

Winkel-sensitive MRT zur nichtinvasiven Analyse belasteter Knorpelstruktur

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktoringenieur (Dr.-Ing.)

vorgelegt der Fakultät für Informatik und Automatisierung
der Technischen Universität Ilmenau

von Nikita Garnov

Tag der Einreichung: 02.12.2009

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 15.06.2010

Gutachter:

apl. Prof. Dr.-Ing. habil. Andreas Keller, TU Ilmenau

Prof. Dr. rer. nat. habil. Wilfried Gründer, Universität Leipzig

Prof. Dipl.-Ing. Dr. med. (habil.) Hartmut Witte, TU Ilmenau

urn:nbn:de:gbv:ilm1-2010000246

*„Das schönste Glück des denkenden
Menschen ist, das Erforschliche
erforscht zu haben und das
Unerforschliche zu verehren.“*

Johann Wolfgang von Goethe

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE	I
KAPITEL 1. MOTIVATION	1
KAPITEL 2. WISSENSCHAFTLICHE PROBLEMANALYSE	3
2.1. GELENKKNORPEL	3
2.1.1. <i>Das Kniegelenk</i>	3
2.1.2. <i>Der artikuläre Knorpel</i>	7
2.1.2.1. Aufbau.....	7
2.1.2.2. Ultrastruktur	11
2.1.2.3. Biomechanische Eigenschaften	16
2.1.2.4. Arthrose.....	18
2.1.2.5. Untersuchungsmethoden der Ultrastruktur.....	21
2.2. MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE	24
2.2.1. <i>Grundlagen der NMR</i>	24
2.2.2. <i>NMR-Bildgebung</i>	29
2.2.3. <i>MRT-Technik</i>	34
KAPITEL 3. AUFGABENSTELLUNG	39
KAPITEL 4. WINKEL-SENSITIVE MRT	41
4.1. BESTIMMUNG DER KOLLAGENFASERORIENTIERUNG	42
4.2. MODELLE KOLLAGENER STRUKTUR	44
4.2.1. <i>Kegel-Modell</i>	44
4.2.2. <i>Büschel-Modell</i>	47
KAPITEL 5. EXPERIMENTELLE METHODEN	51
5.1. PROBENMATERIAL	51
5.2. NATÜRLICHE FASERAUSRICHTUNG	52
5.2.1. <i>Durchführung der Messung</i>	52
5.2.2. <i>Auswertung</i>	54
5.3. DREIDIMENSIONALE ULTRASTRUKTUR	55
5.4. NMR-DRUCKEXPERIMENTE	57
5.4.1. <i>Durchführung der Messung</i>	57
5.4.2. <i>Auswertung</i>	59
5.5. REPRODUZIERBARKEIT DER EXPERIMENTELLEN ERGEBNISSE	65
5.6. POLARISATIONSMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN	66

KAPITEL 6. ERGEBNISSE UND BEWERTUNG	69
6.1. BESTIMMUNG DER NATIVEN FASERAUSRICHTUNG	69
6.2. RÄUMLICHE STRUKTURIERUNG DES KOLLAGENEN NETZWERKS	71
6.3. BELASTUNGSEINFLUSS	77
6.3.1. <i>Analyse der unbelasteten Kollagenstruktur</i>	78
6.3.2. <i>Druckbedingte Transformation der Kollagenstruktur</i>	84
6.3.3. <i>Experimentell ermittelte biomechanische Eigenschaften</i>	90
6.3.4. <i>Druckbedingte Kräuselung der Fasern</i>	95
6.3.5. <i>Korrelation der Transformationsmodelle mit der Intensitätsänderung</i>	103
6.3.6. <i>Intensitätsänderung in der mittleren Region der Proben</i>	106
6.4. GENAUIGKEIT UND REPRODUZIERBARKEIT	111
6.5. WEITERFÜHRENDE THEMEN	114
ZUSAMMENFASSUNG	117
LITERATURVERZEICHNIS	123
DANKSAGUNG	133
THESEN	135

Abkürzungen und Symbole

AFM	Probenbezeichnung: Linkes Knie, Femur, mediale Kondyle
ATL	Probenbezeichnung: Linkes Knie, Tibia, laterale Kondyle
BFM	Probenbezeichnung: Rechtes Knie, Femur, mediale Kondyle
CS	Chondroitinsulfat
DICM	Differential-Interference-Contrast-Mikroskopie
EM	Elektronenmikroskopie
FOV	Field of View
GAG	Glykosaminoglykan
GE	Gradienten-Echo
HA	Hyaluronsäure
HBR	Hauptbelastungsregion
HF	Hochfrequenz
KS	Keratansulfat
μ MRT	hochauflösende (mikro-) Magnetresonanztomographie
MR-	Magnetresonanz-
MRT	Magnetresonanztomographie
MSME	Multi Slice Multi Echo
NEX	Anzahl von Akkumulationen
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PG	Proteoglykane
PIXE	Partikel-induzierte Röntgenemission
PLM	Polarisationsmikroskopie
RARE	Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement
RF	RARE Faktor

ROI	Region of Interest
SAR	Specific Absorption Rate
SE	Spin-Echo
SEM	Scanning Electron Microscopy
SNR	Signal-to-Noise-Ratio
STIM	Transmissionsrasterionenmikroskopie
WS-MRT	Winkel-sensitive MRT
a	Amplitude der Faserkräuselung
B_0	Statisches Magnetfeld
$\vec{B}_1(t)$	magnetisches Wechselfeld
B_{lok}	lokales fluktuierendes Magnetfeld
B^x, B^y, B^z	Magnetisches Gradientenfeld in x -, bzw. y -, z -Richtung
d	Dicke der Knorpelschicht
Da	Dalton (g/mol)
$\vec{e} = \{e_x, e_y, e_z\}$	Einheitsvektor
E	Elastizitätsmodul
E_{HF}	Energie des Hochfrequenzfeldes
E_m	Potentielle Energie
E_σ	Winkel-Modul
G_x, G_y, G_z	magnetische Gradienten in x -, bzw. y -, z -Richtung
h	$h = \hbar \cdot 2\pi$
\hbar	Planksches Wirkungsquantum
I	Intensität
\vec{I}	Kernspin
I_{iso}	Signalintensität für den Fall von absolut isotroper Kollagenfasernorientierung
I_{rad}	Signalintensität für den Fall von ideal radialer Kollagenfasernorientierung

I_{tan}	Signalintensität für den Fall von ideal tangentialer Kollagenfasernorientierung
l	Länge der Kollagenfaser
L	Kurvenlänge der Kollagenfaser
m	Magnetische Quantumszahl
\vec{M}	Gesamtmagnetisierung
M_0	Gesamtmagnetisierung in Richtung des äußeren Magnetfeldes B_0
M_x, M_y, M_z	makroskopische Magnetisierung in x -, bzw. y -, z -Richtung
M_{xy}	Gesamtmagnetisierung in der xy -Ebene
\vec{n}	Normale zu der Knorpeloberfläche (Knorpelnormale)
\vec{n}_L	Lamellennormale
$N(H)$	Protonendichte
N^+, N^-	Besetzungszahlen
p	Druck
\vec{r}	Kernverbindungsvektor
T_1	Spin-Gitter-Relaxationszeit
T_2	Spin-Spin-Relaxationszeit
T_2^*	effektive Spin-Spin-Relaxationszeit
T_C	Sprungtemperatur
TE	Echozeit
TR	Repetitionszeit
V	Einheitsvolumen
x, y, z	kartesische Ortskoordinaten
α_B	Büschel-Öffnungswinkel
α_K	Kegel-Öffnungswinkel
α_l	Auslenkwinkel
β	Winkel zwischen der Knorpelnormale und dem äußeren Magnetfeld B_0

β^{ma}	Winkelcoordinate der Magischer-Winkel-Zone
γ	Gyromagnetisches Verhältnis
φ	Umlaufwinkel
$\vec{\mu}$	magnetisches Moment
ν_0	Larmorfrequenz
θ	Winkel zwischen der Hauptausrichtung der Kollagenfasern und dem äußeren Magnetfeld B_0
θ_{ik}	Winkel zwischen dem Kernverbindungsvektor und dem äußeren Magnetfeld B_0
θ^{ma}	Magischer Winkel
σ	druckbedingte Neigung der Kollagenfasern
σ_0	natürliche Abweichung der Fasernrichtung von der Knorpelnormale
σ_{korr}	druckbedingte Neigung der Kollagenfasern korrigiert mit σ_0
τ_c	Korrelationszeit
ω	Frequenz der Faserkräuselung
ω_0	Larmor(kreis)frequenz $\omega_0 = 2\pi\nu_0$

Kapitel 1. Motivation

Die Arthrose (von altgriech. αρθρον = „Gelenk“, lat. *Arthrosis deformans*) ist eine chronische, in der Regel schmerzhafte Gelenkerkrankung, welche die Menschheit seit Anbeginn stetig begleitet. Diese überwiegend Knie- und Hüftgelenke befallende Krankheit entsteht als Resultat eines Missverhältnisses zwischen Belastung und Tragfähigkeit und führt zur zunehmenden Funktionsbehinderung. Wie eine Studie der Universitätsklinik Heidelberg ergab, sind vor allem ältere Menschen betroffen, unter 30-Jährige hingegen weniger stark (nur etwa 5%). Im Allgemeinen leiden fast 30% der Bevölkerung in Deutschland unter krankhaftem Gelenkverschleiß. Die gesamten Behandlungs- und Folgekosten werden hierzulande auf bis zu 5,4 Mrd. Euro/Jahr geschätzt [Schneider 2005].

Von dem Gelenkverschleiß ist zunächst der artikulare (von lat. *Articularis* = ein Gelenk betreffend) Knorpel betroffen. Dieses Gewebe mit komplexer Aufbaustruktur und speziellen biomechanischen Eigenschaften dient als elastischer Stoßdämpfer bei hoher äußerer mechanischer Belastung. Im Gelenk ermöglicht artikularer Knorpel zusammen mit Synovialflüssigkeit ein reibungsarmes Gleiten der Gelenkflächen aufeinander. Es handelt sich bei Arthrose um einen degenerativen Prozess im Knorpel, welcher bereits auf biochemischem Niveau auftritt und in fortgeschrittenen Stadien zur teils vollständigen Abreibung der Knorpelschicht führen kann.

Die mangelnde Fähigkeit des Knorpels zur Regeneration macht die kausale Behandlung von Arthrose praktisch unmöglich. Es ist lediglich bekannt, dass nur beim akuten Handeln in sehr frühen Stadien noch eine Möglichkeit zur Regeneration des Knorpelgewebes besteht, denn selbst eine normale Gelenkbelastung im Laufe der Krankheit führt zur Beschleunigung von degenerativen Prozessen [Hesse 1990]. Allerdings wird die Prävention auch durch die Tatsache erschwert, dass bis zum Auftreten schwerer Komplikationen (z.B. Entzündungen oder Schwellungen), die Krankheit relativ unbemerkt verläuft. Zu dieser Zeit sind die betroffene Gelenke in der Regel bereits irreversibel erkrankt und lassen sich nur durch Versteifung oder Gelenkersatz behandeln, was sehr hohe Operations- und Materialkosten verursacht, und darüber hinaus nicht in jedem Fall einen komplikationslosen Verlauf garantiert.

Wegen des Ausmaßes der Arthroseverbreitung und dem damit verbundenen Behandlungsaufwand ist es trotz intensiver Beschäftigung vieler Wissenschaftler in diesem Bereich erforderlich, weiterhin die Krankheitsursache zu erforschen, bereits vorhandenen Präventions- und Therapiemaßnahmen zu verbessern sowie neue, wirkungsvolle Methoden zu entwickeln. Obwohl in jüngster Zeit große Fortschritte in den bildgebenden Techniken gemacht wurden, bleibt frühe nichtinvasive Diagnostik von arthrotischen Veränderungen im Knorpel ein ungelöstes Problem. Aus diesem

Grund ist es unerlässlich, Früherkennungsmethoden zu entwickeln und so einen großen Beitrag zur Bekämpfung dieser Zivilisationskrankheit zu leisten.

Kapitel 2. Wissenschaftliche Problemanalyse

Die Entwicklung einer optimalen nichtinvasiven diagnostischen Methode zur Früherkennung degenerativer Veränderungen im Gelenkknorpel stellt eine große Herausforderung auf einem Grenzgebiet zwischen Physik, Technik und Medizin dar. Auf Grund der komplizierten Ultrastruktur des Knorpels bei gleichzeitig einem relativ kleinen Volumen müssen bildgebende Verfahren mit einem sehr hohen Auflösungsvermögen angewandt werden, welche erste morphologische Abnormalitäten aufspüren können. Die klinische Anwendbarkeit der Methode erfordert jedoch Einsatz einer nichtinvasiven Modalität, einer solchen wie die zurzeit gängigsten Verfahren in der bildgebenden Diagnostik: Computertomografie, Ultraschall oder Magnetresonanztomografie.

In diesem Abschnitt werden die anatomischen, physiologischen und funktionellen Grundlagen des gesunden und arthrotischen Knorpels beschrieben, welche einerseits die Komplexität der Ultrastruktur und Funktionalität dieses Gewebes zeigen, andererseits jedoch die Einsatzpunkte für die Ausarbeitung der diagnostischen Methode zur Früherkennung arthrotischer Änderungen zu finden helfen können.

Darüber hinaus wird der gegenwärtige Stand der Wissenschaft in Bereichen Aufbau, Biomechanik sowie Untersuchungsmethoden des Knorpels geschildert um die aktuellen Fortschritte aber auch die bestehende Probleme auf diesem Gebiet zu verdeutlichen und daraus eine Aufgabenstellung für die vorliegende Arbeit zu definieren.

2.1. Gelenkknorpel

2.1.1. Das Kniegelenk

Das Kniegelenk eines Menschen ist das Verbindungsgelenk zwischen Ober- und Unterschenkel. Es besteht, vereinfacht betrachtet, aus dem unteren Ende des Oberschenkelknochens, dem oberen Ende des Schienbeins und der Kniescheibe (Abb. 2.1). Das Kniegelenk ermöglicht die Beugung und Streckung um bis zu 150° auf Grund einer Kombination von Rollen und Gleiten. Darüber hinaus ist im gebeugten Zustand eine mediale Rotation um ca. 10° und eine laterale Rotation um 30° – 40° möglich.

Das Kniegelenk unterteilt man in das Kniescheiben- und Kniekehlgelenk.

Das **Kniescheibengelenk** (Femoropatellargelenk) ist der Gelenkkontakt zwischen Oberschenkelknochen und Kniescheibe. Die Kniescheibe ist ihrerseits an der

Oberschenkel- und Kniescheibensehne befestigt. Diese Gelenkform bezeichnet man auch als Schlittengelenk, da die Patella bei der Gelenkbewegung in ihrem femoralen Gleitlager 5-7 cm in proximale bzw. distale Richtung von angreifenden Muskeln und Bänder geführt wird [Hehne 1983]. Zu den Aufgaben der Patella gehören die Verlängerung des Hebelarms, und somit des Drehmoments der Kniescheibensehne, da sie den Abstand der Kraftwirkungslinie des Quadriceps vom Bewegungszentrum des Kniegelenks erhöht, und die Verringerung des Widerstandes beim Gleiten der Sehne über den Knochen.

