

# OSTEOLOGIE

Organ der Deutschen Gesellschaft für Osteologie  
und der Arbeitsgemeinschaft Knochentumoren

**Band 3, Heft 2, Juni 1994**

21777

MG 1-4

## Übersichtsarbeiten

Wertigkeit der bildgebenden Diagnostik in der Vorhersage des Ansprechens von Osteosarkomen und Ewing Sarkomen auf eine Präoperative Chemotherapie  
R. Erlemann

Beanspruchungsanalyse in der Osteologie  
E. Ficker, J. F. Hönig, H. A. Merten

## Theoretisch-experimentelle Beiträge

Röntgenmorphologische und histologische Untersuchungen an Bandscheiben der Lendenwirbelsäule nach chemischer Nukleolyse  
D. von Mallek, D. Hirtz, G. Mall, J. Koebke

Lückenbildungen der subchondralen Mineralisierungszone des Tibiaplateaus  
S. Milz, R. Putz

Pyridinium-Quervernetzungen im Knochengewebe: Vergleich mit Kollagenmodifikation und Morphometrie  
B. Bätge, Y. Açil, A. Schlatterer, U. Seitzer, P. K. Müller

## Klinische Beiträge

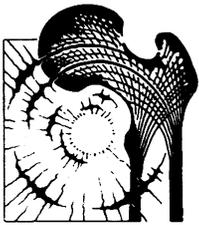
Treatment of Osteoporosis with the Anabolic Nandrolone Decanoate  
M. A. Dambacher, Maja U. Rieben, A. Keusch, P. Rügsegger

## Der interessante Fall

Knochenschmerzen als Hauptsymptom eines Malabsorptionssyndroms bei einheimischer Sprue  
S. H. Scharla, D. Fliser, G. Dellling, R. Ziegler



**Verlag Hans Huber**  
**Bern Göttingen Seattle Toronto**



Deutsche Gesellschaft  
für Osteologie

Arbeitsgemeinschaft  
Knochentumoren

**Band 3, Heft 2**  
**Juni 1994**

# Inhalt

## Übersichtsarbeiten

- Wertigkeit der bildgebenden Diagnostik in der Vorhersage des Ansprechens von Osteosarkomen und Ewing Sarkomen auf eine Präoperative Chemotherapie ..... 79  
(Value of Diagnostic imaging in the Assessment of Response of Osteosarcoma and Ewing Sarcoma to Preoperative Chemotherapy)  
R. Erlemann

- Beanspruchungsanalyse in der Osteologie ..... 91  
(Analysis of Stress and Strain in Osteology)  
E. Ficker, J.F. Hönig, H.A. Merten

## Theoretisch-experimentelle Beiträge

- Röntgenmorphologische und histologische Untersuchungen an Bandscheiben der Lendenwirbelsäule nach chemischer Nukleolyse ..... 104  
(Radiomorphological and Histological Investigations on Lumbar Intervertebral Discs)  
D. von Mallek, D. Hirtz, G. Mall, J. Koebke

- Lückenbildungen der subchondralen Mineralisierungszone des Tibiaplateaus ..... 110  
(Perforations of the Subchondral Plate of the Tibial Plateau)  
S. Milz, R. Putz

- Pyridinium-Quervernetzungen im Knochengewebe: Vergleich mit Kollagenmodifikation und Morphometrie ..... 119  
(Pyridinium-crosslinks in Bone Tissue: Comparison to Collagen Modification and Histomorphometry)  
B. Bätge, Y. Açil, A. Schlatterer, U. Seitzer, P.K. Müller

## Klinische Beiträge

- Treatment of Osteoporosis with the Anabolic Nandrolone Decanoate ..... 125  
(Die Behandlung der Osteoporose mit dem Anabolikum Nandrolon-decanoat)  
M.A. Dambacher, Maja U. Rieben, A. Keusch, P. Rüeeggsegger

## Der interessante Fall

- Knochenschmerzen als Hauptsymptom eines Malabsorptionssyndroms bei einheimischer Sprue ..... 134  
(Bone Pain as the Main Presenting Symptom of Caliac Sprue (Gluten-sensitive Enteropathy))  
S.H. Scharla, D. Fliser, G. Dellling, R. Ziegler

- Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Osteologie ..... 138

- Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft Knochentumoren ..... 141

- Tagungsankündigungen ..... 143

## Hinweise für Autoren



Verlag Hans Huber  
Bern Göttingen Seattle Toronto  
Länggaß-Straße 76  
CH-3000 Bern 9

# Lückenbildungen der subchondralen Mineralisierungszone des Tibiaplateaus

S. Milz, R. Putz

Anatomische Anstalt München, Lehrstuhl I (Vorstand Prof. Dr.med. R. Putz)

Herrn Prof. Dr. med. Benno Kummer gewidmet aus Anlaß seines 70. Geburtstages

## Zusammenfassung

Die subchondrale Mineralisierungszone läßt im histologischen Präparat wie auch in der Radiographie Lückenbildungen erkennen, die die gesamte subchondrale Mineralisierungszone durchdringen und so eine direkte Verbindung zwischen unverkalktem Knorpel und Markraum der Spongiosa darstellen.

Diese Lückenbildungen lassen sich anhand ihrer Form und ihres mittleren Durchmessers in zwei Gruppen unterteilen. Einerseits finden sich bevorzugt in Bereichen mit dünner subchondraler Mineralisierungszone Lückenbildungen mit ampullärem Erscheinungsbild und großem Durchmesser. An dicken Stellen lassen sich andererseits Kanäle nachweisen. Diese Kanäle haben einen geringeren Durchmesser und bilden ein dendritisch verzweigtes System von Hohlräumen. Vereinzelt findet man solche Kanäle auch in dickeren subchondralen Stütztrabekeln.

Die wahrscheinlichste Funktion dieser Lückenbildungen ist in der nutritiven Versorgung der subchondralen Mineralisierungszone und wohl auch der tiefen Anteile des Gelenkknorpels zu sehen. Die bisher übliche Ansicht, daß eine Versorgung des Gelenkknorpels nicht über die subchondrale Mineralisierungszone hinweg erfolgen könne, bedarf damit einer Korrektur. Darüberhinaus sind weitere funktionelle Deutungen denkbar. Möglicherweise dienen sie als Wege für belastungsabhängige Flüssigkeitsverschiebungen, die von elektrophysiologischen und hydromechanischen Phänomenen begleitet werden.

Schlüsselwörter: Perforationen – Tibiaplateau – subchondrale Mineralisierungszone – Morphometrie

## Perforations of the Subchondral Plate of the Tibial Plateau

The subchondral plate is everywhere invaded by hollow spaces, which can be recognized both in histological sections and on contact radiographs, and which provide a direct connection between the uncalcified cartilage and the marrow cavity of the spongiosa.

