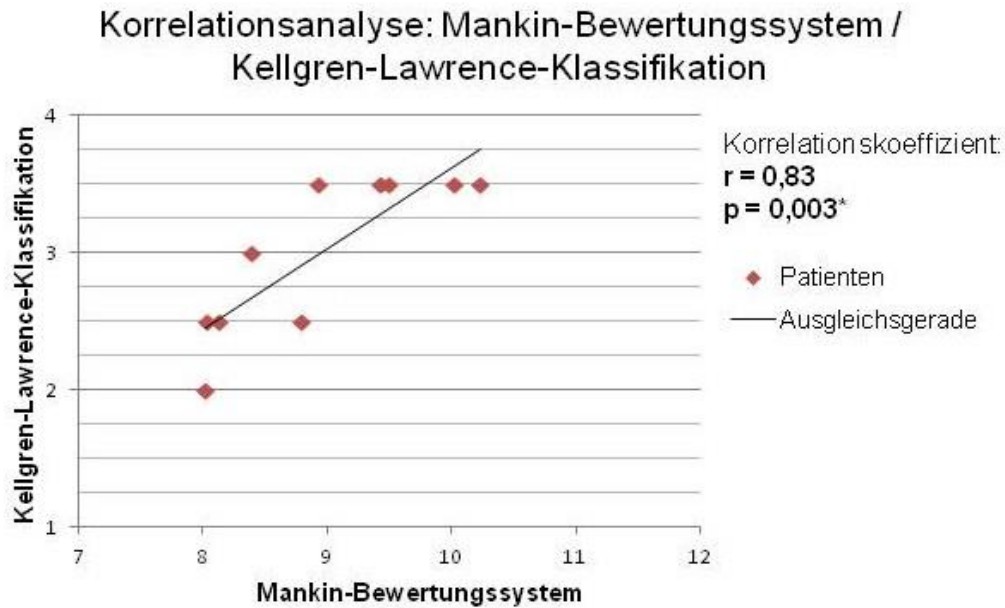


Abbildung 35: Streudiagramm der Korrelationsanalyse zwischen dem Mankin-Bewertungssystem und der Kellgren-Lawrence-Klassifikation

6.5.5.2 Korrelationsanalyse: Präoperative Kniebeweglichkeit und Kellgren-Lawrence-Klassifikation

Die Abweichung von der normalen Flexionsfähigkeit wies einen mittelstarken, jedoch nicht-signifikanten Zusammenhang ($r = 0,46$; $p = 0,181$) mit dem Arthrosegrad nach Kellgren und Lawrence auf (Abb. 36).

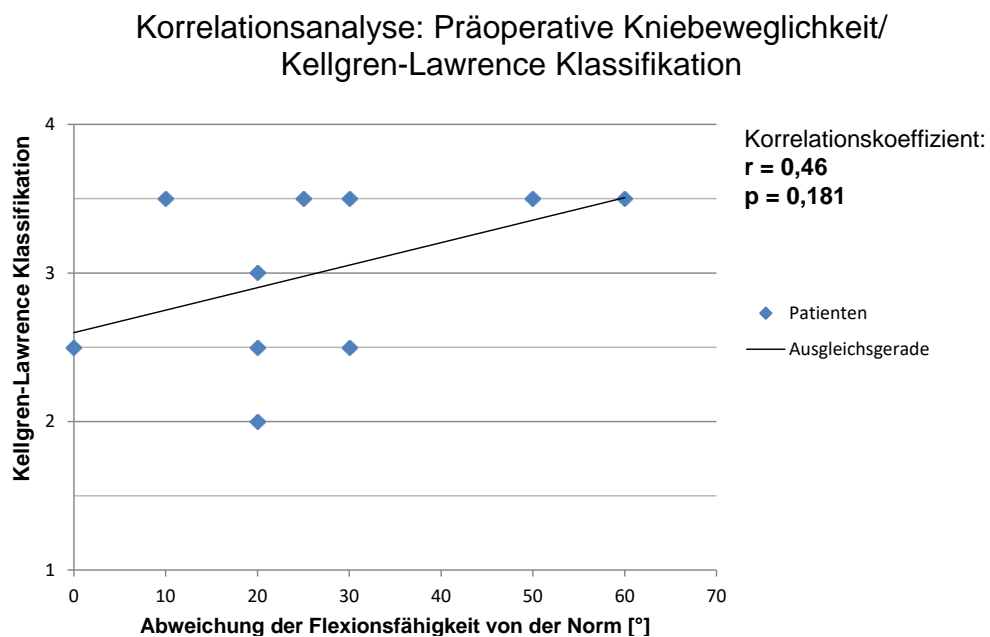


Abbildung 36: Streudiagramm der Korrelationsanalyse der Kellgren-Lawrence-Klassifikation und der präoperativen Flexionsfähigkeit des Kniegelenks

6.5.5.3 Korrelationsanalyse: Subchondraler Knochen und Körpergewicht

Die Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte korrelierte stark positiv mit dem Patientengewicht. Für alle Messparameter lag der Korrelationskoeffizient gemittelt bei $r = 0,67$ ($p = 0,034$). Auch die BMD der subartikulären Spongiosa korrelierte stark positiv mit dem Gewicht der Patienten. Es zeigte sich hier ein sehr stark positiver, signifikanter Zusammenhang ($r = 0,78$; $p = 0,008$) (Abb. 37).

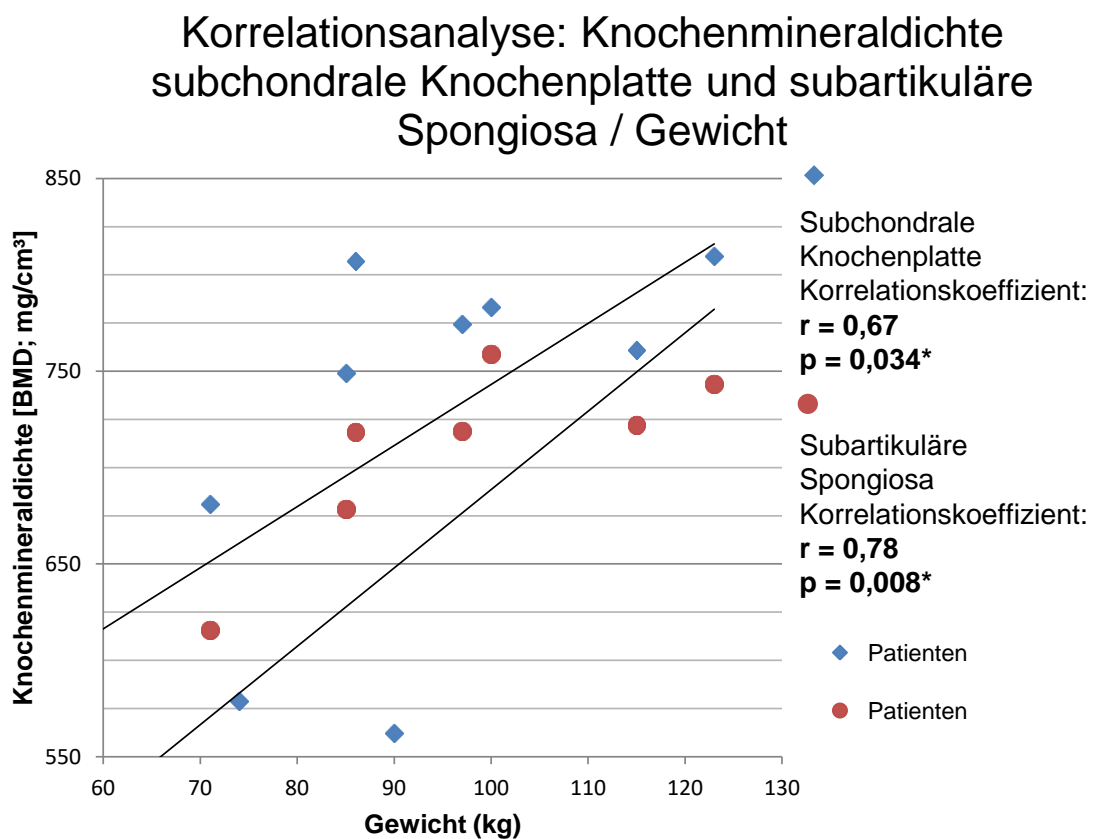


Abbildung 37: Streudiagramm der Korrelationsanalyse zwischen der BMD der subchondralen Knochenplatte (Raute) bzw. subartikulären Spongiosa (Kreis) und dem Gewicht der Patienten

7 Diskussion

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass im arthrotischen Tibiaplateau signifikante Zusammenhänge zwischen Veränderungen von Gelenkknorpel und subchondralem Knochen bestehen. Bei der Auswertung der histologischen, biochemischen sowie der radiologischen Parameter ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen dem lateralen und medialen Tibiaplateau. Auch innerhalb der einzelnen Regionen des Plateaus und zwischen zentralen und submeniskalen Arealen konnten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden. Eine Korrelation zeigte sich sowohl zwischen den histologischen Bewertungssystemen untereinander als auch gegenüber der Auswertung der Mikro-CT-Parameter des subchondralen Knochens und der biochemischen Evaluation. Zudem ließen sich Zusammenhänge zwischen klinischen Daten, wie Gewicht der Patienten und radiologischer Arthrosegrad, und histologischen und Mikro-CT-Parametern der osteochondralen Einheit aufzeigen. Außerdem hat eine Beinachsenfehlstellung des Patienten einen relevanten Einfluss auf den Arthrosegrad.

7.1 Histologische Auswertung

Bei der Auswertung der histologischen Schnitte ließen sich in allen Proben arthrosetypische Veränderungen nachweisen. Eine Destruktion eines Gelenks kann anhand des Typs („*typing*“), der Gesamtausbreitung („*staging*“) und nach dem lokalen Schädigungsgrad („*grading*“) bewertet werden [81].

Zur histopathologischen Klassifikation wurden zwei Graduierungssysteme angewandt. Zum einen das Bewertungssystem nach Mankin *et al.* [2], das international am häufigsten angewandte Bewertungssystem zur Klassifikation von Arthrose, zum anderen das OARSI-Bewertungssystem [3], das von der *Osteoarthritis Research Society International* entwickelt wurde. Letzteres wird als *Kompositsscore* bezeichnet, der bei klinischen Prüfungen eingesetzt werden soll [82]. Bei dem Vergleich der beiden Graduierungssysteme fiel auf, dass sie zu

ähnlichen und somit plausiblen Ergebnissen führen. Entsprechend der Varusfehlstellung des untersuchten Patientenkollektives war die Knorpelqualität wie erwartet medialseitig schlechter als lateral. Sowohl in der Analyse nach Mankin ($p = 0,030$) als auch nach OARSI zeigte sich medial ein signifikant höherer Arthrosegrad als im lateralen Kompartiment. Dies bestätigt die These, dass eine Varusfehlstellung mit medialer Gonarthrose assoziiert ist.

Auch innerhalb des medialen bzw. lateralen Plateaus konnten signifikante Unterschiede nachgewiesen werden, was für das Vorliegen von stark bzw. weniger belasteten Regionen spricht. So ergab sich sowohl im OARSI- als auch im Mankin-Bewertungssystem stets in Region 1 der höchste sowie in Region 8 der niedrigste Arthrosegrad.