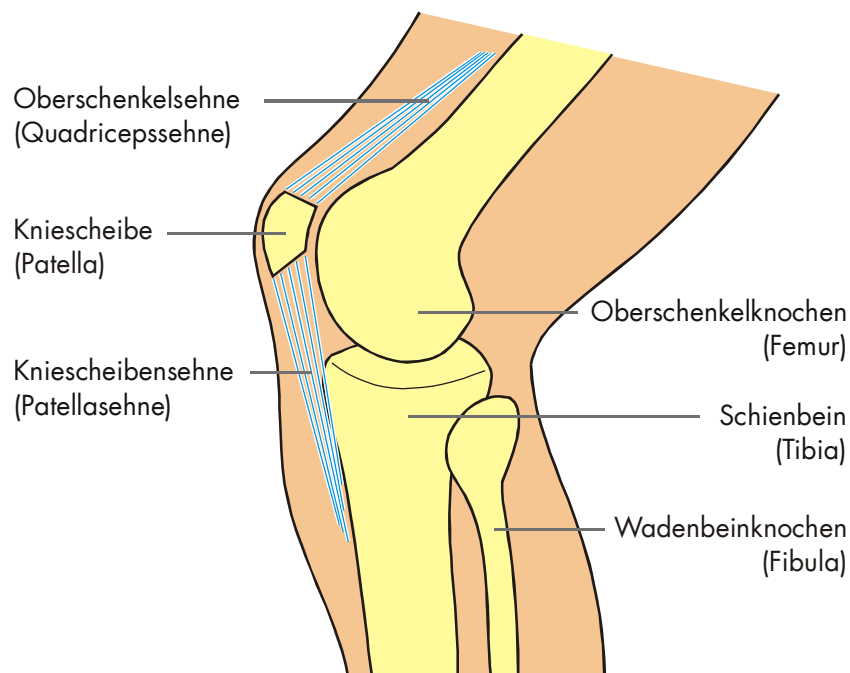


Abb. 2.1. Schematische Abbildung eines menschlichen Kniegelenkes

Beim Beugen des Knies entsteht Druck zwischen der Gelenkfläche der Kniescheibe und der Knorpeloberfläche des Oberschenkelknochens (Abb. 2.2a). Huberti und Hayes (1984) geben die Werte zwischen 1,7 und 6,5 MPa an. Andere Autoren [Hille 1985] berichteten über Druckwerte von 5 MPa bei einer simulierten Zugspannung der Oberschenkelsehne von 1000 N und einer Beugung des Kniegelenkes um 60°. In einem ähnlichen Versuch mit einer Belastung von 2500 N wurden die Druckwerte bis 3 MPa und deren relative Unabhängigkeit vom Beugewinkel ermittelt. Die verwendeten Zuglasten und die daraus folgenden Druckwerte sind auch unter physiologischen Bedingungen zu erwarten [Hehne 1990]. Auf der Abbildung 2.2b sind die Kontaktbereiche zwischen Femur und Patella beim Beugen des Knies dargestellt [Hinterwimmer 2005].

Das **Kniekehlgelenk** (Femorotibialgelenk) ist ein Drehscharniergelenk, welches für Beugung, Streckung und Rotation zuständig ist. Dabei bilden zwei walzenförmige

Femurkondylen und zwei sattelförmige Gelenkflächen der Tibiakondylen (Tibiaplateau) die Kontaktfläche des Gelenkes. Die artikulierenden Flächen des menschlichen Kniegelenkes sind mit einer 1–2 mm dicken Knorpelschicht überzogen, und die zwischen beiden Kontaktflächen bestehende Inkongruenz wird durch gleiche halbmondförmige Faserknorpelscheiben – Menisken – ausgeglichen.

Beim Stand auf einem gestreckten Bein wird das Femorotibialgelenk praktisch durch das ganze Körpergewicht (mit Abzug des Gewichts von Unterschenkel und Fuß) belastet. Die auf einer Kontaktfläche von ca. 11,5 cm² (inkl. Meniskus) wirkende tibiofemorale Kompressionskraft von 1000 N erzeugt Druckwerte von bis zu 3 MPa [Fukubayashi 1980].

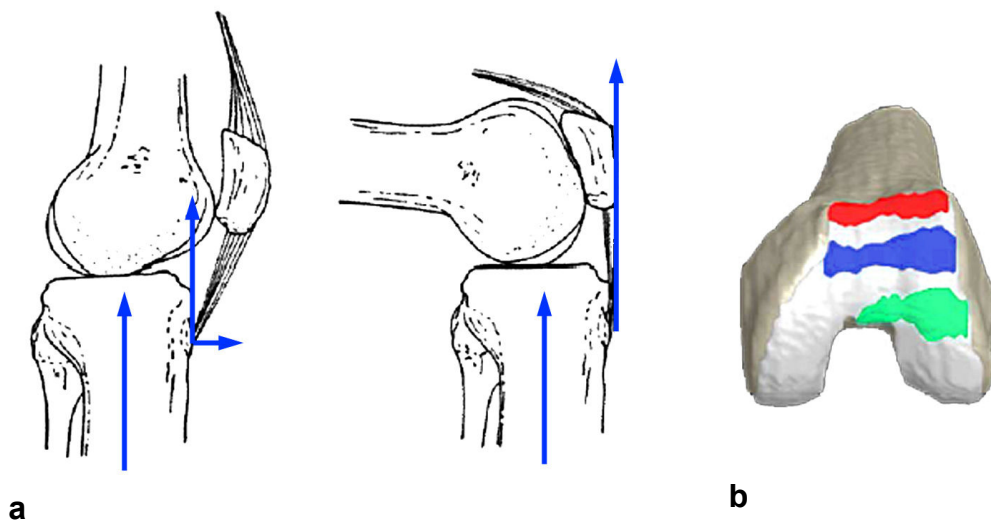


Abb. 2.2. **a:** Darstellung des Druckerzeugnismechanismus' bei Beugung des Kniegelenks um 90°. Mit blauen Pfeilen sind die Zugrichtungen der Kniebander gekennzeichnet [Bradley 1987]. **B:** Kontaktstellen des Femoropatellargelenkes ermittelt bei der Flexion um 0° (rot), 30° (blau) und 90° (grün) auf dem Femurknorpel [Hinterwimmer 2005].

Folgende bildgebende Untersuchungstechniken werden für das Knie in der orthopädischen Praxis zurzeit am häufigsten angewandt:

- Arthroskopie
- Sonographie
- Röntgen und Szintigraphie
- Magnetresonanztomographie.

Arthroskopie (auch als Kniegelenkspiegelung bezeichnet) ist eine (minimal-)invasive Untersuchungsmethode, bei der ein Endoskop ins Gelenk eingeführt wird. Dieses Verfahren ermöglicht eine visuelle Darstellung der Knorpeloberfläche sowie ein Abtasten des Gewebes, um dessen elastische Eigenschaften zum Nachweis krankhafter Wassereinlagerungen zu prüfen. Vorteilhaft ist, dass die arthroskopische Untersuchung

wegen niedriger Gerätebeschaffungskosten relativ preiswert ist und sich auch für therapeutische Einsätze eignet. Der große Nachteil dieser Methode liegt jedoch in der Notwendigkeit des invasiven Eingriffes.

Sonographie (Ultraschall), die neben der Arthroskopie zu der häufigsten Knieuntersuchungsmethode gehört, wird unter anderem zur Diagnostik der Gelenkkapsel, des Meniskus sowie des Knorpels angewandt. Die Sonographie bietet sich besonders zur Feststellung von Knorpelschichtverdünnung und zur Visualisierung von Ergüssen, Verkalkungen sowie Sehnenrissen an. Zu detaillierter Knorpeluntersuchung wird dieses Verfahren jedoch weniger herangezogen.

Röntgen eignet sich ausgezeichnet zur Visualisierung von Knochen im Gelenk (Abb. 2.3a). Die Abbildung von weichen Geweben, u.a. Knorpel, ist jedoch auf Grund der niedrigen Schwächekoeffizienten nicht möglich. Lediglich durch den Abstand zwischen den Knochen können die Knorpelschichtdicken indirekt ermittelt werden. Eine Röntgenreizbestrahlung kann auch zu therapeutischen Zwecken als Schmerzlinderungsmittel angewendet werden. Eine weitere ähnliche bildgebende Methode ist Szintigraphie, bei der eine schwach radioaktiv markierte Substanz injiziert wird und in einer Gamma-Kamera ein Bild errechnet wird, welches die Verteilung des Stoffes im Körper darstellt. Da diese Substanz besonders an Stellen mit erhöhtem Stoffwechsel angelagert wird, lassen sich aus dem Szintigramm akute entzündliche Bereiche lokalisieren, z.B. bei infizierter Endoprothese in einem Knie.

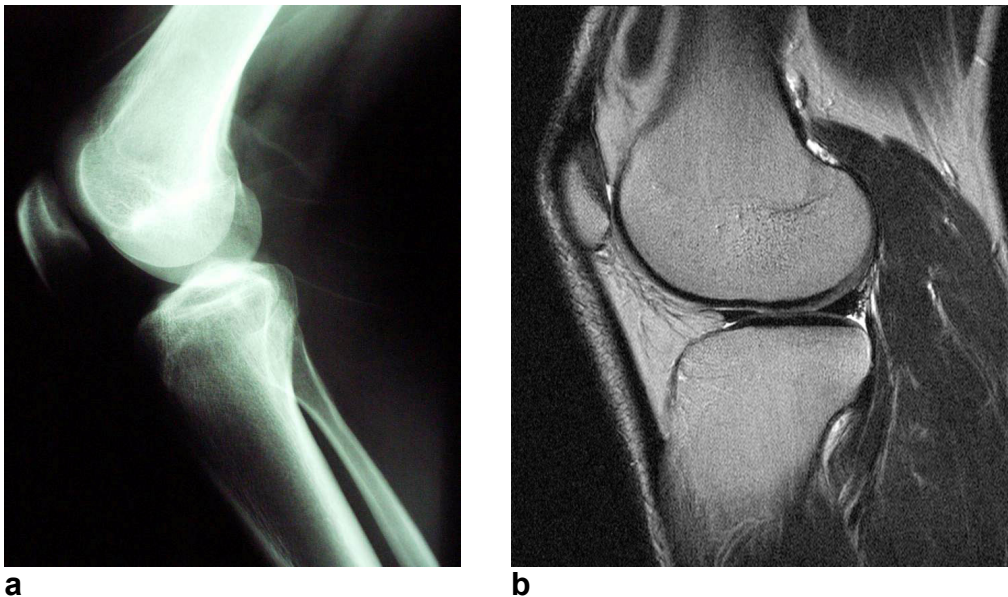


Abb. 2.3. Darstellung eines Kniegelenks in bildgebenden Techniken: **a:** Röntgenaufnahme. **b:** MRT-Aufnahme.

Magnetresonanztomographie ist ein bildgebendes Verfahren in der medizinischen Diagnostik, das nicht nur Knochen, sondern auch weiches Gewebe mit guter Auflösung

und hervorragendem Kontrast abbilden kann (Abb. 2.3b). Darüber hinaus ist diese Technik strahlungsfrei und grundsätzlich für alle Patienten geeignet (Ausnahmen bilden unter Umständen Herzschrittmacherträger und Personen mit metallischen Implantaten und anderen ferromagnetischen Gegenständen). Wegen hoher Beschaffungs- und Erhaltungskosten zählt die MRT-Untersuchung allerdings zu einer der teuersten medizinischen Leistungen.

2.1.2. Der artikuläre Knorpel

Knorpel ist ein festes druck- und biegungselastisches Binde- und Stützgewebe. Er besteht aus Zellen (Chondrozyten) und Extrazellulärschubstanz. Knorpelgewebe ist zellen-, gefäß- und nervenarm, wobei speziell im artikulären Knorpel eines Erwachsenen überhaupt keine Nerven und Gefäße vorhanden sind. Deswegen muss das Gewebe durch Diffusion aus Synovialflüssigkeit ernährt werden [Hagen 1995]. Dieser Prozess wird durch mechanische Einwirkung beeinflusst: dynamische Belastung erhöht den Diffusionsfluss, statische führt in Gegensatz dazu zur Reduzierung des Stoffsaustauschs [Eckstein 1998].

Knorpelgewebe wird nach der Zusammensetzung der extrazellulären Matrix unterteilt in:

- hyalinen Knorpel (Gelenke, Rippen, Atemtrakt, Nase, Epiphysenfugen und flachen Schädelknochen)
- elastischen Knorpel (Ohrmuschel, äußerer Gehörgang, Kehldeckel, Stimmbänder)
- Faserknorpel (Bandscheiben, Menisken, Schambeinfuge).

Da der Gelenkknorpel zu dem hyalinen Knorpel gehört, werden im Folgenden Struktur und Eigenschaften dieser Gewebeart diskutiert.

Der hyaline Knorpel setzt sich zu 10% aus Chondrozyten und zu 90% aus von ihnen produzierter extrazellulärer Matrix zusammen. Der Flüssigkeitsgehalt beträgt 65-75%, und die organische Partie besteht aus Kollagen (60%), Proteoglykane (35%) sowie Lipiden und DNA [Buckwalter 1990].

2.1.2.1. AUFBAU

Chondrozyten (Knorpelzellen) sind für die Produktion der Hauptbestandteile (Prokollagen und Proteoglykan) der extrazellulären Knorpelmatrix verantwortlich. Ein wichtiges Merkmal des reifen Knorpelgewebes ist seine mangelnde Fähigkeit zur Regeneration. Das liegt daran, dass nur juvenile Chondrozyten in der Lage sind sich zu teilen. Adulte Knorpelzellen verlieren ihre Fähigkeit zur Reproduktion.

Kollagene sind charakteristisch bei Mensch und Tier vorkommende Faserproteine, welche über 30% des Gesamtgewichts aller Proteine ausmacht und damit das verbreitetste Eiweiß im menschlichen Körper ist. Die Kollagenfasern sind für die Zugfestigkeit des Knorpels verantwortlich (s. Kap. 2.1.2.3). Alle Kollagene haben ein charakteristisches Merkmal: Sie sind aus drei Polypeptidketten (sogenannte α -Ketten, mit einer Länge von jeweils etwa 600-3000 Aminosäuren) aufgebaut und in Form einer

Tripelhelix umeinander gewunden. Somit ergeben sich seilartige 300 nm lange und 1,5 nm dicken Kollagenmoleküle.

Bis heute sind 28 verschiedene Kollagentypen bekannt, die sich durch die Kollagen- α -Ketten unterscheiden. Sie werden in mehrere Gruppen unterteilt:

- Fibrilläre Kollagene – Typen I, II, III, V und XI
- Netzbildende Kollagene – Typen IV, VIII und X
- Fibrillenassoziierte Kollagene (FACIT) – Typen IX, XII, XIV, XXII
- Perlenschnurartige Kollagene – Typ VI
- Verankerungsfibrillen – Typ VII
- Kollagene mit Transmembrandomänen – Typen XIII, XVII, XXIII und XXV.