According to their shape and average diameter, these hollow spaces can be subdivided into two groups. Where the subchondral plate is thin, they tend to be ampulla-like and wide. In regions of greater thickness, however, channels can be seen. These are narrower, and form a tree-like mesh. Occasionally they involve the thicker subchondral supporting trabeculae.

The most probable function of these spaces is to provide nutrition for the subchondral plate and the deeper layers of the articular cartilage. The previously prevailing view that this cartilage can not receive any nutrition from beneath the subchondral plate therefore needs to be revised. Possibly they provide passage for the movement of fluid when the joint is heavily loaded, this being accompanied by electrophysiological and hydromechanical phenomena.

Key words: perforation – tibial plateau – subchondral plate – morphometry

## Einleitung

Das wesentliche funktionelle Merkmal gesunder Gelenke ist die Fähigkeit, über einen langen Zeitraum hinweg, unter statischen wie dynamischen Bedingungen Kräfte zwischen den einzelnen Skelettelementen zu übertragen. Vorrangiges Ziel morphologischer Studien ist es, das Bauprinzip der Gelenke, welches zu diesen Leistungen befähigt, besser zu verstehen. Während mittlerweile viele Untersuchungen über den Gelenkknorpel vorliegen, ist über den Feinbau der subchondralen Mineralisierungszone – damit ist der gesamte Bereich gemeint, der den Markraum der Spongiosa vom nicht mineralisierten Knorpel trennt – viel weniger bekannt. Gerade diese Zone kann als überschaubares Modell der Wechselwirkung von Anordnungsprinzip des Gewebes und lokaler Beanspruchung herangezogen werden. Nähere Informationen über die Knorpel-Knochengrenze selbst und die dicht darunterliegenden Knochenareale sind nicht zuletzt deshalb von erheblicher Bedeutung, da sie wesentlich an der Entstehung arthrotischer Veränderungen beteiligt sein sollen [17,31].

Bei der Untersuchung der regionalen Dickenverteilung der subchondralen Mineralisierungszone [27,28] fielen verschiedene Lückenbildungen auf. Ihre genaue Bedeutung blieb, trotz einer Reihe von zum Teil widersprüchlichen Literaturangaben, allerdings unklar. Deshalb soll am Beispiel des Tibiaplateaus der Versuch unternommen werden, die flächenhafte Verteilung dieser morphologischen Merkmale zu untersuchen und sie in einen Zusammenhang mit der unter Normalbedingungen auftretenden Beanspruchung zu bringen.

Bereits 1950 wurden von Holmdahl und Ingelmark [18] beim Kaninchen direkte Kontaktstellen zwischen dem Knorpel und dem Markraum der Spongiosa beobachtet. Diese Kontaktstellen ließen sich anhand ihrer Form in zwei Gruppen unterteilen. Die eine Gruppe wurde wegen ihres relativ weiten, flächigen Kontaktes zwischen Knorpel und Markraum als ampullenähnlich («ampulla-like») bezeichnet, während die andere Gruppe wegen ihres engen, kanalähnlichen Verlaufs als dendritisch oder kanalartig bezeichnet wurde. Bei der Untersuchung der Häufigkeit dieser beiden Strukturen in verschiedenen Gelenken zeigten sich bezüglich des prozentualen Anteils der Kontaktfläche an der jeweiligen Gelenkfläche Unterschiede. Dabei weist das distale Femurende des Kaninchens die flächenmäßig ausgedehntesten direkten Verbindungen zwischen Knorpel und Mark auf. Bei Beagle-Hunden fanden Roth et al. [34] dagegen nur eine Gruppe von «gap» genannten Verbindungen. Diese Strukturen wurden im allgemeinen als Verbindungswege zur Ernährung des Gelenkknorpels angesehen.

Wilsman et al. [38] berichten über gefäßführende Knorpelkanäle im proximalen Humerus neugeborener Ka-

ninchen. Dabei fällt auf, daß ein etwa 0.65 mm breiter hyaliner Knorpelstreifen, der in direkter Nachbarschaft zum Gelenkspalt liegt, nie von solchen Kanälen durchbrochen wird. Wilsman et al. [38] interpretieren diesen Wert als die maximale extravasale Distanz, die zur Ernährung des Knorpels noch überbrückt werden kann. Die Übertragbarkeit solcher Befunde auf den Menschen wird durch Untersuchungen von Inoue [21] gerechtfertigt, der auch bei menschlichem Gelenkmaterial vereinzelt auftretende, schmale, kanalähnliche Gebilde in der subchondralen Knochenlamelle fand. Diese reichen bis an die osteochondrale Verbindungszone heran. Über gefäßführende Kanäle, welche die subchondrale «Platte» durchbrechen, berichten Green et al. [15]. Sie finden diese Kanäle vor allem bei jungen, im Wachstum befindlichen Individuen, mit zunehmendem Alter nimmt ihre Häufigkeit allerdings ab. Im Alter auftretende Lückenbildungen werden stattdessen häufig als Folge pathologischer Prozesse bei Arthropathien angesehen [15,29]. Dabei kommen Green et al. [15] zu dem Schluß, daß ein großer Teil der subchondralen Mineralisierungszone des älteren Erwachsenen devitalisiertes Gewebe darstelle und in der Folge Gefäßinvasion und Resorption induzieren soll.

Im Zuge rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungen der subchondralen Druckaufnahmeplatte der menschlichen Tibia stellen Duncan et al. [10] eine Vielzahl von Perforationen fest. Diese lassen sich allerdings erst nach Mazeration des Knorpels darstellen. Obwohl solche Perforationen meist mit pathologischen Gelenkveränderungen in Zusammenhang gebracht werden, kommen Duncan et al. [10] beim Tibiaplateau zu gegenteiligen Ergebnissen. Sie zeigen auf, daß ein großer Teil dieser Perforationen den Gelenkknorpel direkt mit dem subchondralen Markraum in Kontakt bringt; es lassen sich bei lichtmikroskopischer Untersuchung häufig Blutgefäße mit vereinzelt Erythrozyten erkennen. Die regionale Verteilung der Perforationen im lateralen und im medialen Tibiaplateau ist unterschiedlich. Medial finden die Autoren die meisten Perforationen in den dorsalen, unter dem Meniskus gelegenen Gelenkpartien, während sie lateral vorzugsweise im Zentrum der Gelenkfläche zu finden sind. Unter den Menisci ist keine Häufung zu beobachten. Eine Unterteilung der Penetrationen anhand ihrer Morphologie wird von Duncan et al. [10] nicht vorgenommen.