Bei Betrachtung der submeniskalen Regionen fiel auf, dass diese im Durchschnitt höhere Arthrosegrade aufzeigten als die zentralen Regionen. Interessanterweise sind diese Veränderungen unabhängig von der Lokalisation (lateral bzw. medial). Durch den Meniskus kann das Körpergewicht verteilt und somit die biomechanische Belastung auf die Tibia reduziert werden. Messner *et al.* zeigten, dass der Meniskus von großer Bedeutung für den Schutz des Knorpels ist und so einer Arthrose vorzubeugen vermag [83, 84]. Lanzer *et al.* untersuchten Veränderungen am Gelenkknorpel nach Menishektomie. Dabei zeigten sich degenerative Veränderungen in Bereichen, die nicht von Meniskus bedeckt waren [85]. Longitudinale Meniskusschäden heilen schneller und die Funktion des Meniskus im Sinne der Lastenverteilung bleibt weitgehend erhalten. Demgegenüber verliert der Meniskus nach Heilung radiärer bzw. komplexerer Schäden seine Schutzfunktion [83]. Der Meniskus bietet also eine schützende Pufferfunktion im gesunden Knie, könnte allerdings in einem bereits arthrotischen Knie seine Funktion verlieren und eventuell sogar eine gegensätzliche Wirkung haben. Madry *et al.* untersuchten den Effekt einer valgusierenden Tibiakopfeosteotomie auf ein intaktes laterales femorotibiales Kompartiment [85]. Hier hatte die Tibiakopfeosteotomie keine signifikanten strukturellen Veränderungen zur Folge. Jedoch führte eine überkorrigierte Tibiakopfeosteotomie im Schafmodell

durch die vermehrte Druckerhöhung im lateralen Kompartiment zu einer Verringerung der Zellzahl im Meniskus sowie in der subartikulären Spongiosa zu einer Zunahme der spezifischen Knochenoberfläche [86-88]. Es ist anzunehmen, dass eine Varusfehlstellung eine ähnliche Wirkung auf den medialen Meniskus bzw. den subchondralen Knochen hat.

7.2 Mikro-CT-Auswertung

7.2.1 Subchondrale Knochenplatte

Die Mikro-CT-gestützte Knochenmikrostrukturanalyse bietet die Möglichkeit, morphologische Eigenschaften zur Knochenqualitätsbeurteilung zu untersuchen [61, 62, 89]. Mit morphologischen Parametern wie der Knochenmineraldichte, dem Knochenvolumenanteil sowie der Dicke der subchondralen Knochenplatte lassen sich Rückschlüsse über den Knochenzustand ziehen [62]. Durch Einteilung in einzelne VOI (*volume of interest*) ist eine exakte und spezifische Analyse aller Parameter in jeder Region des Tibiaplateaus möglich.

Die subchondrale Knochenplatte kann aus funktioneller Sicht als „Stoßdämpfer“ angesehen werden, welche durch ihre Fähigkeit der Verformung axial einwirkende Kräfte abschwächt. So kann der darüber liegende Knorpel vor zu starker Beanspruchung geschützt werden [90]. Bei der Evaluation des medialen und lateralen Kompartiments wies das stärker belastete mediale Plateau eine Dicke der subchondralen Knochenplatte von $0,71 \text{ mm} \pm 0,24$ auf, das laterale hingegen nur $0,51 \text{ mm} \pm 0,20$. Dieses Ergebnis belegt das klassische Transformationsgesetz von Julius Wolff von 1892, wonach der Knochen unter Belastung an Festigkeit gewinnt. Somit passt sich der Knochen in seiner Form an die Funktion an und degeneriert folglich bei dauerhafter Entlastung [18, 91]. Physiologisch existiert ein Fließgleichgewicht zwischen Knochenaufbau und Knochenabbau [92].

Es ist unklar, ob arthrotische Veränderungen im Knochen durch Knorpelveränderungen entstehen, oder eine subchondrale Knochendegeneration

ursächlich für einen Knorpelschaden ist. Einerseits kann eine Dichtezunahme des subchondralen Knochens als physiologischer Prozess der Knochenadaptation auf die veränderte Krafteinwirkung nach Knorpelschaden angesehen werden [16, 93]. Entsprechend dazu beschrieben Lajeunesse *et al.*, dass einer Sklerose des Knochens eine Knorpeldegeneration vorausgeht. Im Gegensatz dazu kann auch eine Zunahme des „Knochenremodelings“ aufgrund von veränderten Osteoblasten ein Auslöser für den Knorpelverlust sein [4, 94]. Nach Akamatsu *et al.* resultiert eine Varusgonarthrose nicht alleine aus Knorpelschäden, sondern ist auch durch strukturelle Veränderungen des Knochens bedingt [95]. Bailey *et al.* postulieren sogar, dass bei Arthrose die Verdickung der Kortikalis noch vor der Degeneration des Gelenkknorpels eintritt [18]. So lag in einem arthrotischen Tibiaplateau eine Zunahme der Knochendichte in den lateralen Regionen vor, in denen der Knorpel noch intakt war. Dies spräche dafür, dass Veränderungen des subchondralen Knochens ablaufen, bevor sich Änderungen im Gelenkknorpel nachweisen lassen. Bereits 1986 visualisierten Hutton *et al.* mithilfe von Knochenszintigrafie arthrotische Veränderung im Knochen, die erst einige Jahre später im konventionellen Röntgenbild sichtbar wurden [17, 96-98].

Die Knochenmineraldichte und der Knochenvolumenanteil zeigten in der vorliegenden Arbeit im medialen Plateau höhere Werte als im lateralen Plateau. Bobinac *et al.* wiesen bereits in einer Studie mit arthrotischen Tibiaplateaus nach, dass das Knochenvolumen im medialen Plateau höhere Werte als im lateralen aufweist [99]. Sie verglichen 10 arthrotische Tibiaplateaus mit einer Kontrollgruppe von 10 nicht-arthrotischen Tibiaplateaus. In der Kontrollgruppe lag dabei kein signifikanter Unterschied des Knochenvolumens zwischen den beiden Kompartimenten vor. In der Arthrosegruppe zeigte sich im medialen Kompartiment eine signifikante Erhöhung des Knochenvolumenanteils im Vergleich zum lateralen Kompartiment [99]. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit denen der vorliegenden Arbeit, wenngleich wir nicht überprüfen konnten, ob die Knochenmineraldichte bereits vor Beginn der Arthrose erhöht war.

Auch die Beinachsenabweichung und die damit verbundene Fehlbelastung des Kniegelenks haben Auswirkungen auf den subchondralen Knochen. Dies zeigten Wu *et al.* in einer Studie an Kaninchen nach proximaler Tibiaosteotomie zur Erzeugung einer Beinachsenfehlstellung von 30° Varus oder Valgus. Nach 34 Wochen konnten Veränderungen im Knorpel und eine Erhöhung der Knochenmineraldichte je nach Gruppe medial bzw. lateral beobachtet werden [100].

In der vorliegenden Arbeit war sowohl in der subchondralen Knochenplatte als auch in der subartikulären Spongiosa bei erhöhtem Körpergewicht auch die Knochendichte erhöht. Unabhängig von Geschlecht und Alter zeigte sich bei Zunahme des Gewichts ein Anstieg der Knochendichte.

Die Mikro-CT-Untersuchungen zeigten in den submeniskalen Regionen eine niedrigere Dicke der Kortikalis als in den zentralen Regionen. Dies belegt, dass der Meniskus - solange er intakt ist - einen schützenden Effekt auf den darunterliegenden subchondralen Knochen ausübt, indem die Last des Körpergewichts gleichmäßig verteilt wird. In den submeniskalen Regionen konnte außerdem eine höhere Knochenmineraldichte gegenüber den zentralen Regionen gemessen werden. Auffallend war auch ein erhöhter Knochenvolumenanteil submeniskal, welcher signifikant erhöht war gegenüber den zentralen Regionen.

Die Knochenmineraldichte und das Knochenvolumen der subchondralen Knochenplatte verändern sich charakteristisch im Zuge einer Arthrose [13, 101]. So findet man bei Arthrosepatienten eine BMD, die ca. 5 % höher und ein Knochenvolumen, das ca. 30 % höher ist als bei Gesunden [102, 103]. Lo *et al.* untersuchten die Knochendichte in arthrotischen Tibiaplateaus. Dabei ergab sich eine kompartimentspezifische Erhöhung der tibialen Knochendichte, die mit radiologischen Parametern (Gelenkspaltverschmälerung) in Zusammenhang stand. Außerdem sollte die Knochendichte im arthrotischen Knie anders gedeutet werden als z.B. im Schenkelhals oder den Lendenwirbeln. Im Schenkelhals ist eine erhöhte Knochendichte mit einem starken, stabilen Knochen assoziiert. Im arthrotischen Tibiaplateau könne jedoch trotz Erhöhung der Knochendichte eine

geringere mechanische Belastbarkeit des Knochens vorliegen [17, 104].

7.2.2 Subartikuläre Spongiosa

Eine Veränderung des Knochens im Rahmen der Gonarthrose konnte in der vorliegenden Arbeit auch in der subartikulären Spongiosa beobachtet werden. Hier zeigte sich im medialen Plateau eine signifikant höhere Knochenmineraldichte sowie ein größerer Knochenvolumenanteil als im lateralen Plateau. Bei einer Varusgonarthrose führt der vermehrte Verlust des Gelenkknorpels zu einer subchondralen Sklerose. Die Sklerose wiederum führt zu einer Verschlechterung der Lastenabsorption, die so fast ungehindert in das Trabekelwerk der subartikulären Spongiosa weitergeleitet wird und dort Veränderungen in der Mikroarchitektur auslösen kann [84]. Vor allem die Spongiosa des medialen Kompartiments scheint durch die mediale Mehrbelastung komprimiert zu sein. In der vorliegenden Arbeit hatte sich folgerichtig auch der Trabekelabstand im medialen Gelenkanteil verkleinert. Besonders in den Hauptbelastungszonen (Regionen 1 und 3) zeigte sich eine signifikante Veränderung des Trabekelabstandes im Vergleich zur lateralsten und somit am wenigsten belasteten Region 10. In Übereinstimmung hiermit wies auch die Trabekelanzahl eine signifikante Zunahme im medialen gegenüber dem lateralen Kompartiment auf. Die Trabekeldicke war in der vorliegenden Arbeit medial höher als lateral. So kann eine Mehrbelastung des medialen Kompartiments durch eine Varusgonarthrose mit Medialverlagerung der Lastübertragung als mögliche Ursache für Veränderungen in der subartikulären Spongiosa verstanden werden [99, 105-107]. Kamibayashi *et al.* verglichen 10 arthrotische mit 4 nicht-arthrotischen proximalen Tibiae und konnten Veränderungen in der Mikroarchitektur der subartikulären Spongiosa nachweisen. Die Mikroarchitektur zeigte bei Arthrose zahlenmäßig verringerte Trabekel und einen höheren Trabekelabstand, allerdings auch eine gesteigerte trabekuläre Dicke als bei kniegesunden Patienten [108]. Vergleichbar mit unseren Ergebnissen haben Layton *et al.* schon 2002 in einem Meerschweinchenmodell mittels Mikro-CT den initialen Verlust des trabekulären Knochenvolumens (BV/TV) mit darauffolgender

Ausdünnung der Trabekel im Anfangsstadium der Arthrose beobachten können. Im fortgeschrittenen Stadium folgte dann eine Zunahme des trabekulären Knochenvolumens (BV/TV) mit einer Zunahme der Trabekeldicke [109]. Ding *et al.* beschrieben diese Zunahme der Trabekelbreite als ein Auffüllen der trabekulären Zwischenräume, die wiederum eine Abnahme der Konnektivität bedingt. Dabei wurde ein Wechsel von einer vorher stabförmigen (*rod-like*) zu einer plattenförmigen (*plate-like*) Architektur der Trabekel festgestellt, was nicht der physiologischen Knochenalterung entspricht, sondern Prozessen der Osteoporose ähnelt. Dieser Umbau führt demzufolge zu einer Abnahme der mechanischen Belastungsfähigkeit der subartikulären Spongiosa und zur allgemeinen Verminderung der Knochenqualität [17].