Die kollagene Struktur des artikulären Knorpels besteht überwiegend aus dem fibrillären Kollagentyp II (ca. 95%) und zum kleineren Teil aus Kollagentypen IV, V, VI, IX, X, XI. Kollagenfibrillen werden hauptsächlich aus den Typen II, IX und XI gebildet. Das Molekül des Kollagentyps II ist aus drei identischen $\alpha 1$ -Ketten aufgebaut, die mit der Nomenklatur $[\alpha 1(\text{II})_3]$ bezeichnet werden. Die Primärstruktur dieser α -Ketten besteht aus den Aminosäuren Glycin, Prolin, Hydroxyprolin und Hydroxylysin.

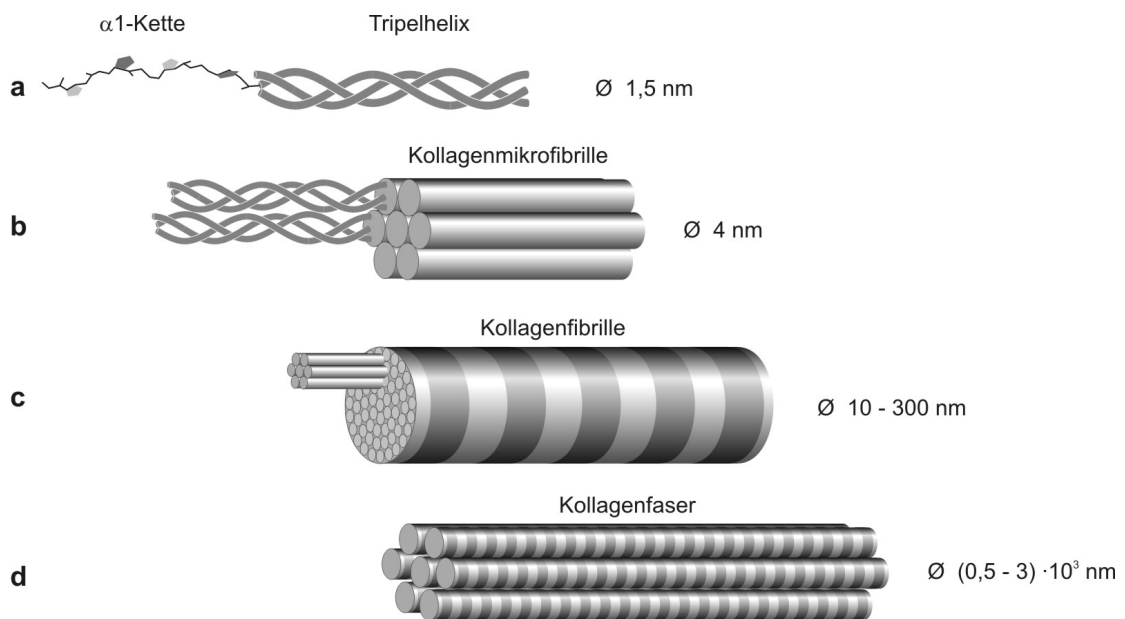


Abb. 2.4. Aufbau der Kollagenfasern.

Wie bereits erwähnt, sind die einzelnen Ketten umeinander gewunden und bilden sogenannte Tripelhelix, auch als Super-Helix bezeichnet, stabilisiert durch Wasserstoffbrückenbindungen sowie van-der-Waals-Kräfte¹ zwischen den Aminosäuren der Einzelketten (Abb. 2.4a). Durch Errichtung kovalenter

¹ Relativ schwache nicht-kovalente Wechselwirkungen, die zwischen unpolaren (ungeladenen) Atomen oder Moleküle auftreten und zu einer leichten Anziehung zwischen den Teilchen führen. Die Wechselwirkungsenergie der van-der-Waals-Kräfte fällt mit etwa der sechsten Potenz des Abstandes ab.

Quervernetzungen (Aldolbrücken) verbinden sich diese Moleküle zu den größeren Kollagenmikrofibrillen mit dem Durchmesser von ca. 4 nm (Abb. 2.4b), die wiederum bei Zusammensetzung eine 10 bis 300 nm starke Kollagenfibrillen bilden (Abb. 2.4c). Eine weitere Zusammenlegung von mehreren Kollagenfibrillen zu Kollagenfasern ist durch Vernetzung der einzelnen Fasern möglich (Abb. 2.4d).

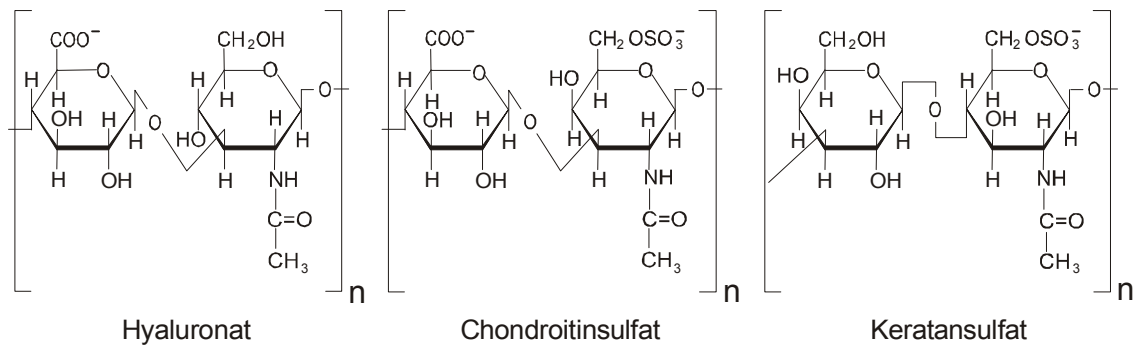


Abb. 2.5. Strukturformel der Disaccharideinheiten der GAG des Knorpels.

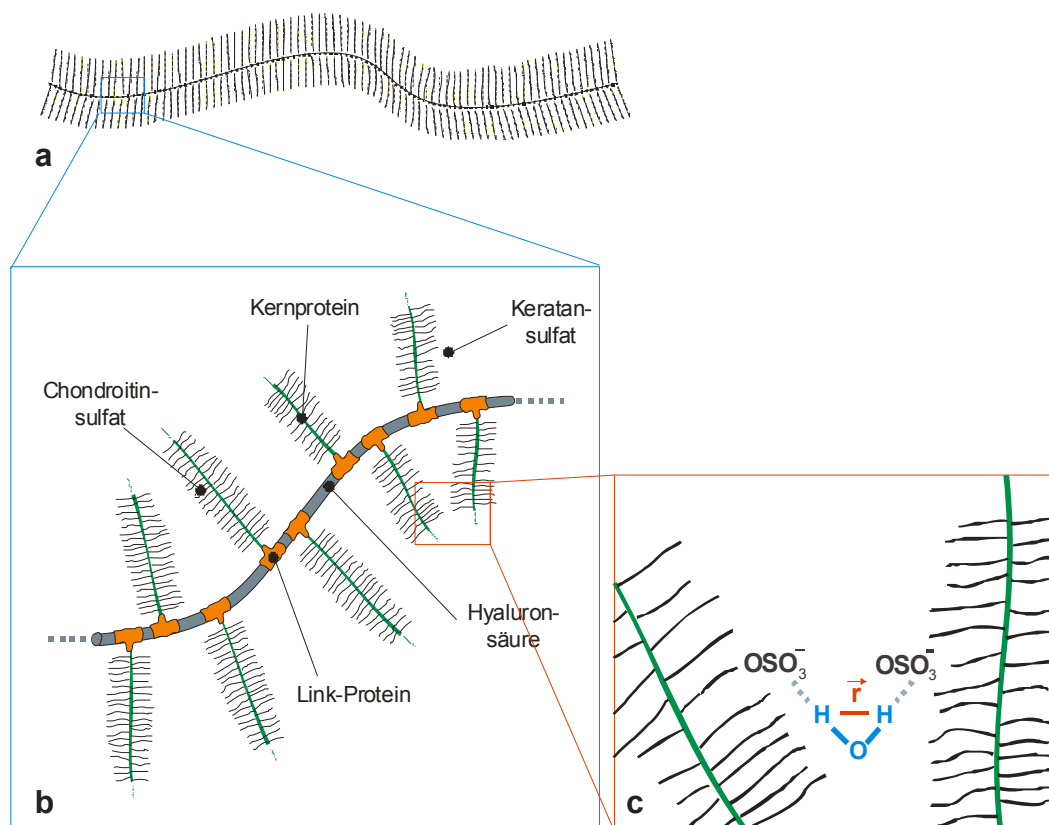


Abb. 2.6. a, b: Schematische Darstellung eines PG-Aggregats; **c:** Erklärung des Wasserbindungsmechanismus.

Proteoglykane (PG) sind ein weiterer wichtiger Anteil der extrazellulären Knorpelmatrix, die aufgrund ihres starken Quellungsvermögens für die viskoelastischen Eigenschaften des Knorpels verantwortlich sind (s. Kap. 2.1.2.3). PG bestehen zu etwa 95% aus Polysacchariden – Glykosaminoglykanen (GAG) – und zu etwa 5% aus Proteinen. GAG bestehen aus langen alternierenden Disaccharideinheiten, die entweder D-Glycosamin oder D-Galaktosamin enthalten [Stryer 1990]. Im artikulären Knorpel sind die Glykosaminoglykane Hyaluronsäure (HA), Chondroitinsulfat (CS) und Keratansulfat (KS) vorhanden (Abb. 2.5).

Die GAG werden im Knorpel in stabile Proteoglykan-Aggregate zusammengebunden (Abb. 2.6). An einem langen Strang Hyaluronsäure werden mittels einer nichtkovalenten Bindung (ein Link-Protein) langgestreckte Proteinmoleküle (Kernprotein) befestigt (Abb. 2.6b). Diese binden ihrerseits eine Reihe von ca. 50 Keratansulfatketten um sich, gefolgt von 50 Oligosacchariden und anschließend 100 Chondroitinsulfaten [Caplan 1984]. Wegen der spezifischen „Tausendfüßlerform“ sind diese riesigen Aggregate mit einer Molarmasse von mehr als 100 Millionen Da bei elektronenmikroskopischen Aufnahmen gut erkennbar (Abb. 2.6a).

Aufgrund der bei allen Zuckermolekülen vorhandenen Carboxylat- ($-\text{COO}^-$) und Sulfatgruppen ($-\text{OSO}_3^-$) stellt ein Proteoglykan ein System aus sehr vielen geordneten Negativladungen dar, was ihm eine hohe Wasserbindungsfähigkeit verleiht (Abb. 2.6c).

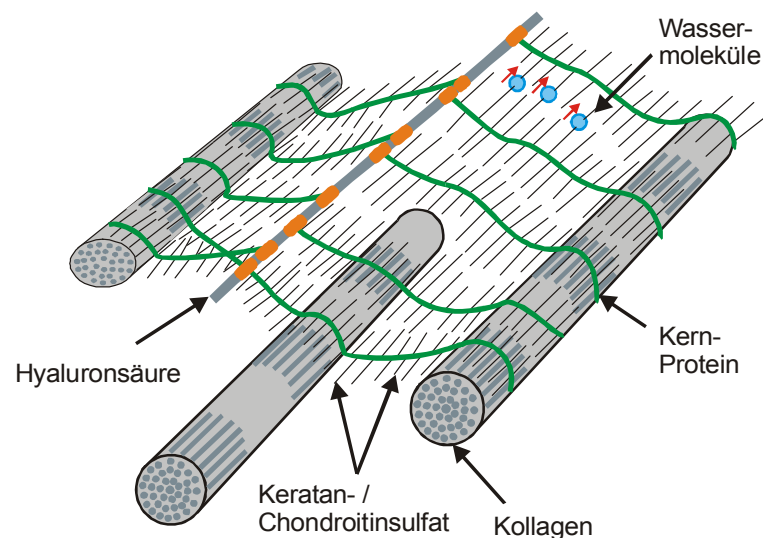


Abb. 2.7. Schematische Darstellung der Kollagen- und Proteoglykan-Organisationsstruktur des Gelenkknorpels [Gründer 1998(2)]. Mit den roten Pfeilen ist die Richtung der Kernverbindungsvektoren der Protonendipole gekennzeichnet.

Ein Teil der Proteoglykan-Aggregate bildet mit Kollagen eine strukturelle Einheit (Abb. 2.7). Diese Verbindung erfolgt vermutlich durch Kollagentyp IX und Matrilin [Cremer 1998]. In dieser Anordnung verlaufen die Kollagenfasern parallel zu den Hyaluronsäureketten der PG-Aggregate. Da die Wassermoleküle zwischen den negativ

geladenen Disacchariden-Reste gebunden sind und als kleine elektrische Dipole dargestellt werden können, liegen die Kernverbindungsvektoren \vec{r} (Abb. 2.6c) der einzelnen Moleküle parallel zum Verlauf der Kollagenfasern (Abb. 2.7). Die Ausrichtung der Wassermoleküle dient damit als Indikator für die Orientierung der kollagenen Fasern (s. Kap. 4).

2.1.2.2. ULTRASTRUKTUR

Die Funktion des hyalinen artikulären Knorpels als elastischer „Stoßdämpfer“ erfordert eine geordnete Organisation der Kollagenfasern. Dabei ergeben sich je nach biologischem Alter des Organismus große Unterschiede in der Struktur des Gelenkknorpels [Reibetanz 2002(2), Gründer 2006] sowohl regional (Ort innerhalb der Gelenkfläche [Clark 1990, Clark 1991, Gründer 2000, Goodwin 2004, Nürnberger 2006]) als auch zonal (zwischen Knorpeloberfläche und Knochen).

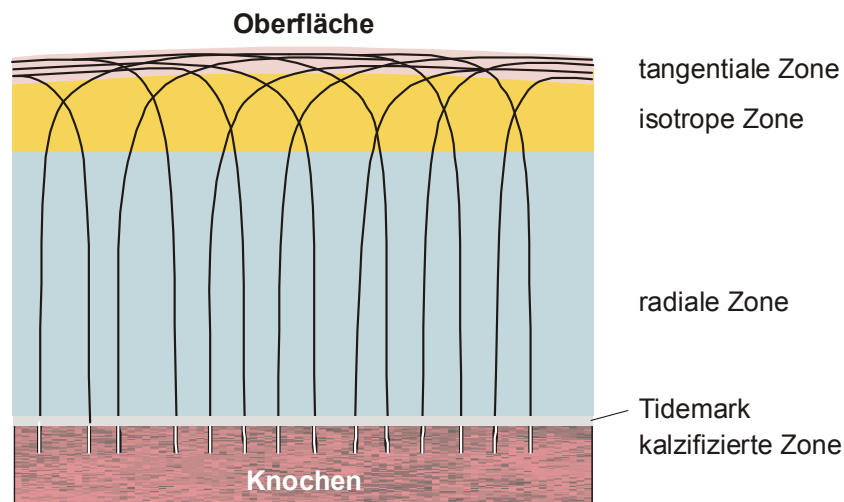


Abb. 2.8. Schematische Darstellung der Kollagenstruktur des artikulären Knorpels (Arkadenmodell).