## Material

Es wurden 21 menschliche, proximale Tibiaenden untersucht, die makroskopisch keine Knorpelschäden aufwiesen. Die Fixierungsdauer bis zur Entnahme betrug ca. 0.5–1 Jahre (Präpariersaalmaterial). Das Alter der

Donatoren variierte zwischen 60 und 84 Jahren, so daß bezogen auf das höhere Lebensalter von einer einheitlichen Altersgruppe ausgegangen werden kann. Als geeignet für die Untersuchung wurden nur solche Kniegelenke angesehen, die keine makroskopisch sichtbaren Knorpelschäden oder sonstigen Arthrosezeichen aufwiesen. Mit Hilfe dieser Bedingung sollte trotz des hohen Lebensalters der Donatoren und der damit verbundenen größeren Häufigkeit von pathologischen Gelenkveränderungen eine Gruppe mit altersmäßig weitgehend intakter Knorpel-Knochenschicht selektiert werden. Durch die Kombination von Selektion und hinreichend großer Probenzahl lassen sich so repräsentative Untersuchungsergebnisse mit hoher Aussagekraft erzielen. Es kann deshalb davon ausgegangen werden, daß die erhobenen Befunde den altersentsprechenden «Normalzustand» eines intakten Tibiaplateaus mit genügender Sicherheit erkennen lassen.

## Methode

**Entnahme, Präparation, Lagerung:** Zur Entnahme wurden die Kniegelenke inclusive aller anhängenden Weichteile von Ober- und Unterschenkel abgesetzt und anschließend bis auf Teile des Kapselbandapparates freipräpariert. Die Zwischenlagerung bis zur endgültigen Bearbeitung erfolgte bei  $-25^{\circ}\text{C}$ , wobei die Lagerungsdauer acht Monate nicht überschritt. Eine Aufbewahrung der entnommenen Präparate bei  $-25^{\circ}\text{C}$  ist sehr gut geeignet, den Knorpel-Knochenverband nicht nur in Form, Größe und Zusammenhalt unversehrt zu lassen, sondern darüberhinaus auch die mechanischen Eigenschaften bis zur endgültigen Verarbeitung zu konservieren [14,19,20,36]. Dies wurde im Verlauf der Untersuchungen immer wieder bestätigt, da die angefertigten Schnitte keinerlei Artefakte aufwiesen. Teilweise ließen sich sogar die im Anschnitt vieleckig erscheinenden Grenzen der Fettzellen im Verband darstellen.

**Feinpräparation, Methylmethacrylateinbettung:** Um die Proben zur weiteren Bearbeitung aufzutauen, wurden sie in die gleiche Fixierlösung eingebracht, die auch zur Fixierung der Leichen verwendet wurde (4% Formalin / 96% Alkohol, 1:1).

Menisci, Kreuz- und Seitenbänder wurden entfernt und der Tibiakopf mit einer Bandsäge so durchtrennt, daß die überknorpelten Gelenkflächen und eine zirka 1–1.5 cm breite, angrenzende Spongiosaschicht zurückblieben.

Die so präparierten Tibiagelenkflächen wurden über eine aufsteigende Alkoholreihe und drei Fraktionen Aceton in Methylmethacrylat eingebettet [5,28,32,33,35]. Nach gänzlicher Aushärtung der einzelnen Acrylatblöcke wurden von medialer und lateraler Tibiagelenkfläche mit der Innenlochsäge (Leitz Sägemikrotom)

planparallele Schnitte (Dicke 500  $\mu\text{m}$ ) zur Sagittalebene angefertigt (n=16). In 5 Fällen wurden die Plateaus in der Frontalebene zerteilt.

Einige ausgewählte Gelenkpräparate wurden nach dem Schnittschema 500-100-100-100-100 zerteilt, um sowohl mikroradiographische Untersuchungen als auch verschiedene Färbungen durchführen zu können.

**Radiographien:** An Präparaten mit einer Schnittdicke von 100  $\mu\text{m}$  wurden unter Verwendung von Kodak High Resolution Plates Typ 1A bei 12–15 KV, 2 mA und einer Belichtungszeit von 70 Minuten mit Hilfe des Faxitron-Röntgengerätes Mikroradiographien angefertigt. Von den übrigen Schnitten wurden Kontaktradiographien auf Strukturix Röntgenfilm (Agfa) hergestellt.

**Methylmethacrylatschnitte – Färbungen:** Zur Färbung der 100  $\mu\text{m}$  dicken, nicht entkalkten und nicht von Methylmethacrylat befreiten Schnitte wurden die nachstehenden Verfahren angewandt. Dabei ist davon auszugehen, daß sich die Färbungen vorwiegend auf die Schnittoberfläche beschränken:

1. Alizarin-Toluidin Färbung
2. Goldner-Lichtgrün Färbung
3. Laczko-Levai Färbung
4. Ladewig Färbung

Nur exemplarisch zur Anwendung gelangten die Azan-Färbung, die Färbung mit Hämatoxylin, Picrofuchsin und die Versilberungsverfahren nach v. Kossa und Movat.

**Bildanalyse – Systembeschreibung:** Zur morphometrischen Untersuchung wurde ein Vidas-Bildanalyse-system (Kontron) verwendet, welches wahlweise an eine Leitz Stereolupe (M 420) oder ein Zeiss Mikroskop (Axiophot) angeschlossen wurde.

Das Bildanalyse-system besteht aus einem Computersystem (CPU 80386, Industriestandard) mit Videokamera, Digitalisierhardware und entsprechender Software.

Die zu untersuchenden Distanzen wurden im interaktiven Betrieb durch Markieren einer Strecke auf dem Bildschirm gemessen. Das Bildanalyse-system wurde vor Beginn jeder Meßreihe mit Hilfe einer Strichplatte (Leitz) in beiden Raumrichtungen kalibriert. Vor Beginn der eigentlichen Meßreihe wurden Probemessungen mit Hilfe der Strichplatte vorgenommen, die zur Kontrolle der vorangegangenen Kalibrierung und als Test für die Reproduzierbarkeit der einzelnen Messungen dienten.

Das verwendete Meßsystem (Leitz-Stereolupe + Vidas-Bildanalyse-system) läßt mit der gewählten Versuchsanordnung eine technisch mögliche Meßgenauigkeit von 10  $\mu\text{m}$  zu. Ausschlaggebend für die maximale Meßgenauigkeit sind im wesentlichen die optischen Eigenschaften der Stereolupe, bzw. des Mikroskopes, deren Bild über eine Videokamera mit einer von der optischen Vergrößerung unabhängigen Auflösung von 512 x 512 Bildpunkten digitalisiert wird. Distanzmessungen in Bereichen von weniger als 50  $\mu\text{m}$  wurden mit dem Mikroskop überprüft.

Die Isocrassiden, das heißt die Isolinien gleicher Dicke, wurden über eine computergestützte Rekonstruktion der Dickenverteilung der subchondralen Mineralisierungszone bestimmt [27,28].