Die submeniskalen Regionen scheinen in der subartikulären Spongiosa ähnlichen Veränderungen ausgesetzt zu sein wie die zentralen Regionen. So wurde in der vorliegenden Arbeit zwischen submeniskalen Arealen und zentral gelegenen Arealen kein Unterschied in Anzahl, Dicke und Abstand der Trabekel gefunden. Lediglich der Knochenvolumenanteil zeigte sich submeniskal gegenüber den zentralen Regionen erhöht. Ursächlich könnte, wie auch in der subchondralen Knochenplatte, ein arthrosebedingter Schaden des Meniskus mit pathologisch gesteigerter Lastübertragung auf den Knochen sein [13, 32, 83, 85].

Zusätzlich wurde der mit einer Osteoporose assoziierte trabekuläre Knochenanordnungsfaktor (Tb.Pf) untersucht. Dieser wurde erstmals von Hahn *et al.* beschrieben [110] und dient als Index, die Konnektivität der Trabekel in einem zweidimensionalen System zu beschreiben. Je stärker demnach Trabekel untereinander verbunden sind, desto stabiler ist der Knochen. Das Trabekelnetzwerk kann anhand seines Verhältnisses zwischen konkaven und konvexen Oberflächen beurteilt werden. Mehr konvexe Strukturen sprechen für eine schwache Vernetzung der Trabekel, mehr konkave Strukturen weisen auf eine starke Vernetzung hin. Je ausgeprägter also die Verbindung einzelner Trabekel ist, desto geringer wird die Belastung des einzelnen Trabekels, der trabekuläre Knochenanordnungsfaktor nimmt niedrigere Werte an. Wenn der

trabekuläre Knochenanordnungsfaktor zunimmt, nimmt die Konnektivität ab, was eine Instabilität des Knochens bedingt [110, 111]. Bei den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen dem medialen und dem lateralen Kompartiment. Die Werte im medialen Plateau lagen deutlich unterhalb der Messung im lateralen. Außerdem zeigte der trabekuläre Knochenanordnungsfaktor mit einer Erniedrigung submeniskal einen deutlichen Unterschied zu den zentralen Regionen. Demnach lassen unsere Ergebnisse den Schluss zu, dass sich die Trabekel durch den gesteigerten Druck medial untereinander stärker vernetzen, um die Last besser verteilen zu können.

Diese Abnahme der Trabekelkonnektivität betraf mehr das weibliche als das männliche Geschlecht und gibt einen Hinweis darauf, warum Frauen häufiger an Osteoporose leiden als Männer. Kritisch muss angemerkt werden, dass Patienten aus unterschiedlichen Altersgruppen eingeschlossen wurden und die Ergebnisse somit nicht als repräsentativ über alle Altersgruppen angesehen werden dürfen.

Interessanterweise schließen sich Arthrose und Osteoporose meist gegenseitig aus. Patienten, die unter einer Arthrose leiden, entwickeln für gewöhnlich keine Osteoporose und umgekehrt. Ein Grund hierfür könnte der körperliche Konstitutionsunterschied sein. Arthrosepatienten haben häufiger einen starken Körperbau. Dies ließ sich auch durch Messungen von Knochendichte und maximaler Knochenmasse (*peak bone mass*) bestätigen [112]. Eine Abnahme der trabekulären Verbindung kann mit zunehmendem Alter als ein Symptom der Osteoporose beobachtet werden. So konnten Blain *et al.* zeigen, dass es einen signifikanten Unterschied im Knochenvolumenanteil, der Trabekeldicke, der Trabekelanzahl und der Trabekelkonnektivität zwischen Patienten mit Coxarthrose und Patienten mit Osteoporose gibt [113].

7.3 Biochemische Auswertung

Bei der biochemischen Untersuchung des Knorpelgewebes fiel eine ungleiche Verteilung des DNS-Gehalts innerhalb des Tibiaplateaus auf. Im Durchschnitt fand sich im medialen Plateau ein signifikant niedrigerer DNS-Gehalt als im lateralen

Plateau. Unsere Ergebnisse stützen die Erkenntnisse von Felka *et al.*, dass sich Übergewicht negativ auf die Zellzahl im hyalinen Knorpel in einem Rattenmodell auswirken kann. Hierbei war bei Adipositas eine signifikant niedrigere Anzahl an Chondrozyten im hyalinen Knorpel zu finden, was zu einer räumlichen Isolierung der verbleibenden Zellen führte [114]. Entsprechend konnte auch in der vorliegenden Arbeit ein gegenläufiger Zusammenhang von Übergewicht und Zellzahl im hyalinen Knorpel nachgewiesen werden.

Ein signifikanter Unterschied im Proteoglykangehalt zwischen dem lateralen und medialen Kompartiment bestätigte sich jedoch nicht. Bei Betrachtung der submeniskalen Regionen fiel auf, dass der Proteoglykangehalt tendenziell höhere Werte aufwies als in den zentralen Regionen, jedoch ohne das Signifikanzniveau zu erreichen. Da in den submeniskalen Regionen der Arthrosegrad höher war als im Rest des Plateaus und auch die geringere Zellzahl medial auf einen deutlichen Knorpelverlust hindeutete, wäre auch ein geringerer Proteoglykangehalt zu erwarten gewesen. Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz ist, dass im verwendeten arthrotischen Tibiamodell die oberflächlichen bis mittleren Schichten des Knorpels bereits destruiert sind und die tieferen Schichten - mit einer niedrigeren Kollagen- aber höheren Proteoglykankonzentration - freiliegen. Zudem zeigte sich bei Untersuchung des Proteoglykan/DNS-Verhältnis ein Anstieg der Proteoglykane pro DNS überwiegend in den submeniskalen Regionen [115-118].

7.4 Zusammenhang mit klinisch-relevanten Daten

Bei der Auswertung der klinischen Daten fiel auf, dass das kleine Patientenkollektiv der Studie die typischen Merkmale von Arthrosepatienten zeigte. Die Mehrzahl (60 %) der Patienten war weiblich und mit einem Durchschnittsalter von $69 \pm 4,34$ Jahren in der Postmenopause. Dies entspricht auch dem Ergebnis des „*Swedish Knee Arthroplasty Registers*“, welches die epidemiologischen und demographischen Daten von 34.877 Patienten mit Knieendoprothesen evaluierte [8]. Auch die Ulmer Arthrostudie erzielte mit einem Anteil der weiblichen Patientinnen von 62,8 Prozent ein ähnliches Ergebnis

[119]. In der vorliegenden Arbeit lag bei den weiblichen Patienten mit einem durchschnittlichen BMI von $30,1 \pm 5,6 \text{ kg/m}^2$ eine Adipositas Grad I vor. Die männlichen Patienten waren im Durchschnitt etwas schlanker, jedoch mit einem BMI von $28,9 \pm 4,3 \text{ kg/m}^2$ deutlich über dem Normalgewicht ($18,5 - 25 \text{ kg/m}^2$ nach WHO) [121]. Auch diese Erkenntnisse stimmen mit der Ulmer Arthrosetudie aus dem Jahr 2000 überein, wonach Übergewicht (mit der Folge einer erhöhten mechanischen Beanspruchung des Kniegelenks) einen generellen Risikofaktor für die Entwicklung einer Gonarthrose darstellt [121]. Bei Männern und Frauen mit einem BMI von 30 kg/m^2 bis 35 kg/m^2 und/oder metabolischem Syndrom besteht ein vielfach höheres Risiko für die Gonarthrose [4, 122, 123]. Bei unseren Patienten konnte zudem eine Beinachsenfehlstellung nachgewiesen werden. All dies sind Risikofaktoren, die eine Gonarthrose begünstigen [35].

Zur Bewertung der Röntgenbilder wurde die Kellgren-Lawrence-Klassifikation verwendet [38], die sich trotz Limitationen aufgrund der Gewichtung einzelner radiologischer Zeichen [124] weiterhin als sinnvollstes und gebräuchlichstes Mittel zur Beurteilung arthrotisch veränderter Gelenke erwiesen hat [125-127]. Durch die Kellgren-Lawrence-Klassifikation konnte bei allen Patienten präoperativ eine Gonarthrose bestätigt werden. Der Mittelwert lag bei den Patienten bei 3, was einer fortgeschrittenen Arthrose entspricht.

Die Beinachsenfehlstellung wurde mit dem Grad der Arthrose korreliert, um die Auswirkung der Fehlstellung auf die Arthrose zu beurteilen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass der Grad der Achsenabweichung einen Einfluss auf die Schwere der Arthrose hat. Bei allen Patienten zeigte sich präoperativ eine Varusfehlstellung. Die Häufigkeit der Varusgonarthrose lässt sich teilweise durch biomechanische Mechanismen erklären. So wird bei Belastung beider Beine das Körpergewicht gleichmäßig über das Zentrum der Kniegelenke übertragen. Beim Gehen verschiebt sich allerdings in der Phase des Einbeinstandes das Gewicht nach medial und führt so zu einer Mehrbelastung des medialen Plateaus. Dieses übernimmt 60 – 80 % der Gesamtbelastung und bedingt ein sogenanntes Adduktionsmoment (Knie-Varus-Moment) [128]. Auch bei einer neutralen

Beinachse kommt es durch die Gewichtskraft zu einem Adduktionsmoment [129, 130]. Eine geringe Körpergröße, Übergewicht und eine Beinachsenabweichung wirken sich negativ aus und vergrößern dieses Adduktionsmoment, was wiederum das Risiko für eine mediale Gonarthrose steigert [131]. Nach einer Studie von Sharma *et al.* besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Größe des Adduktionsmomentes und dem Grad der Arthrose nach Kellgren und Lawrence sowie zwischen der Größe des Adduktionsmomentes und der Gelenkspaltverschmälerung [132].

Sowohl die Varus- also auch die Valgusachsenfehlstellung sind zudem mit dem Fortschreiten der Gonarthrose assoziiert. Sharma *et al.* konnten zeigen, dass allerdings nur ein Zusammenhang zwischen dem Entstehen eines medialen Knorpelschadens mit einer Varusfehlstellung besteht [133]. Eine Valgusfehlstellung erhöht das Risiko des Auftretens einer tibiofemorale Arthrose nicht. Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine Varus- bzw. Valgusfehlstellung mit einem reduzierten Risiko für Arthrose im weniger belasteten lateralen bzw. medialen Kompartiment einhergeht. Bei einem bereits arthrotisch vorgeschädigten Knie konnte sowohl bei einer Varus- als auch bei Valgusfehlstellung das Risiko einer Progression nachgewiesen werden [133, 134]. In einer weiteren Studie wurde festgestellt, dass der Grad der Achsabweichung proportional zur Gelenkinstabilität ist und umgekehrt proportional zur Gelenkverschmälerung zunimmt [135].