Zonaler Aufbau

Nach dem Arkaden-Modell von Benninghoff [Benninghoff 1925] verlaufen die Kollagenfasern vom knochennahen Bereich aus senkrecht zur Knorpeloberfläche, neigen sich in der Übergangsschicht und gehen in der Knorpeloberfläche in eine tangentiale Anordnung über (Abb. 2.8). Demnach werden für den adulten Gelenkknorpel folgende *Zonen* definiert, die sich nach Orientierung und dicke der Fasern, Zellenaktivität, sowie PG-Gehalt unterscheiden [Buckwalter 1983]:

- **Tangentiale Zone:** Die sehr dünne (2-5% der Knorpeldicke) und zellarme oberflächliche Knorpelzone ist durch einen parallelen zur Oberfläche (tangentialen) Kollagenfaserverlauf, welcher durch ein dichtes Netzwerk von

dünnen Kollagenfasern vertreten ist, und einen sehr geringen Gehalt starker mit Kollagen gebundener Proteoglykanen charakterisiert. Dieser Aufbau entspricht den Hauptfunktionen der tangentialen Zone, welche zum Einen im Schutz vor hohen äußeren mechanischen Scher- und Abriebkräften und zum Anderen in der Verteilung der Belastung auf die Oberfläche besteht.

- Isotrope Zone: Die Übergangszone beträgt 5-20% der Knorpeldicke und ist durch einen vorwiegend ungeordneten (isotropen) Verlauf der Kollagenfasern gekennzeichnet. In der isotropen Zone ist eine größere Zellmenge als in der tangentialen Schicht vorhanden, was auf eine höhere Faserbildungsaktivität hinweist. Es zeigen sich keine großen Unterschiede im PG-Gehalt zu dem in der tangentialen Zone, allein die Proteoglykane sind weniger an das Kollagen gebunden.
- Radiale Zone: Die sehr breite (bis 90% der ganzen Knorpeldicke) Zone ist durch senkrecht zur Oberfläche (radial) geordneten dicken Kollagenfasern, einen hohen Anteil von PG-Aggregaten und sehr hohe Zellaktivität charakterisiert.
- Tidemark und kalzifizierte Zone: Tidemark bezeichnet eine membranartige Übergangsgrenze (2-5µm breit) zum Kalkknorpel, die eine Diffusionsbarriere bildet. Die kalzifizierte Zone zeigt eine mineralisierte Matrix mit fehlender Chondrozyten-Aktivität.
- Darüber hinaus wird auch eine hypertrophe Zone nahe Tidemark definiert, die eine veränderte Zellenfunktion aufweist und vermutlich zur Kalzifizierung der tieferen Zone beiträgt [Aigner 1993].

Im Gegenteil zur Proteoglykandichte nimmt der Wassergehalt von der Oberflächzone zu den tieferen Knorpelzonen hin ab [Stockwell 1967].

Topographischer und altersbedingter Aufbau

Topographische Unterschiede der Kollagenstruktur innerhalb der Gelenke wurden in vielen Arbeiten ausführlich untersucht [Clark 1990, Clark 1991, Gomez 2000, Goodwin 2004]. So weist das kollagene Netzwerk in zentralen Regionen, welche in der Regel Hauptbelastungsregionen sind, eine ausgeprägte Arkadenstruktur mit vertikal ausgerichteten Fasern mit einer überwiegenden radialen Zone und einer relativ dünnen Übergangszone mit scharfer Krümmung der Faser auf (Abb. 2.9). In Richtung der Peripherie des Gelenkes bekommen die Fasern immer breitere Kurven, so dass an den Ränder praktisch keine radiale Struktur mehr zu finden ist.

Das Kollagenetzwerk des Gelenkknorpels entwickelt sich mit dem Wachstum des Organismus. Wie Untersuchungen an Tieren ergeben haben, gibt es erhebliche Unterschiede in der Matrixstruktur zwischen Jung- und Erwachsenenalter. So zeigt der neonatale Knorpel keine geordnete Struktur, während sich im juvenilen Alter ein fünfzonaler Matrixaufbau entwickelt [Gründer 2006]. Es wurde auch die Entwicklungsverzögerung des Femurs in Vergleich zu der Tibia festgestellt (Abb. 2.10).

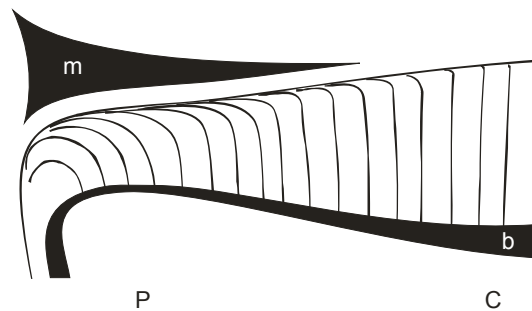


Abb. 2.9. Schematische Darstellung der regionalen Abhängigkeit von Kollagenstruktur am Beispiel von Tibia. C – Mitte, P – Peripherie, b – subchondraler Knochen, m – Meniskus [Clark 1991].

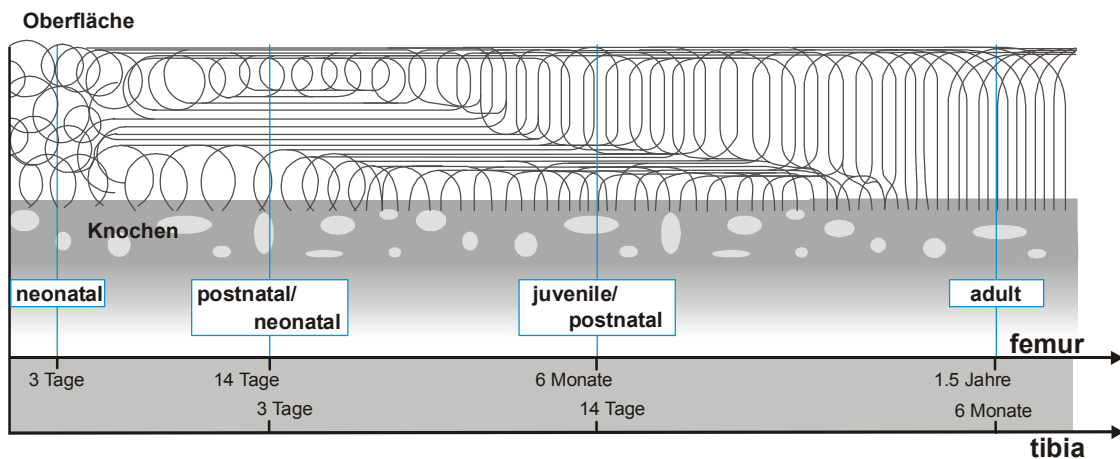


Abb. 2.10. Schematische Darstellung der Kollagenstruktur in ihrer zeitlichen Entwicklung am Beispiel von ovinen (von lat. *Ovinus* = "vom Schaf") Femur- und Tibiagelenken [Reibetanz 2002(2), Gründer 2006].

Räumlicher Aufbau

Mit Hilfe der Scanning Elektronen Mikroskopie (SEM) wurden zwei Varianten des räumlichen Aufbaus chondraler (von griech. *Chondros* = „Knorpel“) Ultrastruktur beobachtet und wie folgt definiert: eine *lamellenartige* (engl. *leaf-like*) [Jeffery 1991, Käab 1998(2), Goodwin 2000] und eine *säulenartige* (engl. *columnar*) [Minns 1977, Clark 1991, Käab 1998(1), Käab 1998(2), Nürnberger 2006]. Beim lamellenartigen räumlichen Aufbau bilden Kollagenfasern quervernetzte „Blätter“, die zwar in Arkadenform angeordnet sind, innerhalb einzelner Lamellen jedoch eine ungeordnete Fibrillenstruktur aufweisen (Abb. 2.11a, 2.12). Die säulenartige Struktur zeigt dagegen eine Arkadenanordnung einzelner Kollagenfasern (Abb. 2.11c).

Die Aufbauform ist unterschiedlich je nach Spezies und Gelenk. Nach Käab et al. [Käab 1998(2)] weist der tibiale menschliche Knorpel, sowie der Knorpel von Hunden

und Schweinen eine lamellenartige Struktur auf. Der Kollagenaufbau des Tibiaknorpels von Kühen, Schafen, Kaninchen und Ratten ist dagegen säulenförmig. Darüber hinaus kann die räumliche Ultrastruktur in unterschiedlichen Gelenken einer Spezies ungleich sein: So liegt beispielsweise beim tibialen Knorpel einer Kuh ein säulenförmiger Aufbau vor, während Metakarpalknorpel (Mittelhandknorpel) lamellenartig erscheint [Jeffery 1991]. In einer Reihe von anderen Arbeiten, die sich mit humanen femoralen Kondylen beschäftigt haben, wird von der Lamellenstruktur dieses Gelenkknorpels berichtet [Clarke 1971, Hunziker 1997].

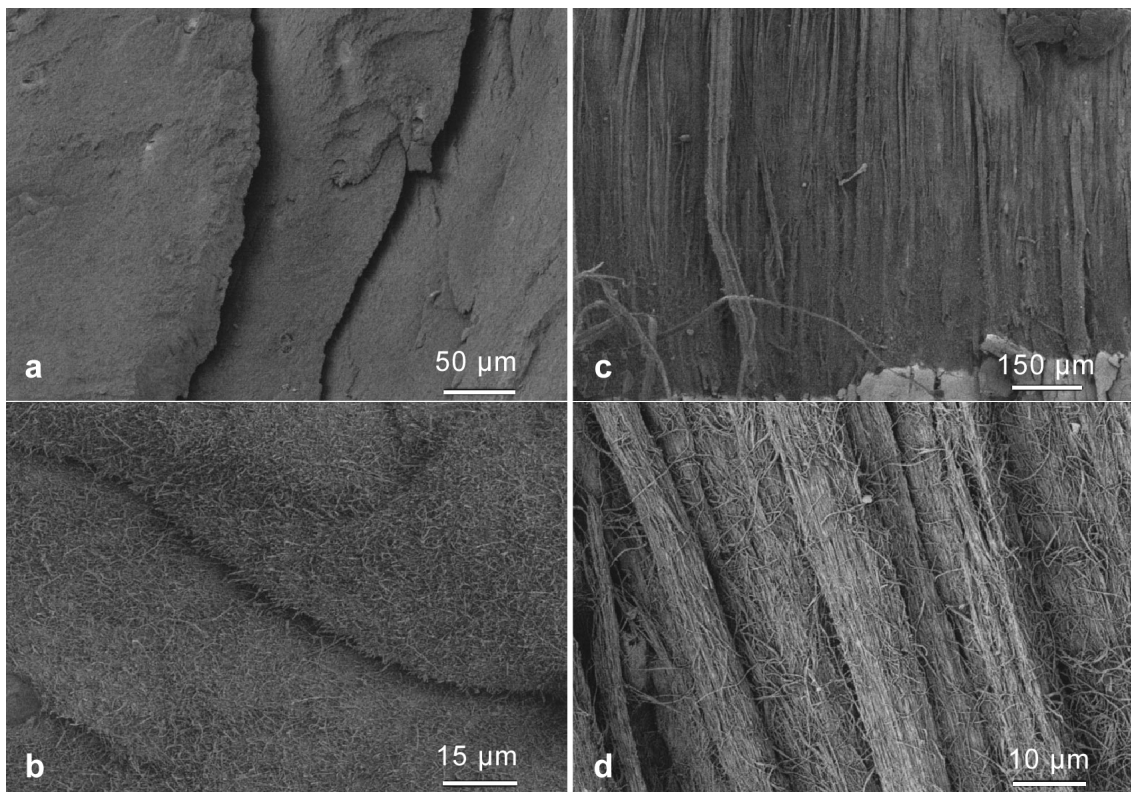


Abb. 2.11. Dreidimensionale Anordnung der Kollagenfasern. **a:** Lamellenartiger Aufbau des humanen tibialen Knorpels; **b:** Bei stärkerer Vergrößerung scheinen die Kollagenfibrillen innerhalb der Lamellen isotrop angeordnet; **c:** Säulenartige Ultrastruktur des tibialen Knorpels einer Kuh; **d:** Auch bei detaillierten Beobachtung ist gut sichtbar, dass Kollagenfasern binnen der Säulen überwiegend radial ausgerichtet sind [Käab 1998(2)].

Die lamellenartige Anordnung der Kollagenfibrillen verursacht eine gewisse richtungsabhängige Anisotropie der mechanischen Eigenschaften des Gewebes (s. Kap. 2.1.2.3). Die Längsachse der „Blätter“-Anordnung lässt sich mit Hilfe der Spaltrichtung-Methode (engl. *split-line*) bestimmen [Hultkrantz 1898]. Dafür wird die Knorpeloberfläche mit einer runden Nadel durchstochen, und die Stichstellen werden

mit einem Farbstoff markiert. Dabei verformen sich die Klüfte zu einem Ovalumriss mit der Längsachse parallel zu den Lamellen [Jeffery 1991] (Abb. 2.12).

Auf Spaltrichtungskarten (engl. *split-line map*) haben Below et al. und Goodwin et al. [Below 2002, Goodwin 2004] die topografische Spannungsverteilungen und damit die örtliche Lamellenausrichtung innerhalb der Knorpeloberfläche von humanen Unterschenkel- (Abb. 2.13a) und Oberschenkelgelenkflächen (Abb. 2.13b) dargestellt.

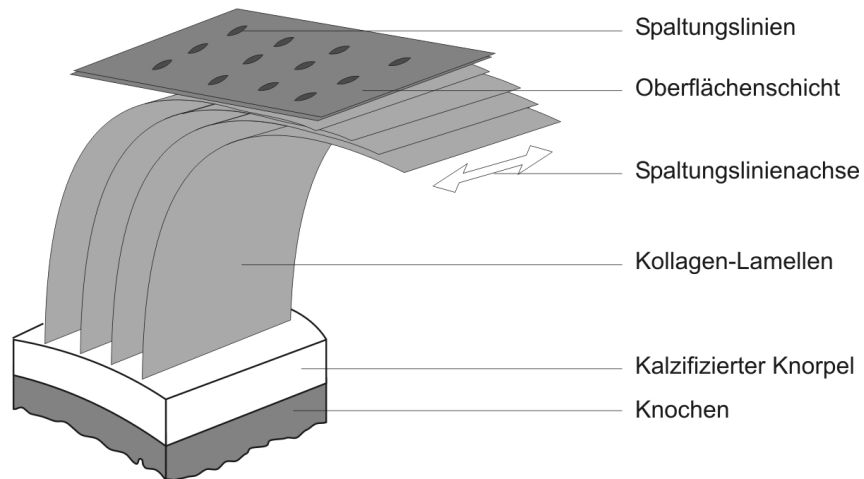


Abb. 2.12. Schematische Darstellung der dreidimensionalen lamellenartigen Struktur des Knorpels [Jeffery 1991].