## Ergebnisse

**Kanalartige Lückenbildungen:** Die subchondrale Mineralisierungszone baut sich aus einer knöchernen Lamelle und der unmittelbar darauffolgenden Zone des mineralisierten Knorpels auf. Sie ist vor allem in den zentralen und den kreuzbandhöckernahen Gelenkpartien, wo sie ihre größte Dicke erreicht, von einem feinen Kanalsystem durchzogen. Diese Kanäle reichen vom Markraum der Spongiosa bis an die Tidemark heran und lassen in der Regel ein dichotomes Verzweigungsmuster erkennen (Abb. 1). Sie haben einen mittleren Durchmesser von etwa 30  $\mu\text{m}$ , bei einer Schwankungsbreite von etwa 20 bis 45  $\mu\text{m}$  (Tab.1).

Obwohl die kanalartigen Hohlräume sich als besonders auffälliges morphologisches Merkmal vornehmlich im Bereich der subchondralen Mineralisierungszone finden, treten sie vereinzelt auch in den subchondralen Stütztrabekeln oder noch seltener in den weiter entfernten subartikulären Trabekeln auf. Die Kanäle sind dann meist nur relativ kurz und zeigen nahezu keine Verzweigungen. Diese Trabekel sind häufig etwas dicker als die Trabekel ohne Kanalsystem. Ihr Durchmesser beträgt in der Regel zwischen 230 und 400  $\mu\text{m}$  (Tab. 1).

Im histologischen Präparat hat man häufig den Eindruck, daß zwischen den Hohlräumen und dem nichtverkalkten Knorpel keine kalkhaltige Barriere mehr besteht. Bestätigt wird dies durch Mikroradiographien dieser Zone, die Lücken in der subchondralen Mineralisierungszone zeigen, wobei sich einzelne Lückenbildungen bis zum Markraum der Spongiosa als durch-

*Tabelle 1:* Zusammenfassung der Meßwerte

	Mean	Min.	Max.	Std. dev.	Var.
Trabekel mit Kanälen [100 $\mu\text{m}$ ]	3,23	2,30	4,00	0,50	0,25
Kanäle [100 $\mu\text{m}$ ]	0,31	0,20	0,46	0,06	0,0036
Löcher [100 $\mu\text{m}$ ]	0,82	0,49	1,45	0,21	0,044

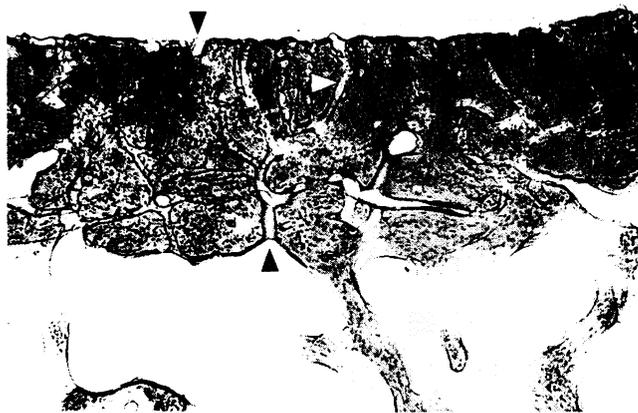
gehende strahlendurchlässige Strukturen darstellen lassen (Abb. 2).

Betrachtet man die räumliche Verteilung dieser kanalartigen Hohlräume, zeigt sich deutlich ein bevorzugtes Auftreten an den Stellen des Gelenkes, die eine dicke subchondrale Mineralisierungszone aufweisen. Es sind dies die zentralen Partien der Gelenkflächen [28]. Bezirke mit dünner subchondraler Mineralisierungszone, die vorwiegend in den peripheren Gelenkpartien anzutreffen sind, zeigen diese Gänge in der Regel nicht (Abb. 3).

Je nach verwendeter Färbung stellt sich der Inhalt dieser Hohlräume in einem mehr oder weniger deutlich von Knochen, Markraum und unverkalktem Knorpel unterscheidbaren Farbton dar. Bei Azan und Masson-Lichtgrün-Färbung ist dies der gleiche Farbton, in dem sich auch die Tidemark darstellt. Vereinzelt läßt sich bei ungefärbten Schnitten rötliches, an Blutfarbstoff erinnerndes Material in den Kanälen erkennen. Auch bei Hämatoxylin, Picrofuchsin Färbung sind vereinzelt Erythrozyten zu erkennen (Abb. 5 a,b).

An den Übergängen von dicker zu dünner subchondraler Mineralisierungszone [27,28] nimmt der Verzweigungsgrad der Kanalsysteme ab, die Kanäle vereinzeln sich.

**Lochartige Lückenbildungen:** In den peripheren Gelenkpartien mit dünner subchondraler Mineralisierungszone finden sich keine verzweigten Kanäle mehr,



*Abbildung 1:* Kanalartige Lückenbildungen in der subchondralen Mineralisierungszone (Markierung), Ladewig ca. 40x



*Abbildung 2:* Kanäle, welche die subchondrale Mineralisierungszone penetrieren (Markierung), Mikroradiographie ca. 60x

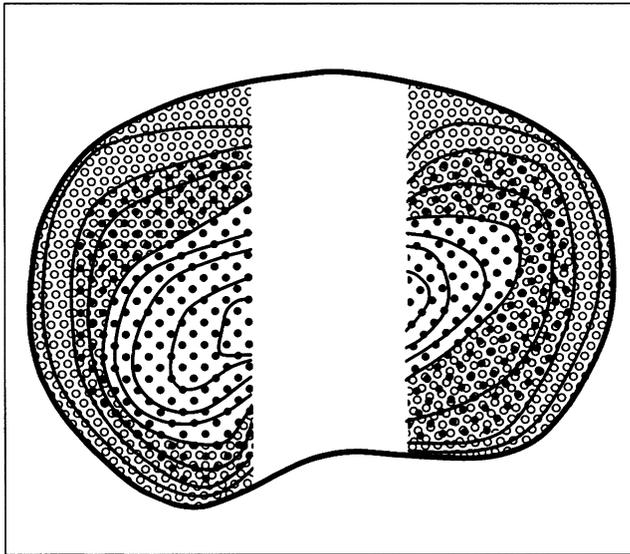


Abbildung 3: Schema der Verteilung der verschiedenen Lückenbildungen (Kreise = Löcher, Punkte = Kanäle). Zur Orientierung sind die 100 µm – Isocrassiden des Tibiaplateaus [27,28] eingezeichnet.



Abbildung 4: Lochbildung in der subchondralen Mineralisierungszone (Pfeil), Azan ca. 100x.

sondern entsprechend ihres morphologischen Aspektes als «Löcher» zu bezeichnende Lückenbildungen (Abb. 3, 4).