Die varische Abweichung von der physiologischen (anatomischen) Beinachse von durchschnittlich 6° Valgus betrug bei unseren Patienten im Mittel $12,2^\circ \pm 3,2^\circ$. Im medialen Plateau fand sich in der vorliegenden Studie ein Arthrosegrad nach Kellgren und Lawrence, der mit $3,4 \pm 0,7$ signifikant höher war als im lateralen Plateau ($2,6 \pm 0,7$). Durch Unterteilung der varischen Achsenabweichungen in drei Gruppen (Gruppe 1: 1° - 3° , Gruppe 2: 4° - 6° , Gruppe 3: $>7^\circ$) konnte gezeigt werden, dass die Gruppe 3 mit größter Achsenabweichung im medialen Plateau auch die höchsten Arthrosegrade aufwies. Lateral hingegen zeigte sich eine gegensätzliche Anordnung, mit dem niedrigsten Arthrosegrad in Gruppe 3. Eine

zunehmende Achsabweichung im varischen Knie erhöht demnach die Belastung des medialen Plateaus, entlastet jedoch das laterale Kompartiment.

Im Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit wurde neben dem präoperativen Röntgenbild auch die Kniebeweglichkeit nach der Neutral-Null-Methode geprüft. Im Durchschnitt wurde bei allen Patienten eine Flexionsfähigkeit von $103,5^\circ \pm 17,6^\circ$ gemessen. Es zeigte sich, dass mit Erreichen eines höheren Arthrosegrades nach Kellgren und Lawrence auch die Kniebeweglichkeit abnimmt. Dies belegen die Resultate von McCarthy *et al.*, dass ein Zusammenhang zwischen Abnahme der Flexionsfähigkeit und Zunahme des Arthrosegrades besteht [136]. Zudem besteht das Risiko, dass die Abnahme der Beweglichkeit mit Fortschreiten der Arthrose auch auf eine mechanische Blockade des Gelenkes durch Osteophyten zurückzuführen ist [137].

7.5 Korrelationen

Bei der Erhebung der klinischen Daten hatte das Alter unserer Patienten keine nachweisbare Auswirkung auf den Arthrosegrad. Arthrose wird oft mit einem höheren Lebensalter und somit mit einem „Verschleiß“ des Knorpels assoziiert. Das Lebensalter ist durchaus ein wichtiger Risikofaktor der Arthrose. Allerdings fanden Harrison *et al.* bereits vor 50 Jahren heraus, dass nicht das tägliche Benutzen der Gelenke den Knorpel „verschleißt“, sondern vielmehr der inadäquate Gebrauch des Gelenkes der häufigste Grund für Knorpeldegeneration darstellt. Daher kann die tägliche Bewegung unter physiologischer Gelenkbelastung sogar als Prävention gegen Arthrose interpretiert werden [138].

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich ein fast linearer Zusammenhang zwischen der Kellgren-Lawrence-Klassifikation und dem Mankin- bzw. OARSI-Bewertungssystem zur histologischen Graduierung. Vergleichbare Ergebnisse zeigten Sunk *et al.* 2013 bei Untersuchung der Arthrose der Hand an den distalen und proximalen Interphalangealgelenken. Auch hier wurde die Kellgren-Lawrence-Klassifikation verwendet und histologische Knorpelproben nach dem Mankin-

Bewertungssystem analysiert. Die publizierten Korrelationskoeffizienten von $r = 0,79 - 0,87$ sind vergleichbar mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Die Arbeit von Sunk *et al.* zeigte somit bereits die Bedeutung radiologischer Untersuchungen und ihren Nutzen in der Diagnosestellung der Arthrose, wenngleich die Fingergelenksarthrose nur bedingt mit der Gonarthrose vergleichbar ist [127, 139, 140].

Beim Vergleich zwischen Mankin- und OARSI-Bewertungssystem konnten signifikante Korrelationen in allen 10 Regionen gefunden werden. Für jede Region wurde ein Korrelationskoeffizient von $r > 0,70$ errechnet, was einem sehr starken Zusammenhang zwischen den Variablen entspricht. Der Zusammenhang zwischen dem OARSI- und dem Mankin-Bewertungssystem konnte auch von Pauli *et al.* bestätigt werden [141]. In einer Studie aus dem Jahre 2011 wurde auch hier eine positive Korrelation ($r = 0,96$) errechnet. Einschränkend sei angemerkt, dass beide Bewertungssysteme nur den lokalen Schädigungsgrad im Knorpel erfassen und nicht den gesamten Defekt oder die Integrität des gesamten Gelenks beurteilen können [81].

7.5.1 Histologische Bewertungssysteme / Mikro-CT subchondrale Knochenplatte

Die Korrelationsanalysen zeigten relevante Zusammenhänge zwischen den histologischen Parametern und den Ergebnissen der Mikro-CT-Untersuchungen. In den submeniskalen Regionen ergaben sich deutlich höhere Korrelationen als in den zentralen, weniger arthrotischen Regionen des Plateaus. Beim Vergleich der Dicke der Kortikalis mit dem OARSI- bzw. Mankin-Bewertungssystem (Abb. 21-23) ist dies besonders anschaulich. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Nakasa *et al.*, die die Korrelationen zwischen Knorpel und subchondraler Knochenplatte im humanen Sprunggelenk analysierten. Auch hier wiesen die Dicke und die Sklerose der subchondralen Knochenplatte, gemessen mittels CT, einen Zusammenhang mit den Veränderungen im arthrotischen Knorpel auf. Dabei nahm bei steigender Degeneration des Knorpels die Dicke des subchondralen Knochens zu [142]. Eine weitere Korrelationsanalyse zwischen der Knochendichte, der subchondralen

Knochenplatte ($r = 0,67$) und der subartikulären Spongiosa ($r = 0,78$) mit dem Körpergewicht des Patienten wiesen ähnliche Zusammenhänge auf. Kürzlich konnte gezeigt werden, inwieweit sich Übergewicht auf die totale Knochendichte auswirken kann. Hierbei wurden bei übergewichtigen oder zu Übergewicht neigenden Kindern eine signifikant höhere Knochendichte als bei normalgewichtigen Kindern gemessen [143]. Weiterhin zeigten Chan *et al.* 2014, dass bei adipösen Patienten eine Gewichtsreduktion zu einer Verringerung der Knochendichte sowohl im Schenkelhals als auch in der LWS führt [144]. Ebenso konnten in der vorliegenden Arbeit Zusammenhänge zwischen Veränderungen des Knorpels mit der tiefer gelegenen subartikulären Spongiosa nachgewiesen werden. So wies auch hier Region 5 eine signifikante Korrelation zwischen der Knochenmineraldichte und dem Mankin-Bewertungssystem auf. Deutlich stärkere Korrelationen fanden sich bei Untersuchungen des Knochenvolumenanteils und dem Mankin-Bewertungssystem. Für alle Regionen ergab sich ein gemittelter Korrelationskoeffizient von $r = 0,37$ (mittelstarker Zusammenhang). Auch bei der Korrelationsanalyse zwischen Knochenvolumenanteil und OARSI-Bewertungssystem konnte ein positiver Zusammenhang von $r = 0,41$ über allen Regionen errechnet werden.

Defekte im Knorpel, etwa durch vermehrte Belastung bzw. Fehlbelastung, können außerdem zu Knochenmarködemen führen [145]. Diese *bone marrow lesions* lassen sich mittels MRT als Goldstandard nachweisen und korrelieren mit der Symptomlast der Patienten [146, 147]. Die Läsionen entstehen, da bei bestehenden Knorpelschäden ein Teil der mechanischen Belastung durch den Knochen abgefangen werden muss. Lowitz *et al.* zeigten bereits, dass mit einer Zunahme von Knochenmarködemen die Knochendichte ansteigt [148]. Somit kann angenommen werden, dass Veränderungen in den tiefer gelegenen Knochenschichten mit Veränderungen des subchondralen Knochens, wie z.B. einer Zunahme der Knochendichte, einhergehen könnten.

7.5.2 Histologische Bewertungssysteme / Mikro-CT subartikuläre Spongiosa

Weiterhin wurden in der vorliegenden Arbeit negative Zusammenhänge zwischen dem Mankin Bewertungssystem und dem trabekulären Knochenanordnungsfaktor nachgewiesen (Abb. 27). Bei zunehmendem Arthrosegrad nahm der trabekuläre Knochenanordnungsfaktor ab. Im Gegensatz dazu sind in den lateral gelegenen, weniger stark arthrotisch veränderten Regionen signifikant höhere Werte des trabekulären Knochenanordnungsfaktors gemessen worden. So scheinen die Trabekelverknüpfungen bei Fortschreiten der Arthrose zuzunehmen. Chiba *et al.* zeigten, dass es bei Gelenkspaltverschmälerung bei Patienten mit Hüftgelenksarthrose zu einer signifikanten Abnahme von trabekulärem Abstand, Trabekelanzahl sowie des trabekulären Knochenanordnungsfaktors im Vergleich zum Gesunden kam. Eine Verdickung der Trabekel sowie eine damit verbundene Veränderung der Mikroarchitektur stehen somit im engen Zusammenhang mit der Arthrose [105].

7.5.3 Biochemische Parameter / Mikro-CT-Parameter

Bei Evaluation der biochemischen Daten zeigte die Korrelationsanalyse zwischen DNS-Gehalt - als individueller Parameter der Zellzahl - und kortikaler sowie trabekulärer Knochendichte negative Zusammenhänge. Daraus lässt sich ableiten, dass mit Zunahme der Knochendichte die Zellzahl im Knorpelgewebe sinkt. Das allerdings insgesamt niedrige Korrelationsniveau bestätigt die Komplexität des Krankheitsbildes mit dessen multifaktorieller Genese.

7.6 Grenzen der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Tibiaplateaus untersucht, die bereits eine derart fortgeschrittene Arthrose aufwiesen, dass eine Prothesenimplantation notwendig war. Dabei wurden ausschließlich Tibiaplateaus mit Varusgonarthrose analysiert.

7.7 Ausblick

Diese Arbeit analysiert Zusammenhänge zwischen Knorpel und subchondralen Knochen bei Gonarthrose. Bisher stand die alleinige Untersuchung des Gelenkknorpels im Mittelpunkt der Arthroseforschung. Die komplexen Zusammenhänge zwischen geschädigtem Knorpel und subchondralem Knochen sollten allerdings nicht außer Acht gelassen werden. Diese Arbeit untersucht die gesamte osteochondrale Einheit. Hierbei wurde die subchondrale Knochenschädigung bei Evaluation der Gonarthrose mit beurteilt. Durch Bewertung des subchondralen Knochens soll eine gezielte und frühzeitige Arthrosebehandlung möglich sein. Aufgrund der signifikanten Zusammenhänge zwischen körperlichem Habitus, Schweregrad der Knorpelschädigungen und Veränderung des subchondralen Knochens ist es von großer Bedeutung, solche Risikofaktoren frühzeitig zu erkennen und zu vermeiden.

Die Röntgendiagnostik wird in naher Zukunft sicher das Mittel der ersten Wahl zur Untersuchung der Arthrose bleiben. Die Kellgren-Lawrence-Klassifikation ist dabei eine nach wie vor zuverlässige Methode zur Diagnosestellung und sollte weiterhin Anwendung finden. MRT-Verfahren wie das dGEMRIC (*delayed gadolinium enhanced magnetic resonance imaging of cartilage*), das T2/T1rho-mapping sowie die Erfassung von Knorpelvolumina im Zeitverlauf bieten durch fehlende Strahlenbelastung neue diagnostische Möglichkeiten.

Zukünftige Studien sollten zeigen, ob sich die erhobenen Daten auch bei Patienten mit Valgusgonarthrose bestätigen lassen. Weiterhin sollten zusätzlich Patienten in früheren Arthrostadien untersucht werden, um die Früherkennung der Arthrose zu verbessern. Zusammenfassend tragen die Daten der vorliegenden Arbeit dazu bei, die komplexen Zusammenhänge zwischen Knorpel und subchondralem Knochen bei der fortgeschrittenen Varusgonarthrose im Kontext klinisch relevanter Parameter wie der Beinachse besser zu verstehen.