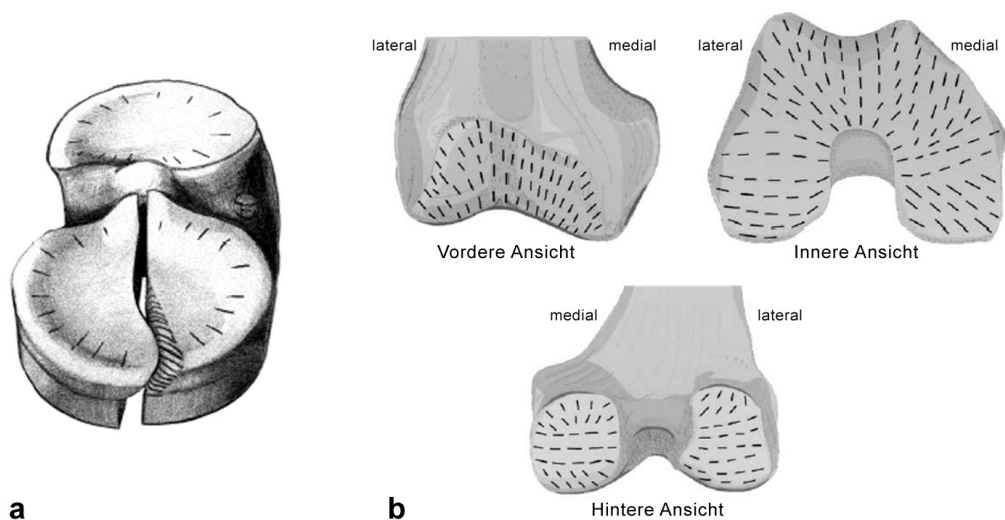


Abb. 2.13. Spaltrichtungskarten von menschlichen Kniegelenkflächen. **a:** Tibia [Goodwin 2004]; **b:** Distale Femur [Below 2002].

Beim genaueren Studieren von Publikationen, die sich mit dem Aufbau kollagener Struktur des Knorpels mit Hilfe der SEM-Untersuchungen beschäftigen, offenbaren sich zahlreiche Unstimmigkeiten in der Feststellung der lamellenartigen bzw. säulenartigen Struktur des menschlichen Knorpels. So bestätigen Minns und Steven sowie Nürnberger et al. Zwar Lamellenaufbau in der tiefen Zone des Knorpels, verweisen jedoch auf eine vertikal geordnete Orientierung der Kollagenfasern innerhalb der Lamellen [Minns 1997, Nürnberger 2006]. Clark stellt eine säulenartige Kollagenstruktur in zentralen Regionen und eine teilweise lamellenartige auf der Peripherie fest [Clark 1990], besteht jedoch auf radial orientiertes Netzwerk in tieferen Zonen des Knorpels [Clark 1991]. Andere Autoren konstatieren dagegen eine absolut ungeordnete Orientierung einzelner Kollagenfasern innerhalb der Lamellen sowohl in der radialen als auch in den tangentialen Zonen des menschlichen [Käab 1998(2), Goodwin 2000] und bovinen (von lat. *Bovinus* = „vom Rind“) [Jeffery 1991] Knorpels. Dabei versuchen Hunziker et al. Von dieser Kompromisslosigkeit abzuraten und schlagen ein Modell vor, in welchem die radiale Zone des humanen Gelenkknorpels sowohl anisotrope arkadenförmig geordnete Fasern als auch isotrope Kollagenfibrillen enthalten [Hunziker 1997].

Offensichtlich besteht bislang keine Klarheit darüber, welche Art des Aufbaus für die Knorpelstruktur humaner Gelenke gelten soll. Zugunsten der *leaf-like* Struktur sprechen die richtungsabhängige Anisotropie der biomechanischen Eigenschaften des Knorpels und die Bildung von lamellenbedingten Spaltrichtungen. Diese Theorie geht jedoch vor allem mit der winkel-sensitiven MRT-Darstellung des Knorpelgewebes auseinander. Aus diesem Grund wird in der vorliegenden Arbeit auf dieses Problem eingegangen und die Konfrontationen experimentell geprüft und diskutiert (s. Kap. 5.3 und Kap. 6.2).

2.1.2.3. BIOMECHANISCHE EIGENSCHAFTEN

Die mechanischen Eigenschaften des artikulären Knorpels sind von der Wechselwirkung seiner Bestandteile – Proteoglykane und Kollagenfasern – als viskoelastisch determiniert, da die Kompression in einem nichtlinearen und zeitabhängigen Verhältnis zu der Belastung steht. Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass Kollagenfibrillen für die elastischen, Proteoglykane hingegen für die viskösen Eigenschaften des Knorpelgewebes verantwortlich sind [Bader 1994, Woo 1987].

Der arkadenförmige Aufbau der Kollagenstruktur bestimmt das Verhalten von Kollagenfasern unter Druck. Es wird vermutet, dass die oberflächliche tangential Zone dabei überwiegend den Scherkräften Widerstand leistet und die tiefe radiale Zone dem Kompressionsdruck entgegen wirkt. Die Übergangszone leitet die Kräfte von der Tangentialzone in die radiale. Darüber hinaus sind transitionale und radiale Zonen zusammen für die Druckverteilung in der Tiefe des Knorpels verantwortlich [Buckwalter 1983].

Offenbar kann sich der Knorpel den Belastungsverhältnissen funktionell anpassen. So ist die Knorpeldicke ungleichmäßig auf der Gelenkoberfläche verteilt, wobei Regionen, die höherer mechanischer Belastung ausgesetzt werden, mit einer dickeren Knorpelschicht überzogen sind [Müller-Gerbl 1987, Eckstein 1992]. Auch die

Zusammensetzung der Hauptbestandteile im artikulären Knorpel ist topografisch unterschiedlich je nach Belastungswerten. Die öfter belasteten Knorpelregionen zeigen einen größeren Anteil an Proteoglykanen, in seltener belasteten Bereichen wird im Gegensatz dazu eine Mehrheit an Kollagenfasern beobachtet [Akizuki 1986].

Auf Grund des komplizierten mechanischen Verhaltens des Knorpels wurde seit Langem versucht, ein geeignetes mathematisches Modell zur Beschreibung des Belastung-Deformation-Verhältnisses durch bestimmte Materialkonstanten herauszufinden. Sehr begrenzt kann auch das Hooksche Gesetz bei der Betrachtung der Spannung σ und daraus folgender Verformung ε zur Angabe des Elastizitätsmoduls (auch Young's modulus) des Knorpelmaterials angewendet werden:

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (2.1)$$

Zur etwas genaueren Beschreibung der biomechanischen Eigenschaften des Gelenkknorpels wird, mit Berücksichtigung der Materialanisotropie, in den letzten Jahren jedoch ein biphasisches Modell angesetzt [Mow 1980]. In diesem Modell betrachtet man das Knorpelmaterial bestehend aus zwei Komponenten: Flüssigkeit und Matrix. Bei Belastung wird zunächst ein hydrostatischer Druck im Knorpel aufgebaut, was auch die Matrix bei hohen Lastspitzen vor Zerstörung schützen soll. Bei dauernder Anspannung wird der hydrostatische Druck langsam abgebaut und die Last auf das Kollagen-Proteoglykan-Gerüst übertragen. In den ersten 10 Minuten hält der interstitielle Druck in der Flüssigkeit über 90% der Belastung stand, nur etwa 10% der Last nimmt die solide Phase auf [Ateshian 1995, Soltz 1998]. Auf molekularem Niveau betrachtet wird beim Druck das gebundene Wasser von Carboxylat- und Sulfatgruppen der GAG verdrängt, die negativen Ladungen kommen sich näher, und entstandene Abstoßungskräfte wirken dem weiteren Zusammendrücken entgegen [Caplan 1984]. Daraus ergibt sich, dass die elastischen Eigenschaften variable Größen sind, die von der Dauer der Lasteinwirkung beträchtlich abhängen. So geben Hayes et al. für den Elastizitätsmodul Werte von 12 MPa bzw. 7,1 MPa, für den Schermodul 41 MPa bzw. 2,6 MPa und für die Poissonsche Zahl 0,42 bzw. 0,37 bei der kurzfristigen bzw. andauernden Belastung an [Hayes 1971].

Wie bereits erwähnt (s. Kap. 2.1.2.2) weist der Knorpel mit lamellenartiger Aufbaustruktur mechanische Anisotropie entsprechend der Spalt-Richtungen. So ergab eine Studie von Kempson et al., dass die Knorpelproben, welche parallel zu den Spalt-Richtungen belastet worden sind, zwei- bis dreifach höhere Festigkeit aufzeigen als die senkrecht zu den split-lines belasteten Proben [Kempson 1968].

In zahlreichen Kompressionsexperimenten wurde aber die druckbedingte Transformation von Kollagenfasern ungenügend erfasst. Das Verhalten vom Kollagen-Gerüst unter der Druckbelastung wurde mit Hilfe von Fraktur-Technik und SEM (s. Kap. 2.1.2.5) [Nötzli 1997, Käab 1998] sowie durch die Anwendung von Polarisations- (PLM) und Differential-Interference-Contrast-Mikroskopie (DICM) [Gründer 2000, Thambyah 2006] untersucht. Abb. 2.14a zeigt, wie Käab et al. das Biegen der gesamten Kollagenfasern im statisch belasteten Knorpel interpretieren. Dabei entsteht eine reguläre sinusförmige Wellenform mit einer Periode von 5–10 μm [Nötzli 1997]. Gründer et al. Haben festgestellt, dass in einer juvenilen Probe die Fasern

entsprechend derer Ausgangsausrichtung gestrafft (tangente Fasern) bzw. gestaucht (radiale Fasern) werden (Abb. 2.14b). Thambyah und Broom visualisieren bei den Indentations-Experimenten mit einer starken lokalen Druckbelastung eine deutliche Beugung gesamter Kollagenfaser (Abb. 2.14c). Nötzli und Clark finden beide Transformationen: großdimensionale Beugung bei gleichzeitiger mikroskopischer wellenartiger Kräuselung der Fasern bei Druckversuchen vor [Nötzli 1997].

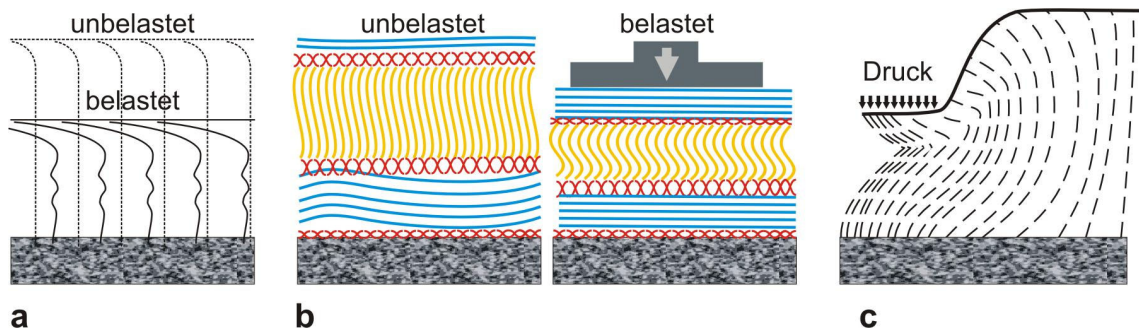


Abb. 2.14. Schematische Darstellung des Einflusses von Druckbelastung auf die kollagene Struktur. **a:** am Beispiel eines adulten Knorpels (Kaninchen) [Kääb 1998]; **b:** am Beispiel eines juvenilen Knorpels (Schwein) [Gründer 2000]; **c:** am Beispiel eines adulten Knorpels (Kuh) [Thambyah 2006].

Diese Ergebnisse haben gezeigt, dass es möglich ist, durch Belastungsexperimente neben den Beobachtungen von Belastung-Deformation-Verhältnissen auch solche feinen Mechanismen wie intrakartilaginären (von lat. *Cartilago* = „knorpelig“) mechanischen Verformungen der Kollagenmatrix darzustellen. Das Streben nach der Entwicklung hochsensitiver nichtinvasiver Untersuchungsmethoden zum artikulären Knorpel wird durch die Tatsache unterstützt, dass ausgerechnet die Magnetresonanz-Bildgebung intensitätsempfindliche Veränderungen der Ultrastruktur unter Einwirkung der äußeren mechanischen Belastung an intakten Gelenken zu detektieren ermöglicht (s. Kap. 4).

2.1.2.4. ARTHROSE

Die Arthrose ist ein degenerativer Prozess, welcher zu langsamer Aufrauung der Gelenkfläche, Fissurierung und Abrieb des Knorpels, bis hin zur Zerstörung des subchondralen Knochens führt. Die Krankheit wird nach Art der auslösenden Umstände in primäre und sekundäre Arthrose unterteilt. Bei primärer Arthrose ist ein Missverhältnis zwischen Belastung und Belastbarkeit des Gelenkknorpels die initiale Ursache. Sekundäre Arthrose hingegen entsteht infolge Entzündungen, Unfällen sowie wegen angeborener Knorpelabnormalitäten.

Die arthrotischen Veränderungen beginnen in den meisten Fällen in der oberflächlichen Mikrostruktur, und im Laufe der Zeit verbreiten sie sich in die Knorpeltiefe [Hesse 1990]. Das ist ein komplizierter Prozess, bei dem viele Kriterien,

wie mechanischer Abrieb, molekulare und funktionelle Reformation und enzymatische Einwirkungen eine Rolle spielen. Der Verlauf der Arthrose wird in der Regel anhand der Auswertung von Veränderungen folgender Charakteristiken des Knorpelgewebes untersucht: Funktion und Vitalität der Zellen, Kollagenstruktur, Proteoglykan- und Wassergehalt, sowie makro- und mikroskopisches Erscheinen des Knorpels.

In der Literatur kann man viele Formen zur Angabe der Arthrosetadien treffen. Vereinfacht werden drei Phasen betrachtet: normaler Knorpel – frühe (milde) Arthrose – fortgeschrittene Arthrose [Lorenz 2006]. Bei genauer Darstellung werden 14 (Mankin's score) oder sogar bis zu 32 (modified Mankin's score) Stufen angegeben [Mankin 1971, Sakakibara 1994]. Hesse (1990) beschreibt vier (I-IV) Stadien der initialen Arthroserieänderungen:

Stadium I wird durch den Verlust der oberflächlichen Auflagerungen und der daraus folgenden Freilegung und den ersten Schädigungen des tangentialen Kollagennetzwerkes gekennzeichnet. Dies führt zur Veränderung der physikochemischen Eigenschaften des Gewebes und zu einer Erhöhung des Wassergehaltes (Aufweichung des Knorpels). Dieser Effekt ist offensichtlich darauf zurückzuführen, dass die Kollagenstrukturfunktion zur Verhinderung der Schwellung des Gewebes stark nachlässt, obwohl ein verminderter Proteoglykangehalt festgestellt wird. (Im gesunden Knorpel wird die Wasseraufnahme durch PG von Kollagenmatrix zurückgehalten, wodurch ein endosmotischer intristischer Quellungsdruck von 0,1–0,2 MPa entsteht [Maroudas 1976]). Das beeinflusst die physikochemischen Eigenschaften, da bei der Belastung die Flüssigkeit schneller abgegeben wird, und nach der Entlastung langsamer aufgenommen wird. Darüber hinaus gewährleisten die vergrößerten Poren das Eindringen von größeren Molekülen, was die Schädigungsanfälligkeit von Matrix und Zellen erhöht. In den tieferen Knorpelzonen in diesem Stadium findet man keine beträchtlichen Veränderungen.