Diese Löcher sind zahlenmäßig seltener als die Kanäle und durchdringen die gesamte subchondrale Mineralisierungszone. Ihr mittlerer Durchmesser beträgt etwa 80 µm (Tab. 1).

Neben diesen Lückenbildungen mit engem Durchmesser, fallen vereinzelt großflächige Bereiche auf, in denen keine subchondrale Mineralisierungszone mehr nachzuweisen ist. Der intakte darüberliegende Knorpel tritt hier in direkten Kontakt mit dem spongiösen Markraum. Solche Lückenbildungen finden sich bevorzugt in den äußersten, randnahen Gelenkpartien, in denen die subchondrale Mineralisierungszone dünner wird. Nicht weit davon entfernt endet in der Regel auch der knorpelige Überzug der Gelenkflächen.

## Diskussion

### Wertigkeit der eigenen Befunde

Um zuverlässige Befunde zu erhalten, mußte ein Präparations- und Einbettungsverfahren gefunden werden, welches zu den geringsten Artefaktbildungen bezüglich der zu messenden Distanzen führt. Als bewährtes Verfahren bietet sich dazu die Einbettung in Methylmethacrylat an, bei der zudem auf die Entkalkung der Proben verzichtet werden kann. Das verwendete Fixierungsgemisch (4% Formalin/Alkohol) führt gegenüber anderen Lösungen zu den geringsten Schrumpfungsfaktoren [4,5] und zeichnet sich auch durch eine relativ schnelle und vollständige Durchdringung größerer Präparate aus.

Aufgrund der mechanischen Stabilität der verkalkten Knochenmatrix ist nicht zu erwarten, daß die für parenchymatöse Organe ermittelten, maximalen Schrumpfungswerte von 15% (Paraffin bis 40%) [32] erreicht werden. Es ist vielmehr eine weitgehende Formstabilität der unentkalkten Knochenproben anzunehmen. Auch größere, in Methylmethacrylat eingebettete, unentkalkte Knorpel-Knochenstücke lassen sich ohne Schwierigkeit mit einem Sägemikrotom (Innenlochsäge) in planparallele Schnitte zerteilen, wodurch eine beim herkömmlichen Mikrotom häufig zu beobachtende Stauchung vermieden wird. Außerdem läßt sich unter Berücksichtigung von Schnittdicke und Ausbruchsquerschnitt des Sägeblattes eine genaue Ortsbestimmung der jeweiligen Schnitte und damit der späteren Meßpunkte bezüglich der Lage im Gelenk durchführen. Erst dadurch wird eine sinnvolle Erfassung der dreidimensionalen Verteilung einzelner Meßwerte möglich.

### Vergleich mit Befunden in der Literatur

Die eigenen Befunde zeigen zwei Gruppen von Lückenbildungen in der subchondralen Mineralisierungszone, die sich anhand ihrer Morphologie nach Holmdahl et al. [18] in zwei Gruppen unterteilen lassen. Die verzweigten Kanalsysteme entsprechen der Gruppe der dendritischen oder kanalartigen Kontaktstellen, während die sogenannten «Löcher» der Gruppe der ampullenähnlichen Kontaktstellen nach Holmdahl et al. [18] ähnlich sind. Die eigenen Befunde decken sich damit auch, zumindest was die Kanäle betrifft, mit den Befunden von Duncan et al. [10], Inoue [21] und Green et al. [15]. Anders als bei Green et al. [15] finden wir diese Kanäle auch regelhaft und relativ häufig bei älteren Menschen, so daß ein alleiniger Zusammenhang mit Wachstumsprozessen, wie bisher häufig unterstellt, unwahrscheinlich ist. Unsere Beobachtungen stehen auch im Gegensatz zu der Ansicht, daß solche im Alter auftretende Lückenbildungen die Folge pathologischer Prozesse bei Ar-

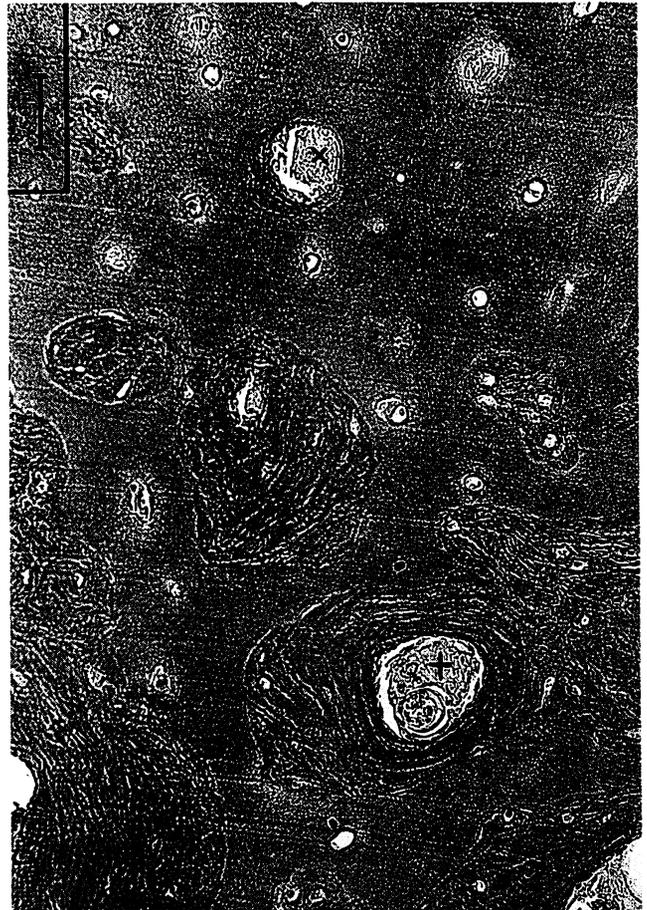
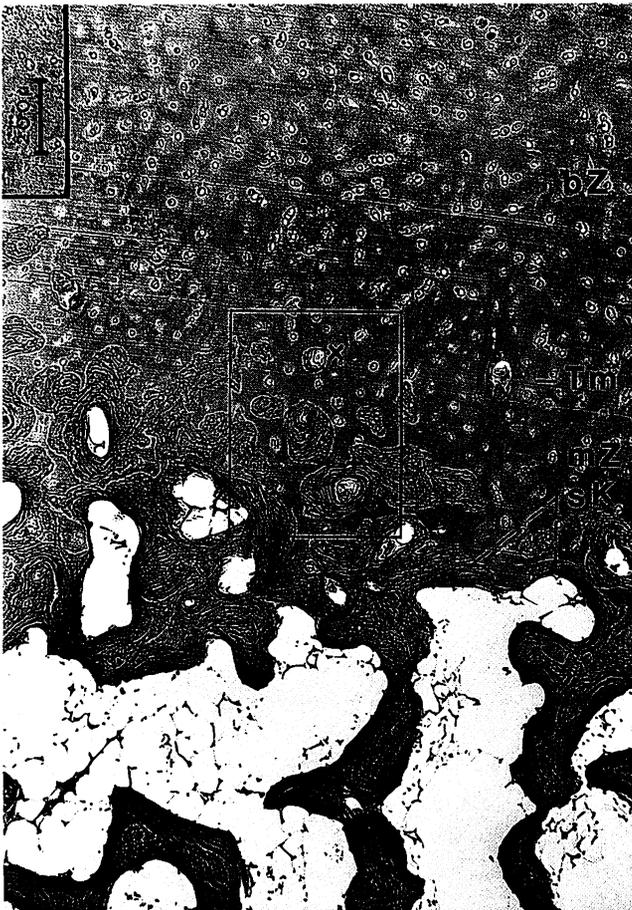