8 Anhang

8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anatomie der osteochondralen Einheit.	8
Abbildung 2: Ansicht auf ein humanes Tibiaplateau (rechts)..	23
Abbildung 3: Schematische Zeichnung eines rechten Tibiaplateaus von oben..	24
Abbildung 4: Arthrotisches rechtes Tibiaplateau.....	26
Abbildung 5: Röntgenaufnahme des rechten Beins	37
Abbildung 6: Röntgenaufnahme eines gesunden linken Kniegelenks	39
Abbildung 7: Mankin-Bewertungssystem.....	43
Abbildung 8: Deskriptive topographische Analyse	44
Abbildung 9: OARSI-Bewertungssystem.	45
Abbildung 10: Auswertung der Mikro-CT-Ergebnisse der subchondralen Knochenplatte.....	48
Abbildung 11: Deskriptive topographische Darstellung der mikrostrukturellen Analyse der subartikulären Spongiosa	52
Abbildung 12: Biochemische Auswertung: DNS-, Proteoglykangehalt und Proteoglykan/DNS Verhältnis	56
Abbildung 13: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zu dem histologischen Arthrosegrad nach Mankin.....	60
Abbildung 14: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zu dem histologischen Arthrosegrad nach OARSI	60
Abbildung 15: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zu der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte.....	61
Abbildung 16: Der Grad der Varusfehlstellung in Relation zur Dicke der subchondralen Knochenplatte	62
Abbildung 17: Grad der Varusfehlstellung in Relation zur Trabekeldicke	63
Abbildung 18: Grad der Varusfehlstellung in Relation zur Trabekelanzahl	64
Abbildung 19: Der Grad der Varusfehlstellung verglichen mit dem DNS-Gehalt des Gelenkknorpels	65
Abbildung 20: Streudiagramm zur Korrelationsanalyse des OARSI- und des Mankin-Bewertungssystems	66
Abbildung 21: Korrelationsanalyse zwischen OARSI- und Mankin-Bewertungssystem	67

Abbildung 22: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte	68
Abbildung 24: Korrelationsanalyse der Dicke der subchondralen Knochenplatte mit dem Mankin-Bewertungssystem	69
Abbildung 23: Streudiagramm zur Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit der Dicke der subchondralen Knochenplatte	69
Abbildung 25: Korrelationsanalyse der Dicke der subchondralen Knochenplatte mit dem OARSI-Bewertungssystem.....	70
Abbildung 26: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems und der BMD der subartikulären Spongiosa	71
Abbildung 28: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit dem Knochenvolumenanteil der subartikulären Spongiosa	72
Abbildung 27: Streudiagramm zur Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems mit dem Knochenvolumenanteil der subartikulären Spongiosa.....	72
Abbildung 29: Streudiagramm der Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems und des trabekulären Knochenanordnungsfaktors	73
Abbildung 30: Korrelationsanalyse des Mankin-Bewertungssystems und des trabekulären Knochenanordnungsfaktors	74
Abbildung 31: Streudiagramm der Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte und des DNS-Gehalts des Gelenkknorpels	75
Abbildung 32: Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subchondralen Knochenplatte und des DNS-Gehalts.....	75
Abbildung 33: Streudiagramm der Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subartikulären Spongiosa und des DNS-Gehalts des Gelenkknorpels.....	76
Abbildung 34: Korrelationsanalyse der Knochenmineraldichte der subartikulären Spongiosa und des DNS-Gehalts des Gelenkknorpels	77
Abbildung 35: Streudiagramm der Korrelationsanalyse zwischen dem Mankin-Bewertungssystem und der Kellgren-Lawrence-Klassifikation.....	78
Abbildung 36: Streudiagramm der Korrelationsanalyse der Kellgren-Lawrence-Klassifikation und der präoperativen Flexionsfähigkeit des Kniegelenks	78
Abbildung 37: Streudiagramm der Korrelationsanalyse zwischen der BMD der subchondralen Knochenplatte bzw. subartikulären Spongiosa und dem Gewicht der Patienten	79

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verwendete Laborgeräte.....	18
Tabelle 2: Verwendete Chemikalien	19
Tabelle 3: Puffer und Lösungen.....	22
Tabelle 4: Definition der einzelnen Regionen.	25
Tabelle 5: Bewertungssystem nach Mankin <i>et al.</i>	31
Tabelle 6: OARSI-Bewertungssystem nach Pritzker <i>et al.</i>	33
Tabelle 7: DNS-Standardreihe.....	34
Tabelle 8: Bicinchoninsäure-Test: Standardreihe	35
Tabelle 9: Dimethylmethylenblau-Test: Standardreihe	36
Tabelle 10: Klassifikation der Arthrose nach Kellgren und Lawrence	38
Tabelle 11: Korrelationsanalyse.....	41
Tabelle 12: Interpretation des Korrelationskoeffizienten (r)	41
Tabelle 13: Ergebnisse der histologischen Auswertung der einzelnen Regionen nach dem Mankin- und OARSI-Bewertungssystem.....	42
Tabelle 14: Ergebnisse der histologischen Auswertung des medialen und lateralen Tibiaplateaus nach dem Mankin-Bewertungssystem	44
Tabelle 15: Ergebnisse der histologischen Auswertung des medialen und lateralen Tibiaplateaus nach dem OARSI-Bewertungssystem.....	45
Tabelle 16: Ergebnisse der histologischen Auswertung der submeniskalen und zentralen Regionen nach dem Mankin- und OARSI-Bewertungssystem.....	46
Tabelle 17: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchungen der subchondralen Knochenplatte der einzelnen Regionen.	47
Tabelle 18: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchungen der subchondralen Knochenplatte: Unterschiede zwischen medialem und lateralem Tibiaplateau	49
Tabelle 19: Ergebnisse der Mikro-CT-Auswertung der submeniskalen und zentralen Regionen der subchondralen Knochenplatte	49
Tabelle 20: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchung der subartikulären Spongiosa der einzelnen Regionen	51
Tabelle 21: Ergebnisse der Mikro-CT-Untersuchungen der subartikulären Spongiosa: Unterschiede zwischen dem medialen und lateralen Tibiaplateau..	53
Tabelle 22: Ergebnisse der Mikro-CT-Auswertung der submeniskalen und zentralen Regionen der subartikulären Spongiosa	54
Tabelle 23: Ergebnisse der biochemischen Untersuchung des Gelenkknorpels aller 10 Regionen.....	55
Tabelle 24: Biochemische Eigenschaften des medialen und lateralen	

Tibiaplateaus im Vergleich.....57
Tabelle 25: Ergebnisse der biochemischen Untersuchung der submeniskalen
und zentralen Regionen des Gelenkknorpels57
Tabelle 26: Darstellung der klinischen Daten.....58

8.3 Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
Abb.	Abbildung
aqua bidest.	aqua bidestillata
BCA	Bicinchoninsäure
BMD	Knochenmineraldichte (<i>bone mineral density</i>)
BMI	<i>Body Mass Index</i>
BS/BV	Knochenoberfläche/-volumen (<i>bone surface/volume</i>)
BS/TV	Knochenoberflächendichte (<i>bone surface density</i>)
BV/TV	Knochenvolumenanteil (<i>bone volume fraction</i>)
bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
Ct.Th	Dicke der subchondralen Knochenplatte (<i>cortical thickness</i>)
DAB	3-3'-Diaminobenzidin
DMMB	1,9-Dimethylmethylenblau
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DRG	<i>Diagnosis Related Groups</i>
et al.	et alii/et aliae
g	Gramm
h	Stunde(n)
kg	Kilogramm
l	Liter
Lsg.	Lösung
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer

max.	maximal
mg	Milligramm
Mikro-CT	Mikrofokus-Computertomographie
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
ms	Millisekunde
ng	Nanogramm
o.g.	oben genannt(e/r)
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PG	Proteoglykane
ROI	<i>region of interest</i>
rpm	<i>revolutions per minute</i>
s	Sekunde
SAS	subartikuläre Spongiosa
SBP	subchondrale Knochenplatte
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
Tb.Sp	Trabekelabstand (<i>trabecular separation</i>)
Tb.Th	Trabekeldicke (<i>trabecular thickness</i>)
Tb.N	Trabekelanzahl (<i>trabecular number</i>)
Tb.Pf	trabekulärer Knochenanordnungsfaktor (<i>trabecular pattern factor</i>)
TNE	Tris-Natrium-EDTA
TNF	Tumornekrosefaktor
u.a.	unter anderem/n

v.a.	vor allem/n
vgl.	vergleiche
VOI	<i>Volume of interest</i>
WHO	<i>World Health Organisation</i>

9 Literaturverzeichnis

1. Orth, P., Peifer, C., Goebel, L., Cucchiarini, M., Madry, H. (2015). *Comprehensive analysis of translational osteochondral repair: Focus on the histological assessment*. Prog Histochem Cytochem, 50(3), S. 19-36.
2. 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), S. 523-537.
3. Pritzker, K. P., 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), S. 13-29.
4. Roach, H., Tilley, S., *The Pathogenesis of Osteoarthritis*. In: *Bone and Osteoarthritis*, 1st Edition. S. 1-18. Herausgeber: Bronner, F., Farach-Carson, M. C. Verlag: Springer Verlag, London, 2007.
5. Altman, R., Asch, E., Bloch, D., Bole, G., Borenstein, D., Brandt, K., Christy, W., Cooke, T. D., Greenwald, R., Hochberg, M. (1986). *Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association*. Arthritis Rheum, 29(8), S. 1039-1049.
6. Felson, D. T. (2004). *An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis*. Radiol Clin North Am, 42(1), S. 1-9.
7. Orth, P., Kohn, D., Madry, H. (2016). *Degenerative Kniegelenkerkrankungen – Gonarthrose*. Orthopädie und Unfallchirurgie up2date, 11(02), S. 81-98.
8. Robertsson, O., Knutson, K., Lewold, S., Lidgren, L. (2001). *The Swedish Knee Arthroplasty Register 1975-1997: an update with special emphasis on 41,223 knees operated on in 1988-1997*. Acta Orthop Scand, 72(5), S. 503-513.
9. Jordan, J. M., Helmick, C. G., Renner, J. B., Luta, G., Dragomir, A. D., Woodard, J., Fang, F., Schwartz, T. A., Nelson, A. E., Abbate, L. M., Callahan, L. F., Kalsbeek, W. D., Hochberg, M. C. (2009). *Prevalence of hip symptoms and radiographic and symptomatic hip osteoarthritis in African-Americans and Caucasians: The Johnston County Osteoarthritis Project*. J Rheumatol, 36(4), S. 809-815.