In **Stadium II** werden erste Zerstörungen des oberflächlichen und tangentialen Kollagennetzwerkes sowie Nekrose der hier vorhandenen Chondrozyten festgestellt. Die Korrosion der tangentialen Kollagenfaser führt zu erheblichen Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften (verringertes Widerstand gegen Scherkräfte) des ganzen Kollagengerüsts. Da ab dieser Entwicklungsphase der Arthrose die Matrixsynthese in der oberflächlichen Zone nicht mehr hinreichend funktioniert, ist ein Knorpelabrieb unter physiologischer Belastung unvermeidbar. In den tieferen Zonen dagegen findet man durchaus eine produktive Syntheseleistung der Knorpelzellen, vermutlich als ein Gegenmechanismus zum Matrixverlust an der Oberfläche.

Stadium III zeichnet sich durch fortschreitende Zerstörung der Knorpeloberfläche mit tiefen Fissuren, Umordnungen der Fibrillen und Ablagerungen von Resten der degradierten Matrix und abgestorbenen Chondrozyten aus. In den tieferen Zonen ist eine erste krankhafte Umorientierung des Kollagengerüsts zu finden, allerdings kommen auch Zellenveränderungen, die auf den Ausgleich des Matrixverlustes gerichtet sind, vor. Es ist jedoch fraglich, ob durch die neue Anordnung und erhöhte Aktivität der Chondrozyten der Wiederaufbau der Matrix gewährleistet werden kann. Dadurch wird jedoch der arthrotische Prozess etwas aufgehalten.

Im fortgeschrittenen **Stadium IV** beobachtet man gravierende Veränderungen an der Knorpeloberfläche, gekennzeichnet durch starke Aufrauungen, Zerstörung der fibrillären Kollagenstruktur, Ablagerung von Abfallprodukten sowie das Auftreten von Entzündungszellen, was auf einen enzymatischen Angriff auf Grund der im Laufe der Arthrose entwickelten Synovialitis hindeutet. In der Knorpeltiefe findet man neben syntheseaktiven auch nekrotische Chondrozyten. Die Reduzierung und Zerstörung der intrazellulären Matrix weisen auf irreversible Schäden im Inneren des Knorpels hin.

Die die Arthrose begleitenden Entzündungsprozesse tragen zur Knorpelschädigung weiter bei, denn es werden Enzyme freigesetzt, die nicht nur Kollagensynthese reduzieren sondern auch Kollagenabbau stimulieren [Hesse 1990].

Im weiteren Verlauf der Arthrose kommt es zur Fragmentierung des Knorpels. Es bilden sich tiefen Spalten, wodurch die Eingriffsfläche für Enzyme erheblich erhöht wird. Durch äußere tangential Scherkräfte wird der Knorpel soweit abgerieben, dass der Kalkknorpel freigelegt wird. Als Letztes wird der Knorpel vollständig abgetragen. Dieses Stadium bezeichnet man als „Knochenglatze“.

Aus dem dargestellten Verlauf ist erkennbar, dass es nur in sehr frühen Stadien möglich ist, die Degradation des Knorpels aufzuhalten. Darum besteht ein enormer Bedarf an der Entwicklung diagnostischer Verfahren zur Erfassung der initialen degenerativen Veränderungen im Knorpel.

Gegenwärtig sind nur destruktive diagnostische Methoden (Biochemie, Mikroskopie, Histologie) fähig frühe arthrotische Änderungen festzustellen (Abb. 2.15). Nichtinvasive Verfahren wie Röntgenaufnahmen zeigen erst Knorpelverlust oder Veränderungen des Knochens an (s. Kap. 2.1.). Einen interessanten Untersuchungsbereich stellt die Labordiagnostik dar, bei der sich in Körperflüssigkeiten (Urin, Serum, Synovialflüssigkeit) die von degenerativen Prozessen verursachten Abbauprodukte nachweisen lassen [Mollenhauer 1990, Lorenz 2006]. Jedoch wird den MR-Techniken auf Grund gegebener Möglichkeiten zur nichtinvasiven Erfassung der im Arthroseverlauf sehr früh auftretenden lokalen strukturellen und funktionellen Veränderungen eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Inhomogene Intensitätsverteilung und Veränderungen von Wassergehalt und PG-Konzentration bei ersten degradierenden Erscheinungen im Knorpel können mit Hilfe von speziellen Sequenzen (z.B. T2-gewichtete MRT-Aufnahmen) detektiert werden [Glückert 1990, Vahlensieck 1994, Loeuille 1998, Wheaton 2005].

Viele Arbeiten berichten über die signifikanten Veränderungen von biomechanischen Eigenschaften des hyalinen Knorpels, die durch Zerstörung der oberflächlichen kollagenen Matrix verursacht sind. Vor allem wurde der verringerte Elastizitäts-, Aggregat- und Schermodul sowie die erhöhte Permeabilität (und als Folge des ansteigenden Wassergehalts) im arthrotischen Knorpel festgestellt [Lane 1979, Altman 1984, Arokoski 1994, Guilak 1994, Setton 1994, Sah 1997, Appleyard 1999, Rivers 2000, Kerin 2002, Appleyard 2003, Alexopoulos 2005, Knecht 2006]. Allerdings ist es gegenwärtig unbekannt, inwieweit frühe degenerative Veränderungen in der tangentialen Zone das Verhalten von druckbelasteten Kollagenfasern in der Tiefe des Knorpels beeinträchtigen.

Da bis heute diagnostische Verfahren zur eindeutigen Erfassung von früher Arthrose fehlen, begrenzt sich die Therapie auf symptomatische Behandlung der in der Regel weit fortgeschrittenen Krankheit mit Arzneimitteln gegen Schmerzen und Entzündungen sowie mechanischen Mitteln zur Wiederherstellung der Gelenkbewegung (Endoprothesen). Darüber hinaus wird oft Krankengymnastik verschrieben und es wird empfohlen, belastende Bewegungen zu reduzieren (z.B. Fahrradfahren statt Joggen).

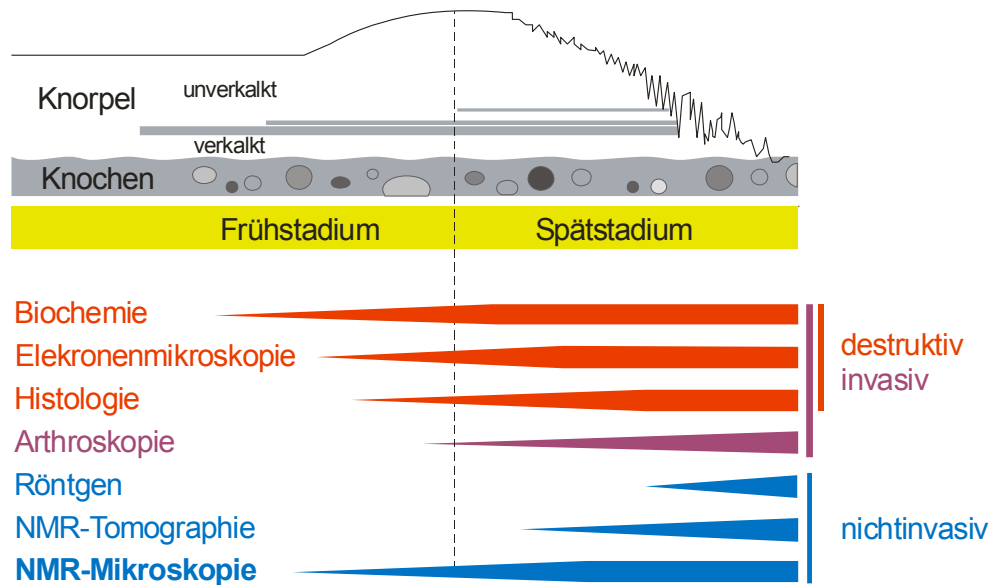


Abb. 2.15. Möglichkeiten zur Früherkennung der Arthrose verschiedener diagnostischer Techniken.

2.1.2.5. UNTERSUCHUNGSMETHODEN DER ULTRASTRUKTUR

Der Gelenkknorpel ist ein bradytrophes Gewebe, d.h. seine Ernährung erfolgt durch Diffusionsprozesse. Aus diesem Grund behält der Knorpel seine biologischen Eigenschaften eine relativ lange Zeit, auch nach dem Tod des Organismus [Maroudas 1979]. Werden die Knorpelproben dem Gelenk entnommen, müssen sie in Flüssigkeit oder bei ausreichender Feuchtigkeit gelagert werden, um Wasserverlust zu vermeiden. Auch Einfrieren und wieder Auftauen vom Knorpel verändert seine Eigenschaften nicht beträchtlich [Samosky 2005].

Die Laboruntersuchungsmethoden des Knorpels werden überwiegend zur visuellen Darstellung des Gewebes und deren Struktur (mikroskopische Verfahren), zur Ermittlung von Inhalt der Matrixbestandteile und deren Verhältnis zueinander, zum Nachweis von bestimmten Komponenten (biochemische Verfahren) sowie zur Erfassung von biomechanischen Eigenschaften (mechanische Verfahren) angewendet.

Zu den mikroskopischen Verfahren zählen unter anderem:

- Lichtmikroskopie mit Färbung

- Elektronenmikroskopie
- Polarisationsmikroskopie
- NMR-Mikroskopie.

Bei histologischer Untersuchung werden die Proben mit einem Mikrotom in mikrometerdünne Schichten geschnitten und unter Anwendung verschiedener Färbungen unter einem Lichtmikroskop visualisiert (Abb. 2.16a). Dieses Verfahren ist besonders zur Darstellung von ausgewählten Matrixkomponenten geeignet. Je nach Art der Färbung lassen sich Kollagene und Proteoglykane getrennt beobachten [Leonardt 1990].

Elektronenmikroskopie (EM) wird überwiegend im Forschungsbereich verwandt. Mit einer Auflösung von bis zu 10^{-10} m lassen sich feine Komponenten des Knorpelgewebes wie Zellen und Organellen, Kollagenfibrillen und Fasern darstellen [Nürnberger 2006] (Abb. 2.16b).

Polarisationsmikroskopische Untersuchungen (PLM) eignen sich gut zur Beobachtung von anisotroper Kollagenstruktur des Knorpels, weil die Kollagenfasern auf Grund deren Tripelhelixstruktur positiv einachsig doppelbrechend sind [Romeis 1989, Leonardt 1990]. Somit können Zonen mit verschiedener Ausrichtung der Kollagenfasern in Komplementärfarben dargestellt werden. Tangentiale und radiale Fasern erscheinen blau und gelb, die isotrope Übergangszone rot (Abb. 2.16c).

Bei NMR-mikroskopischer Bildgebung (Abb. 2.16d) kann eine Auflösung von bis zu $10\mu\text{m}$ erreicht werden. Je nach Auswahl der Messesequenzen und Aufnahmeparametern können unterschiedliche Kontrastbilder gewonnen werden. So kontrastieren beispielweise auf den T_1 - bzw. T_2 -gewichteten Aufnahmen Regionen mit unterschiedlichen T_1 - bzw. T_2 -Zeiten. Bei Ausnutzung der chemischen Verschiebung lassen sich die Bilder mit unterdrücktem Wasser- bzw. Fettanteil aufnehmen. Zur Fertigung mikroskopischer NMR-Aufnahmen des Knorpels bedarf eine Probe weder des Schneidens in dünne Schichten noch der Färbung oder sonstiger Präparation. Zum Vergleich wurden die Proben oft nach den μMRT -Aufnahmen mit einem anderen Verfahren (z.B. PLM [Gründer 2000]) untersucht. Allerdings muss die Probegröße auf die Geometrie eines μMRT -Gerätes angepasst werden. So entspricht der größtmögliche Probendurchmesser des NMR-Spektrometers Bruker DRX300 ca. 30 mm (bei einer Probenhöhe von etwa 50 mm).

Biochemische und immunhistologische Untersuchungen am Knorpel dienen zur chemischen Identifikation von Matrixkomponenten sowie anderer Stoffe mit dem Ziel, das Verhältnis von Gewebebestandteilen (PG, Kollagen, Wasser usw.) in verschiedenen Regionen oder im Verlauf einer Krankheit zu beobachten sowie um eventuell vorhandene pathologisch bedingten Substanzen (Enzymen, Abbauprodukten der Matrix usw.) nachzuweisen.

Zur Durchführung von biomechanischen Untersuchungen am Knorpel werden dem Gelenk in der Regel Proben entnommen. Zu den klassischen Experimenten zählen Zug, Kompression und Scherung. Im einfachsten Fall werden dabei die Verformungen des Gewebes unter eingesetzter Kraft beobachtet und quantitativ bewertet. Als Erweiterung dieses Verfahrens werden auch Belastungsexperimente zur Charakterisierung der

Relaxationsverläufe sowie des komplizierten Verhaltens flüssiger und solider Phasen (s. Kap. 2.1.2.3) durchgeführt.

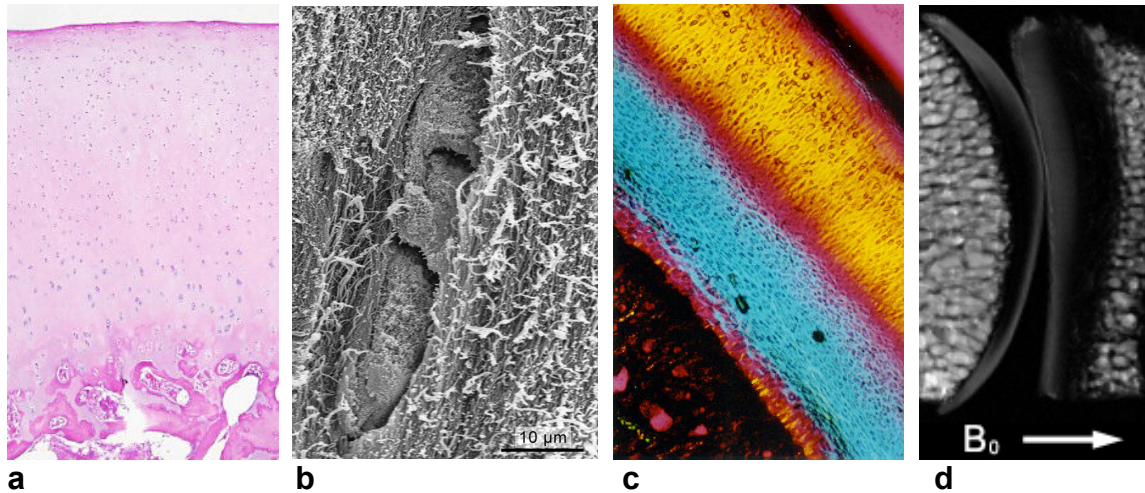


Abb. 2.16. Visuelle Darstellung der Knorpelproben mit verschiedenen mikroskopischen Verfahren. **a:** Lichtmikroskopische Darstellung einer Probe mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung; **b:** EM-Aufnahme eines Bereiches in der tiefen Zone mit säulenförmigen Chondrozyten; **c:** PLM einer juvenilen Femurprobe; **d:** μ NMR-Aufnahme von Femur- und Tibiaprobe.