Abbildung 5 a, b: Gelenkknorpel, Knorpel-Knochengrenze schräg angeschnitten, Hämatoxylin, Picrofuchsin.

bZ = basale Knorpelzone, nicht mineralisiert

mZ = mineralisierte Knorpelzone

Tm = Tidemark

sK = subchondraler Knochen

x = kanalartige Lückenbildung mit zellulärem Inhalt

+ = kanalartige Lückenbildung mit Gefäßanschnitt und umgebender Knochenschicht

a) Vergrößerung ca. 50x b) Ausschnitt aus a, Vergrößerung ca. 200x.

thropathien sein sollen [15,29]. Dementsprechend finden sich auch keine Hinweise, daß ein großer Teil der subchondralen Mineralisierungszone des Erwachsenen devitalisiertes Gewebe ist, wie von Green et al. [15] behauptet. Eine flächenhafte Abtragung von Knorpel und subchondralem Knochen, wie sie Milgram [26] als Merkmal pathologisch veränderter Hüftköpfe beschrieben hat, war nicht zu beobachten.

Ähnlich wie Berry et al. [2] finden wir die kanalartigen Lückenbildungen an den Stellen der subchondralen Mineralisierungszone bevorzugt, an denen die Gelenkoberfläche einer höheren lokalen Beanspruchung ausgesetzt ist. Es sind dies die zentralen Gelenkpartien, die einer höheren Druckbeanspruchung unterliegen [1].

### Funktionelle Interpretation der Hohlraumssysteme des Knochens

Nutritive Aspekte: Wilsman et al. [38] berichten über gefäßführende Knorpelkanäle im proximalen Humerus neugeborener Kaninchen. Dabei fällt ein etwa 0.65mm brei-

ter hyaliner Knorpelstreifen auf, der in direkter Nachbarschaft zum Gelenkspalt liegt und nie von solchen Kanälen durchbrochen wird. Die Autoren interpretieren diesen Wert als die maximale Distanz, die zur Ernährung des Knorpels noch überbrückt werden kann. Überträgt man diese funktionelle Interpretation auf die eigenen Befunde, so liegt es nahe, an einen ähnlichen Mechanismus zu denken. Demnach ist eine Funktion der verschiedenen Lückenbildungen der subchondralen Mineralisierungszone darin zu sehen, die Versorgung des am weitesten vom Gelenkspalt entfernten Knorpels zu ermöglichen. Offenbar würde eine alleinige Versorgung des hyalinen Gelenkknorpels über die Synovialflüssigkeit bei größerer Knorpeldicke zu einer Minderversorgung der basalen Schichten führen.

Die Häufung solcher Lückenbildungen in stark belasteten Zonen [2] läßt den Schluß zu, daß dort Knorpel und sicherlich auch angrenzender Knochen eine besonders gute nutritive Versorgung aufweisen. Durch die Kanäle können Blutgefäße in direkten Kontakt mit dem dar-

überliegenden Gelenkknorpel treten. Dies wurde auch von Mezaros et al. [25] am menschlichen Caput femoris beobachtet.

Die grundsätzliche Notwendigkeit solcher Kanäle für das Überleben des Knochens wird verständlich, wenn man die Untersuchungen von Curtis et al. [8] berücksichtigt, die in der Kortikalis langer Röhrenknochen Verbindungen zwischen den verschiedenen Osteozyten benachbarter Lamellensysteme nachweisen konnten. Diese Verbindungen sind jedoch nicht in der Lage, eine Versorgung über weitere Distanzen sicherzustellen, so daß eine kritische (Maximal-)Distanz zum nächsten Blutgefäß zu unterstellen ist, die nicht überschritten werden kann. Nach Ham [16] soll eine effektive Versorgung nur bis zu einer Entfernung von maximal 100-200  $\mu\text{m}$  möglich sein, während Voss [37] Entfernungen von 300 bis maximal 500  $\mu\text{m}$  zwar für möglich hält, aber eine mittlere Entfernung von zirka 250  $\mu\text{m}$  als typisch ansieht. Zu den selben Ergebnissen kommen auch Lozupone et al. [24] mit Distanzwerten von 230 bis 250  $\mu\text{m}$  für die proximale Tibiaspongiosa. Ausgehend von diesen Vorstellungen ist es klar, daß vor allem die Versorgung der dickeren knöchernen Anteile der subchondralen Mineralisierungszone von einem solchen Mechanismus abhängig ist, weshalb sich die Kanalsysteme vorwiegend dort finden. Gleiches gilt für besonders dicke Stütztrabekel, die nach Lozupone et al. [23] ab einem Durchmesser von 120  $\mu\text{m}$  mit steigender Häufigkeit und ab einem Durchmesser von 380  $\mu\text{m}$  in 100% der Fälle solche Kanäle aufweisen. Die eigenen Meßwerte (Tab. 1) bestätigen dies, wobei hier eine Schwankungsbreite der Trabekeldicke von 230 bis 400  $\mu\text{m}$  zu finden ist. Eine weitere Überlegung besteht darin, daß eine geringere Distanz zum nächsten Blutgefäß die Wahrscheinlichkeit für einen Osteozyten, eine ansonsten letale Ischämie [3] zu überleben, erhöht.

Geht man davon aus, daß beim Menschen pro Tag bis zu 0,9  $\mu\text{m}$  mineralisiertes Osteoid als Schicht gebildet werden kann [13], dann wird klar, daß für solche Stoffwechselleistungen eine effiziente Blutversorgung notwendig ist. So wird verständlich, daß in Zonen mit besonders starker Knochenneubildung eine engmaschige und damit besonders leistungsfähige Blutversorgung vorliegt.

Da nachgewiesen ist, daß ein direkter Zusammenhang zwischen Blutversorgung und extravasalem Flüssigkeitstransport einerseits und Knochenwachstum oder Degeneration andererseits besteht [9], ist es sinnvoll zu vermuten, daß es sich bei den beobachteten Kanalsystemen um Teile der Gefäßversorgung des Knochens handelt.