10. Felson, D. T., Zhang, Y. (1998). *An update on the epidemiology of knee and hip osteoarthritis with a view to prevention*. *Arthritis Rheum*, 41(8), S. 1343-1355.
11. Rossignol, M., Leclerc, A., Allaert, F. A., Rozenberg, S., Valat, J. P., Avouac, B., Coste, P., Litvak, E., Hilliquin, P. (2005). *Primary osteoarthritis of hip, knee, and hand in relation to occupational exposure*. *Occup Environ Med*, 62(11), S. 772-777.
12. Madry, H. (2010). *The subchondral bone: a new frontier in articular cartilage repair*. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 18(4), S. 417-418.
13. Madry, H., van Dijk, C. N., Mueller-Gerbl, M. (2010). *The basic science of the subchondral bone*. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 18(4), S. 419-433.
14. Goldring, S. R., Goldring, M. B. (2010). *Bone and cartilage in osteoarthritis: is what's best for one good or bad for the other?* *Arthritis Res Ther*, 12(5), S. 143.
15. Radin, E. L., Rose, R. M., (1986). *Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage*. *Clin Orthop Relat Res*, 213, S. 34-40.
16. Lajeunesse, D., (2004). *The role of bone in the treatment of osteoarthritis*. *Osteoarthritis Cartilage*, 12 Suppl A, S. 34-38.
17. Ding, M., Odgaard, A., Hvid, I., Hvid, I. (2003). *Changes in the three-dimensional microstructure of human tibial cancellous bone in early osteoarthritis*. *J Bone Joint Surg Br*, 85(6), S. 906-912.
18. Bailey, A. J., Mansell, J. P., Sims, T. J., Banse, X. (2004). *Biochemical and mechanical properties of subchondral bone in osteoarthritis*. *Biorheology*, 41(3-4), S. 349-358.
19. Strobel, M., Stedtfeld, H. W., *Anatomie, Propriozeption und Biomechanik*. In: *Diagnostik des Kniegelenkes*, 2. Auflage. S. 2-48. Herausgeber: Strobel, M., Stedtfeld, H. W. Verlag: Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1991.
20. Kohn, D., *Knie*. In: *Orthopädie und Orthopädische Chirurgie (Reihe)*, 1. Auflage. Herausgeber: Wirth, C., Zichner, L. Verlag: Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005.
21. Zimny, M. L. (1988). *Mechanoreceptors in articular tissues*. *Am J Anat*, 182(1), S. 16-32.
22. Johansson, H., Sjölander, P., Sojka, P. (1991). *Receptors in the knee joint ligaments and their role in the biomechanics of the joint*. *Crit Rev Biomed Eng*, 18(5), S. 341-368.

23. Buckwalter, J. A., Hunziker, E. B., Rosenberg, L. C., Coutts, R. D., Adams, M. E., Eyre, D. R. *Articular cartilage: Composition and structure*. In: *Injury and Repair of the Musculoskeletal Soft Tissue*. 1st Edition. S. 405-425. Herausgeber: Woo, S. L.-Y., Buckwalter, J. A. Verlag: The American Academy of Orthopaedic Surgeons, Park Ridge, IL, USA, 1988.
24. Broom, N. D., Poole, C. A. (1982). *A functional-morphological study of the tidemark region of articular cartilage maintained in a non-viable physiological condition*. *J Anat*, 135(Pt 1), S. 65-82.
25. Buckwalter, J. A., Mankin, H. J. (1998). *Articular cartilage: tissue design and chondrocyte-matrix interactions*. *Instr Course Lect*, 47, S. 477-486.
26. Orth, P., Cucchiarini, M., Kohn, D., Madry, H. (2013). *Alterations of the subchondral bone in osteochondral repair - translational data and clinical evidence*. *Eur Cell Mater*, 25, S. 299-316.
27. Martinek, V. (2003). *Anatomie und Pathophysiologie des hyalinen Knorpels*. *Dtsch Z Sportmed*, 54(6), S. 166-170.
28. Bora, F. W. J., Miller, G. (1987). *Joint physiology, cartilage metabolism, and the etiology of osteoarthritis*. *Hand Clin*, 3(3), S. 325-336.
29. Hardingham, T. E., Fosang, A. J. (1992). *Proteoglycans: many forms and many functions*. *FASEB J*, 6(3), S. 861-870.
30. Mansour, J. M., Mow, V. C., (1976). *The permeability of articular cartilage under compressive strain and at high pressures*. *J Bone Joint Surg Am*, 58(4), S. 509-516.
31. Scharf, H.-P., *Arthrose*. In: *Orthopädie und orthopädische Chirurgie, Das Standardwerk für Klinik und Praxis, Teilband Knie*. 1. Auflage. S. 360-364. Herausgeber: Kohn, D. Verlag: Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 2005.
32. Menetrey, J., Unno-Veith, F., Madry, H., Van Breuseghem, I. (2010). *Epidemiology and imaging of the subchondral bone in articular cartilage repair*. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 18(4), S. 463-471.
33. Hurley, M. V. (1999). *The role of muscle weakness in the pathogenesis of osteoarthritis*. *Rheum Dis Clin North Am*, 25(2), S. 283-298.
34. Orth, P., Madry, H. (2013). *Konservative Therapie der Arthrose*. *Orthopädie und Unfallchirurgie up2date*, 8(05), S. 419-436.
35. Madry, H., Kohn, D. (2004). *Konservative Therapie der Kniegelenkarthrose*. *Unfallchirurg*, 107(8), S. 689-700.

36. Cucchiarini, M., Heiligenstein, S., Kohn, D., Madry, H. (2009). *Molekulare Werkzeuge zur Wiederherstellung von arthrotischem Knorpel*. Orthopäde, 38(11), S. 1063-1070.
37. Burr, D. B., Gallant, M. A. (2012). *Bone remodelling in osteoarthritis*. Nat Rev Rheumatol, 8(11), S. 665-673.
38. Kellgren, J. H., Lawrence, J. S. (1957). *Radiological assessment of osteoarthritis*. Ann Rheum Dis, 16(4), S. 494-502.
39. Luyten, F. P., Denti, M., Filardo, G., Kon, E., Engebretsen, L. (2012). *Definition and classification of early osteoarthritis of the knee*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 20(3), S. 401-406.
40. Burr, D. B., Radin, E. L. (2003). *Microfractures and microcracks in subchondral bone: are they relevant to osteoarthritis?* Rheumatic Disease Clinics, 29(4), S. 675-685.
41. Burr, D. B. (2004). *Anatomy and physiology of the mineralized tissues: Role in the pathogenesis of osteoarthritis*. Osteoarthritis Cartilage, 12, S. 20-30.
42. Intema, F., Hazewinkel, H. A. W., Gouwens, D., Bijlsma, J. W. J., Weinans, H., Lafeber, F. P. J. G., Mastbergen, S. C. (2010). *In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage damage: results from a canine ACLT-meniscectomy model*. Osteoarthritis Cartilage, 18(5), S. 691-698.
43. Couchourel, D., Aubry, I., Delalandre, A., Lavigne, M., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J.-P., Lajeunesse, D. (2009). *Altered Mineralization of Human Osteoarthritic Osteoblasts Is Attributable to Abnormal Type I Collagen Production*. Arthritis Rheum, 60(5), S. 1438-1450.
44. Oest, O., Frank, W. (1974). *Die Achsfehlstellung als präarthrotische Deformität für das Kniegelenk*. Z Orthop, 112(4), S. 632-634.
45. Bohringer, M. E., Beyer, W. F., Weseloh, G. (1995). *Vergleichende Histomorphometrie der subchondralen Knochendichte und Gelenkknorpeldicke im Tibiakopf bei humanen Fruharthrosen*. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 133(4), S. 291-302.
46. Debrunner, A. M., *Das Kniegelenk*. In: *Orthopädie, Orthopädische Chirurgie*, 4. Auflage. S. 1025-1105. Herausgeber: Debrunner, A. M. Verlag: Verlag Hans Huber, Bern, 2005.
47. Sun, Y., Sturmer, T., Gunther, K. P., Brenner, H. (1997). *Incidence and prevalence of cox- and gonarthrosis in the general population*. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 135(3), S. 184-192.

48. Robert Koch-Institut (2012). *Daten und Fakten: Ergebnisse der Studie »Gesundheit in Deutschland aktuell 2010«*. In: *Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes*, RKI, Berlin, 2012.
49. Engelhardt, M. (2003). *Epidemiologie der Arthrose in Westeuropa*. *Dtsch Z Sportmed*, 54/6, S. 171-175.
50. Statistisches Bundesamt (2014). *Die 50 häufigsten Operationen der vollstationären Patientinnen und Patienten in Krankenhäusern*. In: *Fallpauschalenbezogene Krankenhausstatistik (DRG-Statistik)*, Statistisches Bundesamt, Berlin, 2014.
51. Bitzer, E. M., Grobe, T. G., Neusser, S. (2010). *Kniegelenk*. In: *BARMER GEK Report Krankenhaus: Schwerpunktthema: Trends in der Endoprothetik des Hüft- und Kniegelenks*. S.133-196. Herausgeber: BARMER GEK. Verlag: Asgard-Verlag, Schwäbisch Gmünd, 2010.
52. Robert Koch-Institut, Statistisches Bundesamt (2013). *Gesundheit in Deutschland*. Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Berlin, 2013.
53. Buckwalter, J. A., Mankin, H. J. (1998). *Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation*. *Instr Course Lect*, 47, S. 487-504.
54. Cicuttini, F., Wluka, A., Hankin, J., Wang, Y. (2004). *Longitudinal study of the relationship between knee angle and tibiofemoral cartilage volume in subjects with knee osteoarthritis*. *Rheumatology (Oxford)*, 43(3), S. 321-324.
55. Tetsworth, K., Paley, D. (1994). *Malalignment and degenerative arthropathy*. *Orthop Clin North Am*, 25(3), S. 367-377.
56. Hackenbroch, M. H., *Periphere Arthrosen*. In: *Praxis der konservativen Orthopädie*. 1. Auflage. S. 497-519. Herausgeber: Bischoff, H. P., Heisel, J., Locher, H. Verlag: Thieme Verlag, Stuttgart, 2007.
57. Roach, H. I., Tilley, S.. *The pathogenesis of osteoarthritis in Bone and Osteoarthritis*. 1st Edition. S. 1-18. Herausgeber: Bronner, F., Farach-Carson, M. C. Verlag: Springer-Verlag, London, 2007.
58. Pang, J., Cao, Y. L., Zheng, Y. X., Gao, N. Y., Wang, X. Z., Chen, B., Gu, X. F., Yuan, W., Zhang, M., Liu, T., Zhan, H. S., Shi, Y. Y. (2015). *Influence of pain severity on health-related quality of life in Chinese knee osteoarthritis patients*. *Int J Clin Exp Med*, 8(3), S. 4472-4479.
59. Merx, H., Dreinhofer, K. E., Gunther, K. P. (2007). *Sozialmedizinische Bedeutung der Arthrose in Deutschland*. *Z Orthop Unfall*, 145(4), S. 421-429.

60. Woolf, A. D., Pfleger, B. (2003). *Burdens of major musculoskeletal conditions*. Bulletin of the World Health Organization, 81(9), S. 646-656.
61. Kohlbrenner, A., Koller, B., Hammerle, S., Ruegsegger, P. (2001). *In vivo micro tomography*. Adv Exp Med Biol, 496, S. 213-224.
62. Engelke, K., Karolczak, M., Lutz, A., Seibert, U., Schaller, S., Kalender, W. (1999). *Mikro-CT Technologie und Applikationen zur Erfassung von Knochenarchitektur*. Radiologe, 39(3), S. 203-212.
63. Skyscan N.V. (2008). *Structural parameters measured by the Skyscan™ CT-analyser software*. Skyscan, Aartselaar, Belgium.
64. Feldkamp, L. A., Goldstein, S. A., Parfitt, A. M., Jasion, G., Kleerekoper, M. (1989). *The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography*. J Bone Miner Res, 4(1), S. 3-11.
65. Feldkamp, L. A., Davis, L. C., Kress, J. W. (1984). *Practical cone-beam algorithm*. J Opt Soc Am A, 1, S. 612-619.
66. Duncan, H., Jundt, J., Riddle, J. M., Pitchford, W., Christopherson, T. (1987). *The tibial subchondral plate. A scanning electron microscopic study*. J Bone Joint Surg Am, 69(8), S. 1212-1220.
67. Clark, J. M., Huber, J. D. (1990). *The structure of the human subchondral plate*. J Bone Joint Surg Br, 72(5), S. 866-873.
68. Parfitt, A. M., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., Ott, S. M., Recker, R. R. (1987). *Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee*. J Bone Miner Res, 2(6), S. 595-610.
69. Salmon, P. (2010), *Morphometric parameters measured by Skyscan™ CT-analyser software*. Bruker microCT, Billerica, USA.
70. Cucchiarini, M., Madry, H. (2005). *Gene therapy for cartilage defects*. J Gene Med, 7(12), S. 1495-1509.
71. Kiernan, J. A., *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. 3rd Edition. Verlag: Buittenworth-Heinemann, Oxford, 1999.
72. Madry, H., Cucchiarini, M., Terwilliger, E. F., Trippel, S. B. (2003). *Recombinant adeno-associated virus vectors efficiently and persistently transduce chondrocytes in normal and osteoarthritic human articular cartilage*. Hum Gene Ther, 14(4), S. 393-402.
73. Schmitz, N., Laverty, S., Kraus, V. B., Aigner, T. (2010). *Basic methods in histopathology of joint tissues*. Osteoarthritis Cartilage, 18, S. 113-116.