Zur Untersuchung der Matrixstruktur von artikulärem Knorpel wurde in einigen Arbeiten eine Bruchtechnik (engl. *Fracture sectioning technique*) verwendet, mit deren Hilfe Gewebe zur Elektronenmikroskopie vorbereitet werden [Clark1985, Nötzli 1997, Käab 1998, Käab 1998(2), Goodwin 2000, Goodwin 2004]. Dazu wurden die Knochen-Knorpel-Präparate dekalzifiziert, im aufwändigen Verfahren entwässert, getrocknet und bei -4°C oder im flüssigen Stickstoff eingefroren. Anschließend werden die vorbereiteten Proben in unterschiedliche Richtungen (sagittal, coronal, transversal oder anders) per Hand gebrochen. Anhand der SEM-Beobachtung der mit Gold und Palladium beschichteten Bruchstelle wurden Aussagen über den Kollagenfasernverlauf getroffen (Abb. 2.17).

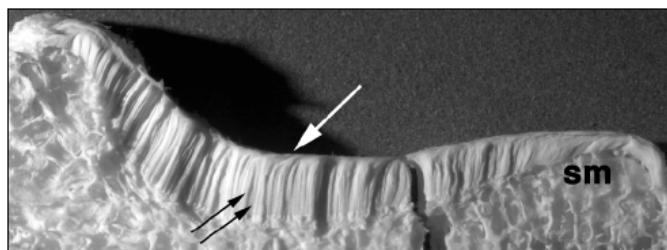


Abb. 2.17. Verwendung von Fraktur-Technik zur Untersuchung der Kollagenstruktur von artikulärem Knorpel [Goodwin 2004].

2.2. Magnetresonanztomographie

Wie in Kap. 2.1.1 und 2.1.2.5 bereits erwähnt wurde, erfüllt die Magnetresonanztomographie die meisten Voraussetzungen für die Anwendung in der nichtinvasiven Diagnostik des Gelenkknorpels. Zu den methodischen Schwächen dieser Technik zählt jedoch unter Anderem eine relativ geringe Bildauflösung der gängigen klinischen MR-Tomographen. Auf Grund dessen eignet sich diese Methode ohne spezielle Messvorbereitungen und ohne entsprechende retrospektive Bildanalyse nur eingeschränkt zur Detektion früher arthrotischen Veränderungen im Knorpel.

In diesem Kapitel werden Grundlagen der Kernspinresonanz sowie MR-Bildgebung dargelegt, mit dem Ziel, die Möglichkeiten dieses Verfahrens zur Verbesserung der Knorpeldiagnostik zu erkennen und optimal einzusetzen.

2.2.1. Grundlagen der NMR

Rund zwei Drittel aller Isotope besitzen einen Kernspin I , der mit dem magnetischen Moment μ verbunden ist:

$$\mu = \hbar \gamma I . \quad (2.2)$$

Hierbei ist γ eine kernspezifische Proportionalitätskonstante, das gyromagnetische Verhältnis, \hbar ist als Plancksches Wirkungsquantum ($h = \hbar \cdot 2\pi = 6.626 \cdot 10^{-34} \text{ Js}$) bekannt.

Von den stabilen Isotopen hat der Wasserstoffatomkern ^1H das größte gyromagnetische Verhältnis ($\gamma_{^1\text{H}} = 2,6752 \cdot 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Wasserstoff, Sauerstoff ^{16}O und Kohlenstoff ^{12}C bilden die am häufigsten vorkommenden Elemente im menschlichen Körper, wobei Wasserstoff im Gegensatz zu den beiden letztgenannten Elementen ein magnetisches Moment ($I \neq 0$) aufweist. Deshalb (und wegen seiner sehr hohen natürlichen Häufigkeit und hohen Nachweisempfindlichkeit) spielt die ^1H -NMR eine besondere Rolle im biochemisch-medizinischen Bereich.

Unter normalen Bedingungen sind die einzelnen magnetischen Dipole ungeordnet. In ein äußeres statisches Magnetfeld B_0 ($\vec{B}_0 = \{0, 0, B_0\}$), richten sie sich nach den Gesetzen der Quantenmechanik entweder parallel oder antiparallel zur Magnetfeldrichtung aus. Dabei ist die parallele Ausrichtung energetisch günstiger. Quantitativ lediglich ergeben sich für Protonen (mit Spin $1/2$) nur zwei mögliche Energiewerte:

$$E_{+1/2} = -\frac{1}{2} \hbar \gamma B_0 \text{ und } E_{-1/2} = \frac{1}{2} \hbar \gamma B_0 \quad (2.3)$$

Die Energiedifferenz zwischen den beiden Niveaus beträgt somit:

$$\Delta E = \hbar \gamma B_0 . \quad (2.4)$$

Unter Einwirkung des äußeren Magnetfeldes B_0 präzedieren die Spins um die Richtung des Feldes mit einer Frequenz ω_0 , die von der Art des Kerns (γ) sowie der

Stärke der magnetischen Induktion abhängig ist. Diese Präzession wird als Larmorfrequenz bezeichnet:

$$\omega_0 = \gamma B_0. \quad (2.5)$$

Werden die im statischen Magnetfeld befindlichen Protonen der Einwirkung eines elektromagnetischen Wechselfeldes $\vec{B}_1(t)$ der Frequenz ω_0 ausgesetzt, so beobachtet man eine starke Wechselwirkung, die dazu führt, dass Übergänge der Spins vom unteren ins energiereichere, obere Energieniveau induziert werden, wenn die Energie dieses Hochfrequenzfeldes der Energiedifferenz der Spin-Niveaus gleich ist. Dieser Effekt wird als Magnetische (oder Kernspin-) Resonanz bezeichnet.

In einer makroskopischen Probe betrachtet man nicht die einzelnen magnetischen Momente, sondern die Gesamtmagnetisierung \vec{M} aller Dipole im Einheitsvolumen V :

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \sum_i \vec{\mu}_i, \quad (2.6)$$

wobei diese resultierende makroskopische Magnetisierung nur von sogenannten „Überschuss spins“ bestimmt wird. Unter diesem Begriff versteht man eine Differenz zwischen den Besetzungszahlen in dem energieärmeren N^+ - (parallel zu B_0) und dem energiereicheren N^- - (antiparallel zu B_0) Zuständen. Das Verhältnis der Besetzungszahlen ist (für Spin $1/2$) durch den Boltzmann-Faktor:

$$\frac{N^-}{N^+} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = e^{-\frac{\hbar \gamma B_0}{kT}} \quad (2.7)$$

gegeben und ist von der Stärke des Magnetfeldes B_0 und der Temperatur T abhängig. Diese Differenz ist sehr gering. Wegen der äußerst hohen Anzahl von Spins in einer wasserhaltigen Probe, liefern die Überschussprotonen jedoch eine messbare Gesamtmagnetisierung M_0 ($\vec{M} = \{0, 0, M_0\}$) in Richtung des äußeren Feldes B_0 .

Bei einem NMR-Experiment wird auf die Spins, die im äußeren Magnetfeld B_0 mit der Larmorfrequenz präzedieren und im Gleichgewicht eine Gesamtmagnetisierung \vec{M} in Richtung des B_0 -Feldes (z -Richtung) ergeben (Abb. 2.18a), ein kurzer Hochfrequenz-Impuls mit der Larmorfrequenz ω_0 senkrecht zur z -Richtung (in der xy -Ebene) eingestrahlt. Die Energieabsorption führt zum Übergang überschüssiger Spins des unteren Energieniveaus in das energiereichere Niveau. Damit verschwindet zunehmend die makroskopische Magnetisierung in z -Richtung M_z und es entsteht (aus der Summe phasenkohärent präzedierender Spins) eine Magnetisierungskomponente M_{xy} in der Ebene senkrecht zu B_0 . Durch Anwachsen der transversalen sowie Abnehmen der longitudinalen Komponente wird der Gesamtmagnetisierungsvektor \vec{M} aus der Gleichgewichtslage in Richtung xy -Ebene gedreht (Abb. 2.18b). Der Auslenkwinkel α_t hängt von der Stärke des Hochfrequenzfeldes und der Dauer der Einwirkung des Impulses ab:

$$\alpha_I = \gamma \vec{B}_1 t_w. \quad (2.8)$$

Schaltet man den HF-Impuls genau zu dem Zeitpunkt t_w ab, in dem \vec{M} um 90° gedreht ist ($\gamma B_1 t_w = \pi/2$), spricht man von einem $\frac{\pi}{2}$ - oder 90° -Impuls (Abb. 2.18c). Bei einem doppelt so langen HF-Impuls derselben Stärke ergibt sich eine Drehung der Gesamtmagnetisierung \vec{M} um 180° . Nach einem solchen π - oder 180° -Impuls zeigt die Gesamtmagnetisierung in die negative z -Richtung (Abb. 2.18d).

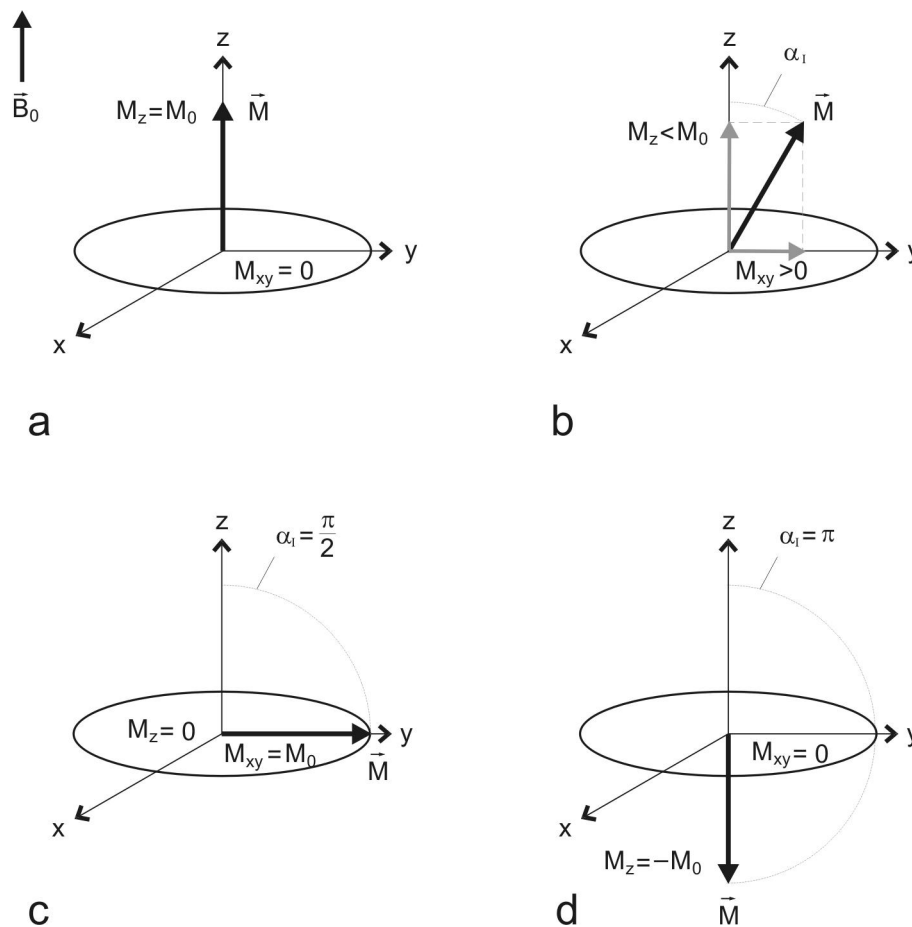


Abb. 2.18. Änderung der Magnetisierung \vec{M} unter dem Einfluss resonanter Hochfrequenzimpulse (im mit ω_0 rotierenden Koordinatensystem).

a: Gleichgewichtsmagnetisierung im externen Magnetfeld B_0 ; **b:** Unter dem Einfluss eines HF-Impulses (α -Impuls) bewegt sich der Magnetisierungsvektor \vec{M} in Richtung xy -Ebene (M_z und M_{xy} -Komponente sind angezeigt); **c:** Umklappen der Magnetisierung in die xy -Ebene nach $\frac{\pi}{2}$ -Impuls; **d:** Vorzeichenwechsel der M_z -Komponente nach π -Impuls.

Nach Beendigung der Anregung bewirken die thermische Bewegungen in der Probe Relaxationsprozesse, die zur Wiederherstellung der Gleichgewichtsmagnetisierung führen (M_z -Komponente = M_0 , M_{xy} -Komponente = 0). Das Verhalten der Magnetisierung \vec{M} mit ihren Komponenten M_x, M_y, M_z wird durch die *Blochschen* Gleichungen

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma[\vec{M}(t) \times B] - \frac{M_x \mathbf{e}_x + M_y \mathbf{e}_y}{T_2} - \frac{M_z - M_0}{T_1} \mathbf{e}_z \quad (2.9)$$

beschrieben. Hier sind $\vec{e} = \{\mathbf{e}_x, \mathbf{e}_y, \mathbf{e}_z\}$ der Einheitsvektor, $B = B_1 \mathbf{e}_x \cos \omega_0 t + B_1 \mathbf{e}_y \sin \omega_0 t + B_0 \mathbf{e}_z$. Durch T_1 bzw. T_2 werden die longitudinalen bzw. transversalen Relaxationszeiten definiert, die neben der Protonendichte zu den wesentlichsten Kontrast-Parametern der bildgebenden NMR gehören.

Die Lösungen der *Blochschen* Gleichungen:

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(M_y B_0 - M_z B_1 \sin \omega_0 t) - \frac{M_x}{T_2} \quad (2.10)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(M_z B_1 \cos \omega_0 t - M_x B_0) - \frac{M_y}{T_2} \quad (2.11)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(M_x B_1 \sin \omega_0 t - M_y B_1 \cos \omega_0 t) - \frac{M_z - M_0}{T_1} \quad (2.12)$$

ergeben:

$$M_x(t) = M_x(0) \cos \omega_0 t \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (2.13)$$

$$M_y(t) = M_y(0) \sin \omega_0 t \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (2.14)$$

$$M_z(t) = M_0 - \{M_0 - M_z(0)\} \cdot e^{-\frac{t}{T_1}} \quad (2.15)$$

Die Lösung der Gleichungen für M_z (2.15) stellt eine Exponentialfunktion dar, deren Anstieg von der Zeitkonstante T_1 bestimmt wird. Wird zum Beispiel durch einem $\frac{\pi}{2}$ -Impuls die longitudinale Komponente eliminiert ($M_z(0) = 0$), steigt im Relaxationsverlauf die Längsmagnetisierung mit $1 - e^{-\frac{t}{T_1}}$ auf den Gleichgewichtswert M_0 an. Somit beschreibt die Relaxationszeit T_1 die Zeit, die M_z braucht um 63,21% der Gleichgewichtsmagnetisierung M_0 zu erreichen (Abb. 2.19a).