Mechanische Aspekte: Unabhängig von sonstigen funktionellen Überlegungen zur Bedeutung der Perforationen der subchondralen Mineralisierungszone, läßt sich

mit ihrer regional unterschiedlichen Verteilung die trotz hoher Mineralisierung ausgeprägte Verformbarkeit der subchondralen Mineralisierungszone erklären [6]. Sie ist größer als bei Spongiosa und Kompakta und könnte über regionale Unterschiede in der Perforationsverteilung eventuell noch moduliert werden. Zudem besitzen die Perforationen einen Wandaufbau, der nicht dem Aufbau klassischer, voll ausgebildeter Osteone entspricht. Solche klassischen Osteone, die eine mechanische Verformbarkeit des Knochens hemmen würden, lassen sich im subchondralen Bereich nur vereinzelt finden. Damit sind hier diejenigen Bauelemente nur in geringer Zahl vertreten, die neben Mineralisation und Dicke vor allem für die Festigkeit des Knochens ausschlaggebend sind und die in den Schäften der langen Röhrenknochen gehäuft vorkommen [30].

Hydromechanische Aspekte: Geht man davon aus, daß sich offensichtlich keine durchgehende stoffliche Grenze zwischen Gelenkknorpel und darunterliegendem Markraum feststellen läßt, sondern daß unterschiedlich geformte Lückenbildungen in der subchondralen Mineralisierungszone bestehen, so ist es denkbar, daß diese nicht nur nutritive Funktion haben, sondern auch als Verbindungen zwischen den Flüssigkeitsräumen von Knorpel und Markraum an sich dienen. In Verfolgung der Überlegungen von Cochran [7] besteht damit die Möglichkeit, über Flüssigkeitsverschiebungen Druckänderungen des Gelenkknorpels in tiefere Schichten des Tibiakopfes weiterzuleiten. Die Wirkung solcher Druckschwankungen könnte zum einen den Umfang und die Art der Nährstoffversorgung beeinflussen, zum anderen aber auch in den tieferen Schichten der subchondralen Mineralisierungszone einen formativen Reiz auf die dortigen Knochenzellen ausüben. Solche Überlegungen werden vor allem durch die Untersuchungen von Kufahl et al. [22] gestützt, die anhand eines mathematischen Modells zeigten, daß selbst die Osteozyten in einer Tiefe von bis zu fünf Lamellenlagen über ihre Canaliculi noch von druckbedingten Flüssigkeitsverschiebungen erreicht und ernährt werden können. Sie vermuten darüber hinaus, daß das Ausbleiben solcher Flüssigkeitsverschiebungen eine Ursache für osteoporotische Veränderungen in der Folge von Immobilisation sein könnten. Es ist deshalb keine bloße Spekulation, zu vermuten, daß durch ein solches System überhaupt erst die Bildung und die weitere funktionelle Anpassung einer besonders dicken subchondralen Mineralisierungszone ermöglicht und gesteuert werden kann.

Darauf aufbauend ist zu überlegen, inwieweit es durch Flüssigkeitsverschiebung bei Belastung dazu kommen könnte, daß die subchondrale Mineralisierungszone zumindest kurzfristig auf einer Art von Polster «schwimmt». Dieses Polster, gebildet aus den subchondralen und subartikulären Trabekeln und der Mark-

raumflüssigkeit, würde durch Verlagerung von Knorpelflüssigkeit in tiefere Regionen unter Belastung zunächst besonders stabil. Es wäre daraufhin in der Lage federnd nachzugeben und so die Amplitude kurzdauernder Belastungsspitzen und deren Flankensteilheit im Zeit-Belastungsdiagramm zu verringern.

Elektrophysiologische Aspekte: Betrachtet man die Perforationen der subchondralen Mineralisierungszone im Zusammenhang mit den Befunden von Frank et al. [11,12], so ergeben sich neue, bisher unberücksichtigte funktionelle Gesichtspunkte. Frank et al. [11,12] zeigen, daß einerseits die Kompression von Knorpel durch Flüssigkeitsumverteilung zu elektrischen Potentialdifferenzen führt und daß andererseits sogar durch das Anlegen von elektrischen Spannungen mechanische Belastungen im Knorpel erzeugt werden können. Die so erzeugten Druckschwankungen sind proportional zu Spannung, Stromstärke pro Flächeneinheit und Frequenz.

Es kann, ohne zu sehr zu spekulieren, unterstellt werden, daß die perforierte subchondrale Mineralisierungszone ähnlich funktioniert, wie die von Frank et al. [11,12] verwendete perforierte Elektrode. Damit ist es möglich, daß belastungsabhängige elektrische Potentialdifferenzen zwischen Knorpelschicht und subchondraler Mineralisierungszone auftreten. Hervorgerufen werden können solche Potentialdifferenzen durch strömungsbedingte Ladungsverschiebungen im Knorpel, wobei vielleicht auch die ganze subchondrale Mineralisierungszone über ihr verzweigtes Gangsystem mit einbezogen wird.

Es ist daher keineswegs abwegig, in Kombination mit den Erkenntnissen über die osteoinduktive Wirkung von elektrischen Potentialen zu folgern, daß durch die zyklische Belastung der Gelenkflächen Potentiale generiert werden könnten, die einen Stimulus für das Wachstum des Knochens der direkt belasteten Anteile der subchondralen Mineralisierungszone darstellen. Dieser Effekt wäre entsprechend der Morphologie des subchondralen Bereichs auf die direkt unter dem Knorpel gelegenen Knochenareale konzentriert und würde mit zunehmender Entfernung von der Gelenkfläche seine Wirkung verlieren. Damit wirkt auf die subchondrale Mineralisierungszone zusätzlich zu dem im ganzen Skelett wirkenden, vom mechanischen Spannungsverlauf abhängenden formativen Reiz ein weiterer regional begrenzter Stimulus, der eine feinere Modulation der Umbauvorgänge der subchondralen Mineralisierungszone erlauben würde. Dadurch wäre es auch möglich, eine von der übrigen Skelettmorphologie, die im wesentlichen durch mechanische Spannungsverläufe beeinflusst wird, abweichende Gestalt der subchondralen Mineralisierungszone zu erzielen.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die Lückenbildungen im subchondralen Knochen des Tibiaplateaus in

zwei unterschiedlichen Formen auftreten, die eine regelhafte Verteilung zeigen. Vieles deutet darauf hin, daß ihre Ausprägung in direkter Beziehung zur lokalen Beanspruchung steht.