74. Goldner, J. (1938). *A modification of the masson trichrome technique for routine laboratory purposes*. Am J Pathol, 14(2), S. 237-243.
75. Brunk, C. F., Jones, K. C., James, T. W. (1979). *Assay for nanogram quantities of DNA in cellular homogenates*. Anal Biochem, 92(2), S. 497-500.
76. Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J., Klenk, D. C. (1985). *Measurement of protein using bicinchoninic acid*. Anal Biochem, 150(1), S. 76-85.
77. Farndale, R. W., Buttle, D. J., Barrett, A. J. (1986). *Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylmethylene blue*. Biochim Biophys Acta, 883(2), S. 173-177.
78. Muller, G., Hanschke, M. (1996). *Quantitative and qualitative analyses of proteoglycans in cartilage extracts by precipitation with 1,9-dimethylmethylene blue*. Connect Tissue Res, 33(4), S. 243-248.
79. Pape, D., Seil, R., Adam, F., Rupp, S., Kohn, D., Lobenhoffer, P. (2004). *Bildgebung und präoperative Planung der Tibiakopfosteotomie*. Orthopäde, 33(2), S. 122-134.
80. Bühl, A., *SPSS 16: Einführung in die moderne Datenanalyse*. 11. Auflage. Verlag: Pearson Deutschland GmbH, München, 2008.
81. Aigner, T., Soder, S. (2006). *Histopathologische Begutachtung der Gelenkdegeneration: Typing, Grading und Staging der Osteoarthritis*. Pathologie, 27(6), S. 431-438.
82. Dougados, M., Leclaire, P., van der Heijde, D., Bloch, D. A., Bellamy, N., Altman, R. D. (2000). *Response criteria for clinical trials on osteoarthritis of the knee and hip: a report of the Osteoarthritis Research Society International Standing Committee for Clinical Trials response criteria initiative*. Osteoarthritis Cartilage, 8(6), S. 395-403.
83. Messner, K., Gao, J. (1998). *The menisci of the knee joint. Anatomical and functional characteristics, and a rationale for clinical treatment*. J Anat, 193, S. 161-178.
84. Madry, H., Ziegler, R., Pape, D., Cucchiarini, M. (2014). *Strukturelle Veränderungen im lateralen femorotibialen Kompartiment nach Tibiakopfosteotomie*. Orthopäde, 43(11), S. 958-965.
85. Lanzer, W. L., Komenda, G. (1990). *Changes in articular cartilage after meniscectomy*. Clin Orthop Relat Res, 252, S. 41-48.

86. Madry, H., Ziegler, R., Orth, P., Goebel, L., Ong, M. F., Kohn, D., Cucchiarini, M., Pape, D. (2013). *Effect of open wedge high tibial osteotomy on the lateral compartment in sheep. Part I: Analysis of the lateral meniscus*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 21(1), S. 39-48.
87. Ziegler, R., Goebel, L., Cucchiarini, M., Pape, D., Madry, H. (2014). *Effect of open wedge high tibial osteotomy on the lateral tibiofemoral compartment in sheep. Part II: standard and overcorrection do not cause articular cartilage degeneration*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 22(7), S. 1666-1677.
88. Ziegler, R., Goebel, L., Seidel, R., Cucchiarini, M., Pape, D., Madry, H. (2015). *Effect of open wedge high tibial osteotomy on the lateral tibiofemoral compartment in sheep. Part III: analysis of the microstructure of the subchondral bone and correlations with the articular cartilage and meniscus*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 23(9), S. 2704-2714.
89. Müller-Gerbl, M., Putz, R., Kenn, R. (1992). *Demonstration of subchondral bone density patterns by three-dimensional ct osteoabsorptiometry as a noninvasive method for in vivo assessment of individual long-term stresses in joints*. J Bone Miner Res, 7(2), S. 411-418.
90. Radin, E. L., Bryan, R. S. (1970). *The effect of weight-bearing on regrowth of the medial meniscus after meniscectomy*. J Trauma, 10(2), S. 169-175.
91. Wolf, J. H. (1995). *Julius Wolff und sein "Gesetz der Transformation der Knochen"*. Orthopäde, 24(5), S. 378-386.
92. Kummer, B. (1962). *Funktioneller Bau und funktionelle Anpassung des Knochens*. Anat Anz, 111, S. 261-293.
93. Day, J. S., Van Der Linden, J. C., Bank, R. A., Ding, M., Hvid, I., Sumner, D. R., Weinans, H. (2004). *Adaptation of subchondral bone in osteoarthritis*. Biorheology, 41(3-4), S. 359-368.
94. Lajeunesse, D., Reboul, P. (2003). *Subchondral bone in osteoarthritis: a biologic link with articular cartilage leading to abnormal remodeling*. Curr Opin Rheumatol, 15(5), S. 628-633.
95. Akamatsu, Y., Mitsugi, N., Taki, N., Takeuchi, R., Saito, T. (2009). *Relationship between low bone mineral density and varus deformity in postmenopausal women with knee osteoarthritis*. J Rheumatol, 36(3), S. 592-597.
96. Buckland-Wright, J. C., Macfarlane, D. G., Fogelman, I., Emery, P., Lynch, J. A. (1991). *Technetium 99m methylene diphosphonate bone scanning in osteoarthritic hands*. Eur J Nucl Med, 18(1), S. 12-16.

97. Hutton, C. W., Higgs, E. R., Jackson, P. C., Watt, I., Dieppe, P. A. (1986). *99mTc HMDP bone scanning in generalised nodal osteoarthritis. II. The four hour bone scan image predicts radiographic change.* Ann Rheum Dis, 45(8), S. 622-626.
98. Hutton, C. W., Higgs, E. R., Jackson, P. C., Watt, I., Dieppe, P. A. (1986). *99mTc HMDP bone scanning in generalised nodal osteoarthritis. I. Comparison of the standard radiograph and four hour bone scan image of the hand.* Ann Rheum Dis, 45(8), S. 617-621.
99. Bobinac, D., Spanjol, J., Zoricic, S., Maric, I. (2003). *Changes in articular cartilage and subchondral bone histomorphometry in osteoarthritic knee joints in humans.* Bone, 32(3), S. 284-290.
100. Wu, D. D., Burr, D. B., Boyd, R. D., Radin, E. L. (1990). *Bone and cartilage changes following experimental varus or valgus tibial angulation.* J Orthop Res, 8(4), S. 572-585.
101. Dore, D., Quinn, S., Ding, C., Winzenberg, T., Jones, G. (2009). *Correlates of subchondral BMD: a cross-sectional study.* J Bone Miner Res, 24(12), S. 2007-2015.
102. Dolan, A. L., Hart, D. J., Doyle, D. V., Grahame, R., Spector, T. D. (2003). *The relationship of joint hypermobility, bone mineral density, and osteoarthritis in the general population: the Chingford Study.* J Rheumatol, 30(4), S. 799-803.
103. Belmonte-Serrano, M. A., Bloch, D. A., Lane, N. E., Michel, B. E., Fries, J. F. (1993). *The relationship between spinal and peripheral osteoarthritis and bone density measurements.* J Rheumatol, 20(6), S. 1005-1013.
104. Lo, G. H., Zhang, Y., McLennan, C., Niu, J., Kiel, D. P., McLean, R. R., Aliabadi, P., Felson, D. T., Hunter, D. J. (2006). *The ratio of medial to lateral tibial plateau bone mineral density and compartment-specific tibiofemoral osteoarthritis.* Osteoarthritis Cartilage, 14(10), S. 984-990.
105. Chiba, K., Ito, M., Osaki, M., Uetani, M., Shindo, H. (2011). *In vivo structural analysis of subchondral trabecular bone in osteoarthritis of the hip using multi-detector row CT.* Osteoarthritis Cartilage, 19(2), S. 180-185.
106. Yu, D. G., Nie, S. B., Liu, F. X., Wu, C. L., Tian, B., Wang, W. G., Wang, X. Q., Zhu, Z. A., Mao, Y. Q. (2015). *Dynamic Alterations in Microarchitecture, Mineralization and Mechanical Property of Subchondral Bone in Rat Medial Meniscal Tear Model of Osteoarthritis.* Chin Med J (Engl), 128(21), S. 2879-2886.

107. Kuroki, K., Cook, C. R., Cook, J. L. (2011). *Subchondral bone changes in three different canine models of osteoarthritis*. *Osteoarthritis Cartilage*, 19(9), S. 1142-1149.
108. Kamibayashi, L., Wyss, U. P., Cooke, T. D., Zee, B. (1995). *Trabecular microstructure in the medial condyle of the proximal tibia of patients with knee osteoarthritis*. *Bone*, 17(1), S. 27-35.
109. Layton, M. W., Goldstein, S. A., Goulet, R. W., Feldkamp, L. A., Kubinski, D. J., Bole, G. G. (1988). *Examination of subchondral bone architecture in experimental osteoarthritis by microscopic computed axial tomography*. *Arthritis Rheum*, 31(11), S. 1400-1405.
110. Hahn, M., Vogel, M., Pompesius-Kempa, M., Delling, G. (1992). *Trabecular bone pattern factor - a new parameter for simple quantification of bone microarchitecture*. *Bone*, 13(4), S. 327-330.
111. Chappard, D., Legrand, E., Audran, M., Basle, M. F. (1999). *Mesure histomorphometrique de l'architecture de l'os trabeculaire dans l'osteoporose: etude comparative de plusieurs methodes*. *Morphologie*, 83(261), S. 17-20.
112. Martin, J. A., Buckwalter, J. A. (2003). *The role of chondrocyte senescence in the pathogenesis of osteoarthritis and in limiting cartilage repair*. *J Bone Joint Surg Am*, 85(A Suppl 2), S. 106-110.
113. Blain, H., Chavassieux, P., Portero-Muzy, N., Bonnel, F., Canovas, F., Chammass, M., Maury, P., Delmas, P. D. (2008). *Cortical and trabecular bone distribution in the femoral neck in osteoporosis and osteoarthritis*. *Bone*, 43(5), S. 862-868.
114. Felka, T., Martin, P., Kueper, M., Lueck, S., Stöckle, U., Schmidt, V., Rolaufts, B., *Adipositas führt zu einem ausgeprägten Verlust an Chondrozyten des hyalinen Knorpelgewebes*. In: *Deutscher Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie (DKOU 2013)*. Berlin, 22.-25.10.2013. Herausgeber: German Medical Science GMS Publishing House; Düsseldorf, 2013.
115. Wong, M., Wuethrich, P., Eggli, P., Hunziker, E. (1996). *Zone-specific cell biosynthetic activity in mature bovine articular cartilage: a new method using confocal microscopic stereology and quantitative autoradiography*. *J Orthop Res*, 14(3), S. 424-432.
116. Ulrich-Vinther, M., Maloney, M. D., Schwarz, E. M., Rosier, R., O'Keefe, R. J. (2003). *Articular cartilage biology*. *J Am Acad Orthop Surg*, 11(6), S. 421-430.

117. Englert, C., McGowan, K. B., Klein, T. J., Giurea, A., Schumacher, B. L., Sah, R. L. (2005). *Inhibition of integrative cartilage repair by proteoglycan 4 in synovial fluid*. Arthritis Rheum, 52(4), S. 1091-1099.
118. Yeh, A., Hammer-Wilson, M., Van Sickle, D., Benton, H., Zoumi, A., Tromberg, B., Peavy, G. (2005). *Nonlinear optical microscopy of articular cartilage*. Osteoarthritis Cartilage, 13(4), S. 345-352.
119. Günther, K. P., Puhl, W., Brenner, H., Stürmer, T. (2002). *Klinische Epidemiologie von Hüft- und Kniegelenkarthrosen: Eine Übersicht über Ergebnisse der "Ulmer Osteoarthrose-Studie"*. Z Rheumatol, 61(3), S. 244-249.
120. World Health Organisation (2000). *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation*. World Health Organ Tech Rep Ser, 894 (I-XII), S. 1-253.
121. Stürmer, T., Günther, K. P., Brenner, H. (2000). *Obesity, overweight and patterns of osteoarthritis: the Ulm Osteoarthritis Study*. J Clin Epidemiol, 53(3), S. 307-313.
122. Nuki, G. (1999). *Arthrose: Ein Problem des Gelenkversagens*. Z Rheumatol, 58(3), S. 142-147.
123. Lee, B. J., Yang, S., Kwon, S., Choi, K. H., Kim, W. (2019). *Association between metabolic syndrome and knee osteoarthritis: A cross-sectional nationwide survey study*. J Rehabil Med, 51(6), S. 464-470.
124. Brandt, K. D., Fife, R. S., Braunstein, E. M., Katz, B. (1991). *Radiographic grading of the severity of knee osteoarthritis: relation of the Kellgren and Lawrence grade to a grade based on joint space narrowing, and correlation with arthroscopic evidence of articular cartilage degeneration*. Arthritis Rheum, 34(11), S. 1381-1386.
125. Drossaers-Bakker, K. W., Amesz, E., Zwinderman, A. H., Breedveld, F. C., Hazes, J. M., A (2000). *Comparison of three radiologic scoring systems for the long-term assessment of rheumatoid arthritis: findings of an ongoing prospective inception cohort study of 132 women followed up for a median of twelve years*. Arthritis Rheum, 43(7), S. 1465-1472.
126. Gupta, K. B., Duryea, J., Weissman, B. N. (2004). *Radiographic evaluation of osteoarthritis*. Radiol Clin North Am, 42(1), S. 11-41.
127. Kohn, M. D., Sassoon, A. A., Fernando, N. D. (2016). *Classifications in Brief: Kellgren-Lawrence Classification of Osteoarthritis*. Clin Orthop Relat Res, 474(8), S.1886-1893.

128. Tanamas, S., Hanna, F. S., Cicuttini, F. M., Wluka, A. E., Berry, P., Urquhart, D. M. (2009). *Does knee malalignment increase the risk of development and progression of knee osteoarthritis? A systematic review.* Arthritis Rheum, 61(4), S. 459-467.
129. Harrington, I. J. (1976). *A bioengineering analysis of force actions at the knee in normal and pathological gait.* Biomed Eng, 11(5), S. 167-172.
130. Morrison, J. (1968). *Bioengineering analysis of force actions transmitted by the knee joint.* Biomed Eng., 3(4), S. 164-170.
131. Harrington, I. J. (1983). *Static and dynamic loading patterns in knee joints with deformities.* J Bone Joint Surg Am, 65(2), S. 247-259.
132. Sharma, L., Hurwitz, D. E., Thonar, E. J., Sum, J. A., Lenz, M. E., Dunlop, D. D., Schnitzer, T. J., Kirwan-Mellis, G., Andriacchi, T. P. (1998). *Knee adduction moment, serum hyaluronan level, and disease severity in medial tibiofemoral osteoarthritis.* Arthritis Rheum, 41(7), S. 1233-1240.
133. Sharma, L., Chmiel, J. S., Almagor, O., Felson, D., Guermazi, A., Roemer, F., Lewis, C. E., Segal, N., Torner, J., Cooke, T. D. V., Hietpas, J., Lynch, J., Nevitt, M. (2013). *The role of varus and valgus alignment in the initial development of knee cartilage damage by MRI: the MOST study.* Ann Rheum Dis, 72(2), S. 235-240.
134. Sharma, L., Song, J., Dunlop, D., Felson, D., Lewis, C. E., Segal, N., Torner, J., Cooke, T. D., Hietpas, J., Lynch, J., Nevitt, M. (2010). *Varus and valgus alignment and incident and progressive knee osteoarthritis.* Ann Rheum Dis, 69(11), S. 1940-1945.
135. van der Esch, M., Steultjens, M., Wieringa, H., Dinant, H., Dekker, J. (2005). *Structural joint changes, malalignment, and laxity in osteoarthritis of the knee.* Scand J Rheumatol, 34(4), S. 298-301.
136. McCarthy, I., Hodgins, D., Mor, A., Elbaz, A., Segal, G. (2013). *Analysis of knee flexion characteristics and how they alter with the onset of knee osteoarthritis: a case control study.* BMC Musculoskelet Disord, 14, S. 169.
137. Ozdemir, F., Tukenmez, O., Kokino, S., Turan, F. N. (2006). *How do marginal osteophytes, joint space narrowing and range of motion affect each other in patients with knee osteoarthritis.* Rheumatol Int, 26(6), S. 516-522.
138. Harrison, M. H., Schajowicz, F., Trueta, J. (1953). *Osteoarthritis of the hip: a study of the nature and evolution of the disease.* J Bone Joint Surg Br, 35(4), S. 598-626.

139. Park, H. J., Kim, S. S., Lee, S. Y., Park, N. H., Park, J. Y., Choi, Y. J., Jeon, H. J. (2013). *A practical MRI grading system for osteoarthritis of the knee: association with Kellgren-Lawrence radiographic scores*. Eur J Radiol, 82(1), S. 112-117.
140. Sunk, I. G., Amoyo-Minar, L., Niederreiter, B., Soleiman, A., Kainberger, F., Smolen, J. S., Bobacz, K. (2013). *Histopathological correlation supports the use of x-rays in the diagnosis of hand osteoarthritis*. Ann Rheum Dis, 72(4), S. 572-577.
141. Pauli, C., Whiteside, R., Heras, F. L., Nestic, D., Koziol, J., Grogan, S. P., Matyas, J., Pritzker, K. P., D'Lima, D. D., Lotz, M. K. (2012). *Comparison of cartilage histopathology assessment systems on human knee joints at all stages of osteoarthritis development*. Osteoarthritis Cartilage, 20(6), S. 476-485.
142. Nakasa, T., Adachi, N., Kato, T., Ochi, M. (2014). *Correlation between subchondral bone plate thickness and cartilage degeneration in osteoarthritis of the ankle*. Foot Ankle Int, 35(12), S. 1341-1349.
143. Jeddi, M., Dabbaghmanesh, M. H., Ranjbar Omrani, G., Ayatollahi, S. M., Bagheri, Z., Bakhshayeshkaram, M. (2015). *Relative Importance of Lean and Fat Mass on Bone Mineral Density in Iranian Children and Adolescents*. Int J Endocrinol Metab, 13(3), e25542.
144. Chan, M. Y., Center, J. R., Eisman, J. A., Nguyen, T. V. (2014). *Bone mineral density and association of osteoarthritis with fracture risk*. Osteoarthritis Cartilage, 22(9), S. 1251-1258.
145. Yusup, A., Kaneko, H., Liu, L., Ning, L., Sadatsuki, R., Hada, S., Kamagata, K., Kinoshita, M., Futami, I., Shimura, Y., Tsuchiya, M., Saita, Y., Takazawa, Y., Ikeda, H., Aoki, S., Kaneko, K., Ishijima, M. (2015). *Bone marrow lesions, subchondral bone cysts and subchondral bone attrition are associated with histological synovitis in patients with end-stage knee osteoarthritis: a cross-sectional study*. Osteoarthritis Cartilage, 23(11), S. 1858-1864.
146. Grande, F. D., Farahani, S. J., Carrino, J. A., Chhabra, A. (2014). *Bone marrow lesions: A systematic diagnostic approach*. Indian J Radiol Imaging 24(3), S. 279-287.
147. Perry, T. A., Parkes, M. J., Hodgson, R. J., Felson, D. T., Arden, N. K., O'Neill, T. W. (2020). *Association between Bone marrow lesions & synovitis and symptoms in symptomatic knee osteoarthritis*. Osteoarthritis Cartilage, 28(3), S. 316-323.

148. Lowitz, T., Museyko, O., Bousson, V., Laouisset, L., Kalender, W. A., Laredo, J. D., Engelke, K. (2013). *Bone marrow lesions identified by MRI in knee osteoarthritis are associated with locally increased bone mineral density measured by QCT*. Osteoarthritis Cartilage, 21(7), S. 957-964.

10 Danksagung

Auf diesem Wege möchte ich all denjenigen herzlich danken, die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein Dank gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. H. Madry für die Überlassung des spannenden Themas und die Möglichkeit, am Institut für Experimentelle Orthopädie und Arthroseforschung der Universität des Saarlandes arbeiten zu dürfen.

Besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. med. P. Orth, der durch seine persönliche Anleitung, die stetige Unterstützung und konstruktive Kritik wesentlich zum Erstellen der Arbeit beigetragen hat.

Weiterhin möchte ich mich bei Prof. Dr. rer. nat. M. Cucchiarini für die freundliche Anleitung bei der Durchführung biochemischer Untersuchungen bedanken.

Mein Dank geht ebenso an Gertrud Schmitt, die mich bei der Herstellung von histologischen Präparaten tatkräftig unterstützte, sowie an Dr. rer. nat. Jagadeesh K. Venkatesan, der mir in sämtlichen technischen Fragen und bei Laborarbeiten zur Seite stand. Bedanken möchte ich mich bei meinen Mitdoktoranden sowie allen anderen Mitarbeitern des Labors für die außerordentlich gute Zusammenarbeit.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Eltern, die mir das Studium der Medizin ermöglichten und mir auch während der Anfertigung der Doktorarbeit immerzu unterstützend und liebevoll zur Seite standen.

11 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

12 Publikationen

12.1 Originalarbeiten

Oláh T, Reinhard J, Gao L, **Haberkamp S**, Goebel LKH, Cucchiarini M, Madry H. *Topographic modeling of early human osteoarthritis in sheep*, Science Translational Medicine 2019; **11**(508):eaax6775.

Haberkamp S*, Oláh T*, Orth P, Cucchiarini M, Madry H. *Analysis of spatial osteochondral heterogeneity in advanced knee osteoarthritis exposes influence of joint alignment*, Science Translational Medicine 2020; **12**(562):eaba9481.

*geteilte Erstautorschaft