## Literatur

- 1 Ahmed A, Burke D. In-vitro measurement of static pressure distribution in synovial joints – part 1: tibial surface of the knee. *Journal of Biomechanical Engineering*. 1983; 105: 216–225.
- 2 Berry J, Thaeler-Oberdoerster D, Greenwald A. Subchondral pathway to the superior surface of the human talus. *Foot Ankle*. 1986; 7: 2–9.
- 3 Boivin G, Anthoine-Terrier C, Obrant K. Transmission electron microscopy of bone tissue. *Acta Orthop. Scand*. 1990; 61: 170–180.
- 4 Burck H. *Histologische Technik*. Stuttgart: Thieme; 1969.
- 5 Burkhard R. *Präparative Voraussetzungen zur klinischen Histologie des menschlichen Knochenmarks*. *Blut*. 1966; 13: 337–357.
- 6 Choi K, Kuhn J, Ciarelli M, Goldstein S. The elastic moduli of human subchondral, trabecular and cortical bone tissue and the size-dependency of cortical bone modulus. *J. Biomech*. 1990; 23: 1103–1113.
- 7 Cochran G. *Orthopädische Biomechanik*. Stuttgart: Enke; 1988.
- 8 Curtis T, Ashrafi S, Weber D. Canalicular communication in the cortices of human long bones. *Anat. Rec*. 1985; 212: 336–344.
- 9 Dillman R, Roer R, Gay D. Fluid movement in bone: Theoretical and empirical. *J. Biomech*. 1991; 24: Suppl. 1, 163–177.
- 10 Duncan H, Jundt J, Riddle J, Pitchford W, Christopherson. The tibial subchondral plate. *J. Bone Joint Surg. [Am]* 1987; 69: 1212–1220.
- 11 Frank E, Grodzinsky A. Cartilage electromechanics-II. A continuum model of cartilage electrokinetics and correlation with experiments. *J. Biomech*. 1987; 20: 629–639.
- 12 Frank E, Grodzinsky A. Cartilage electromechanics-I. Electrokinetic transduction and the effects of electrolyte pH and ionic strength. *J. Biomech*. 1987; 20: 615–627.
- 13 Frost H. Lamellar osteoid mineralized per day in man. *Henry Ford Hosp. Med. J*. 1960; 8: 267–272.
- 14 Goldstein S. The mechanical properties of trabecular bone. Dependence on anatomic location and function. *J. Biomech*. 1987; 20: 1055–1061.
- 15 Green W, Martin GN, Eanes E, Sokoloff L. Microradiographic study of the calcified layer of articular cartilage. *Arch. Path.* 1970; 90: 151–158.
- 16 Ham W. Some histological problems peculiar to calcified tissues. *J. Bone Joint Surg. [Am]* 1952; 34: 706–728.
- 17 Havdrup C, Hulth A, Telhag H. The subchondral bone in osteoarthritis and rheumatoid arthritis of the knee. *Acta Orthop. Scand*. 1976; 47: 345–350.
- 18 Holmdahl D, Ingelmark B. The contact between the articular cartilage and the medullary cavities of the bone. *Acta Orthop*. 1950; 20: 156–165.
- 19 Hvid I, Hansen S. Subchondral bone strength in arthrosis. *Acta Orthop. Scand*. 1986; 57: 47–51.

- 20 Hvid I, Jensen J, Nielsen S. Bone strength measurements at the proximal tibia. Penetration tests and epiphyseal compressive strength. *Int. Orthop.* 1986; 10: 271–275.
- 21 Inoue H. Alterations in the collagen framework of osteoarthritic cartilage and subchondral bone. *Int. Orthop.* 1981; 5: 47–52.
- 22 Kufahl R, Saha S. A theoretical model for stress-generated fluid flow in the canaliculi-lacunae network in bone tissue. *J. Biomech.* 1990; 23: 171–180.
- 23 Lozupone E. The structure of the trabeculae of cancellous bone. 1. the calcaneus. *Anat. Anz.* 1985; 159: 211–229.
- 24 Lozupone E, Favia A. The structure of the trabeculae of cancellous bone. 2. long bones and mastoid. *Calcif. Tissue Int.* 1990; 46: 367–372.
- 25 Mezaros T, Vizkelety T. Structure of the subchondral bone plate. XVth. Symposium of the European Society of Osteoarthrology Kuopio, Finland Publications of the University of Kuopio Medicine. 1986.
- 26 Milgram J. Morphologic alterations of the subchondral bone in advanced degenerative arthritis. *Clin. Orthop.* 1983; 173: 293–312.
- 27 Milz S. Funktionelle Morphologie von subchondraler Mineralisierungszone und subartikulärer Spongiosa des Tibiaplateaus. In: Pesch H, Stöß H, Kummer B, eds. *Osteologie aktuell VII*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1993: 537–540.
- 28 Milz S, Putz R. Quantitative morphology of the subchondral plate of the tibial plateau. *J. Anat.* 1994 (in press).
- 29 Oettmeier R, Abendroth K, Oettmeier S. Analyses of the tidemark on human femoral heads II. *Acta Morphol. Hung.* 1989; 37: 169–180.
- 30 Peters R. Die histologische Struktur der Kompakta des Femurschaftes und ihre Beziehung zu Dichte und Festigkeit. Dissertation Köln. 1975.
- 31 Radin E, Rose R. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. *Clin. Orthop.* 1986; 213: 34–40.
- 32 Romeis B. *Mikroskopische Technik*. München; Oldenburg: 16. Auflage. 1968.
- 33 Romeis B. *Mikroskopische Technik*. München; Oldenburg: 17. Auflage. 1980.
- 34 Roth A, Oettmeier R, Abendroth K, Helminen H, Mühlig P, Neumann R. Charakteristische morphologische Veränderungen am Gelenk unter Belastung – physiologische Reaktion oder präarthrotische Deformität? In Pesch H, Stöß H, Kummer B, eds. *Osteologie aktuell VII*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer; 1993: 541–545.
- 35 Schenk R. Zur histologischen Verarbeitung von unentkalkten Knochen. *Acta Anat.* 1965; 60: 3–19.
- 36 Swartz D, Wittenberg R, Shea M, White A, Hayes W. Physical and mechanical properties of calf lumbosacral trabecular bone. *J. Biomech.* 1991; 24: 1059–1068.
- 37 Voss H. Die in bezug auf den Gefäßgehalt «kritische» Dicke des Knochengewebes. *Anat. Anz.* 1954; 101: 106–108.
- 38 Wilsman N, van Sickle D. Cartilage canals, their morphology and distribution. *Anat. Rec.* 1972; 173: 79–94.

## Dank

Wir danken Frau S. Friedel für die technische Mitarbeit und Herrn H. Ruß für die graphische Gestaltung. Die Untersuchung wurde gefördert aus Mitteln der Friedrich-Baur Stiftung.

## Korrespondenzadresse:

Dr. med. S. Milz, Anatomische Anstalt München, Pettenkoferstrasse 11, D-80336 München