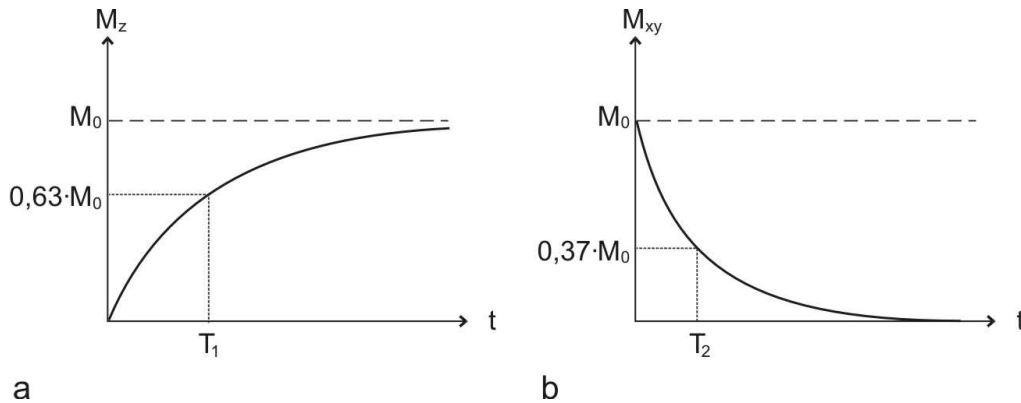


Abb. 2.19. Zeitlicher Verlauf der (a) T_1 - und (b) T_2 -Relaxation.

Die Relaxation der Längsmagnetisierung beruht auf dem Streben des Spinsystems das Boltzmann-Gleichgewicht (2.7) zu erreichen. Die durch den HF-Impuls angeregten Spins kehren in den Ausgangszustand zurück, und die von ihnen abgegebene Energie wird durch die Umgebung (Gitter) absorbiert. Aus diesem Grund bezeichnet man die longitudinale Relaxationszeit T_1 auch als Spin-Gitter-Relaxationszeit.

Die zweite Art der Relaxation ist die transversale Relaxation. Eine messbare M_{xy} -Komponente ist nur dann vorhanden, wenn die Spins mehr oder weniger mit gleicher Phase präzedieren. Unmittelbar nach dem $\frac{\pi}{2}$ -Impuls besitzt M_{xy} den maximalen Wert,

denn alle Spins rotieren phasensynchron mit gleicher Geschwindigkeit in der xy -Ebene um B_0 . Diese synchrone Bewegung kann unter realen Bedingungen nicht lange anhalten, denn auf Grund von Magnetfeldinhomogenitäten rotieren einige Spins schneller, andere langsamer und nach einer Zeit fächert sich die Magnetisierung M_{xy} in der xy -Ebene auf, bis sie über alle Richtungen gleichverteilt sind und damit die Gesamtmagnetisierung in xy -Richtung verschwindet. Gemäß (2.13), (2.14) fällt die Magnetisierung M_{xy} nach der Zeit T_2 auf 37% der maximalen Magnetisierung M_0 (Abb. 2.19b). Die genannten Magnetfeldinhomogenitäten resultieren aus der Überlagerung des B_0 -Feldes mit mikroskopischen Zusatz-Magnetfeldern, z.B. durch dipolare Felder benachbarter Spins. Auf Grund dieser Wechselwirkung zwischen den Spins nennt man die transversale Relaxationszeit T_2 auch Spin-Spin-Relaxationszeit. Somit liefert die transversale Relaxation Informationen über die magnetische Binnenstruktur der Probe. Außerdem tragen auch Inhomogenitäten des externen Magnetfeldes B_0 (welche viel größer sein können als die durch Spin-Spin-Wechselwirkung verursachten) zu der T_2 -Relaxation bei. Dies führt zu einer Verkürzung der beobachteten transversalen Relaxation. Diese allgemeine Relaxationszeit bezeichnet man als effektive Relaxationszeit T_2^* .

Da sich nur energetisch angeregte Spins an dem Aufbau der transversalen Magnetisierungskomponente beteiligen, sind die T_2 -Relaxationszeiten bis auf einige seltene Sonderfälle immer kürzer als T_1 . Die Relaxationszeiten hängen von der chemischen Struktur und der thermischen Beweglichkeit der Atome und Moleküle ab.

In Flüssigkeiten mit einer hohen thermischen Beweglichkeit erfolgt die longitudinale Relaxation vergleichbar schnell mit der transversalen ($T_1 \approx T_2$). Für Festkörper gilt dagegen $T_1 \gg T_2$. Biologische Gewebe können als zähe Flüssigkeiten beschrieben werden, d.h. sie liegen in ihren Eigenschaften zwischen Flüssigkeiten und Festkörper, ihr Relaxationsverhältnis kann durch $T_1 > T_2$ charakterisiert werden.

Die in NMR-Mikroskopie vom artikulären Knorpel detektierten Protonen sind an Wassermoleküle gebunden, welche sowohl intrafibrillär im Kollagen als auch als semi-freie Hydrathüllenwasser vorhanden sind. Das fest in Kollagenfibrillen gebundene Wasser weist eine relativ kurze T_2 -Relaxationszeit von ca. 250 μs auf und ist für die hier angewandten Methoden nicht erfassbar. Das an PG gebundene Hydrathüllenwasser besitzt T_2 -Relaxationszeiten von ca. 5–60 ms und wird in dargestellten Experimenten detektiert [Gründer 1998, Xia 1998, Reibetanz 2002, Goodwin 2004].

2.2.2. NMR-Bildgebung

Ziel der NMR-Bildgebung ist es, mit Hilfe des Kernspinresonanzverfahrens ein Schnittbild (Tomogramm) eines Objekts zu bekommen. Im klinischen Alltag wird diese diagnostische Methode als Magnetresonanztomographie (MRT, engl. *MRI – Magnetic Resonance Imaging*) oder Kernspintomographie bezeichnet.

Um den Signalanteil aus einem bestimmten Volumenelement zum NMR-Gesamtsignal des Objekts den Koordinaten dieses Orts zuordnen zu können, ist eine Ortskodierung notwendig. Nach Gleichung (2.5) ist die Resonanzfrequenz direkt der Stärke des Magnetfeldes proportional. Ändert man die Feldstärke an einem Ort, ändert sich entsprechend die Larmorfrequenz der Spins. Schaltet man also zusätzlich zum statischen B_0 -Feld ein über das Messobjekt linear zunehmendes Magnetfeld ein, so besitzen die Spins entlang der Richtung dieses Magnetfeldes ebenfalls linear ansteigende Resonanzfrequenzen, die der Lage auf der entsprechenden Koordinatenachse eindeutig zugeordnet werden können. Damit wird eine direkte Zuordnung zwischen Ort und Frequenz erreicht (Frequenzkodierung).

Für die NMR-Bildgebung wurden, abhängig von der Art der Signalgewinnung, sowohl Schicht- als auch Volumentechniken entwickelt. Bei den Schichttechniken geschieht die Kodierung der einzelnen Volumenelemente (Voxel) in 3 Schritten:

1. Mit Hilfe eines Schichtselektionsgradienten (*slice-Gradient*) wird in dem zu untersuchenden Objekt eine Schicht ausgewählt. Dafür wird dem statischen Magnetfeld B_0 ein Gradientenfeld $B^z = zG_z$ ($G_z = \Delta B / \Delta z$) zugeschaltet. Damit variieren die Larmorfrequenzen linear in Richtung des Gradienten G_z . In den Ebenen senkrecht zu der Gradientenrichtung sind die Magnetfeldstärken bzw. Larmorfrequenzen gleich (Abb. 2.20a).
Sendet man während des eingeschalteten G_z -Gradienten einen HF-Impuls der Frequenz $\omega_i = 2\pi\nu_i = \gamma(B_0 + z_i G_z)$, werden nur die Spins in der xy -Ebene mit der Koordinate z_i angeregt. Unter realen Bedingungen wird die Anregung einer Schicht bestimmter Dicke durch Einstrahlung eines entsprechenden

Frequenzbereichs ($\nu_i \pm \Delta\nu$) realisiert, wobei durch die Zentralfrequenz ν_i die Mitte der Schicht und durch die Frequenzbandbreite $2\Delta\nu$ deren Dicke bestimmt sind. Die Schichtorientierung lässt sich durch wahlweises oder gleichzeitiges Einschalten einzelner oder mehrerer Gradienten in den drei Richtungen (G_x , G_y , G_z) beliebig festlegen.

2. Nach der Schichtanregung wird (während der Datenakquisition) senkrecht zu dem *slice*-Gradienten ein weiterer Gradient G_y eingeschaltet. Damit wird eine Kodierung in Spalten erreicht. Jede Spalte enthält die Kernspins, die mit der gradientenabhängigen Frequenz $\omega_i = 2\pi\nu_i = \gamma(B_0 + y_i G_y)$ präzedieren. Somit werden die Volumenelemente in den Spalten frequenzkodiert (Abb. 2.20b).
3. Um schließlich eine eindeutige Ortung der einzelnen Volumenelemente der Schicht zu erhalten, bedarf es einer zusätzlichen Kodierung in der dritten Raumrichtung, der Zeilenrichtung (Zeilenkodierung). Dafür wird für eine bestimmte Zeit t ein weiterer Gradient G_x senkrecht zu G_z und G_y angelegt. Ziel dieses Gradienten ist es, die Phasenwinkel der Spins örtlich zu verändern (Phasenkodierung). Nach dem Abschalten des Gradienten präzedieren die Spins mit einer ortsabhängigen Phase: $\varphi_i = \gamma x_i G_x t$.

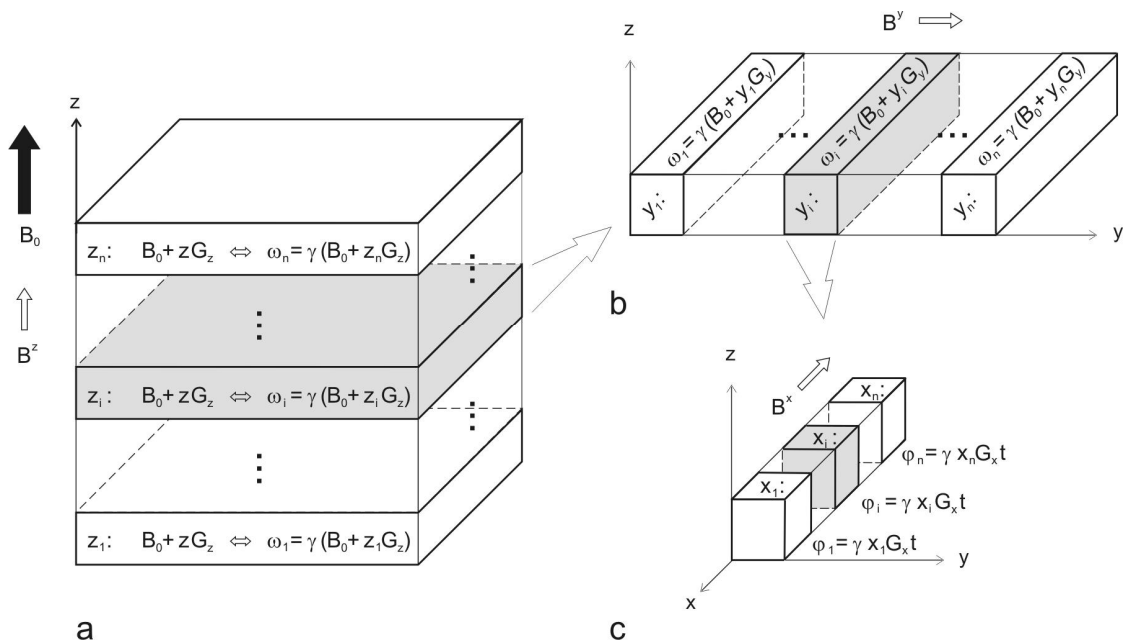


Abb. 2.20. Ortskodierung bei der NMR-Bildgebung. **a:** Selektive Schichtanregung mit Hilfe eines *slice*-Gradienten G_z ; **b:** Spaltenkodierung durch Frequenzkodiergradient G_y ; **c:** Zeilenkodierung durch Phasen-Gradienten G_x .

Zur Messung des Resonanzsignals wird G_y als Auslesegradient (*read*-Gradient) erneut eingeschaltet. Man erhält eine eindimensionale frequenzkodierte Projektion. Wiederholt man die Messung n -mal mit unterschiedlichen Phasengradienten, so ergeben sich n Datensätze mit m Messwerten, wobei n die Auflösung des Bildes in Phasenrichtung und m die Auflösung in *read*-Richtung darstellt. Dieses System wird mit Hilfe von 2D-Fourier-Transformation zu einer $n \times m$ -Bildmatrix rekonstruiert. Daraus folgt, dass die Anzahl von Einzelmessungen und damit die Gesamtmesszeit von der Auflösung (speziell in *Phasen*-Richtung) des Bildes abhängt. In der Praxis werden üblicherweise isometrische Bildauflösungen von 128×128 , 256×256 und 512×512 angewandt. Um beispielsweise ein Bild mit der Auflösung 256×256 zu erhalten, benötigt man 256 Phasengradientenschaltungen. Passt das zu untersuchende Objekt in ein nicht-quadratisches Fenster, ist es sinnvoll eine anisotrope Auflösung (z.B. 128×256) zu benutzen, wobei man die *Phasen*-Richtung in Projektionsrichtung mit kleinerer Auflösung auswählt.

Um ein tomographisches NMR-Experiment durchzuführen bedarf es eines genau zeitlich festgelegten Schema (*NMR-Sequenz*) aus HF-Impulsen und magnetischen Gradienten (Abb. 2.22). Man unterscheidet zwischen den *Spin-Echo* (*SE*)- und *Gradienten-Echo* (*GE*)-Sequenzen.

Eine Besonderheit aller SE-Sequenzen ist die initiale Anregung der Spins mit einem $\frac{\pi}{2}$ -Impuls und die darauffolgende Invertierung der Magnetisierung mit einem oder mehreren π -Impulsen (Abb. 2.21). Die Zeit zwischen dem initialen Impuls und dem ersten Spin-Echo bezeichnet man als *Echozeit* T_E und der π -Impuls wird zum Zeitpunkt $T_E/2$ (Abb. 2.22) gesetzt. Sendet man mehrere (k) π -Impulse mit dem zeitlichen Abstand von T_E , erhält man eine Reihe von mit T_2 abfallenden Echo-Signalen. Eine derartige Messfolge nennt man *Multi-Echo-Sequenz*. Der Abstand zwischen zwei initialen Anregungs-Impulsen ($\frac{\pi}{2}$ -Impuls) bezeichnet man als *Wiederholungs-* oder *Repetitionszeit* T_R . Diese Zeit bestimmt die gesamte Dauer der Einzel-Messung. Beträgt die T_R beispielweise 1500 ms und die Auflösung des Bildes 256×256 , so dauert die ganze Messung $256 \cdot 1,5 \text{ s} = 6,4 \text{ min}$. Die Echozeit T_E hat im Allgemeinen keinen Einfluss auf die Messzeit ($T_R > k \times T_E$).

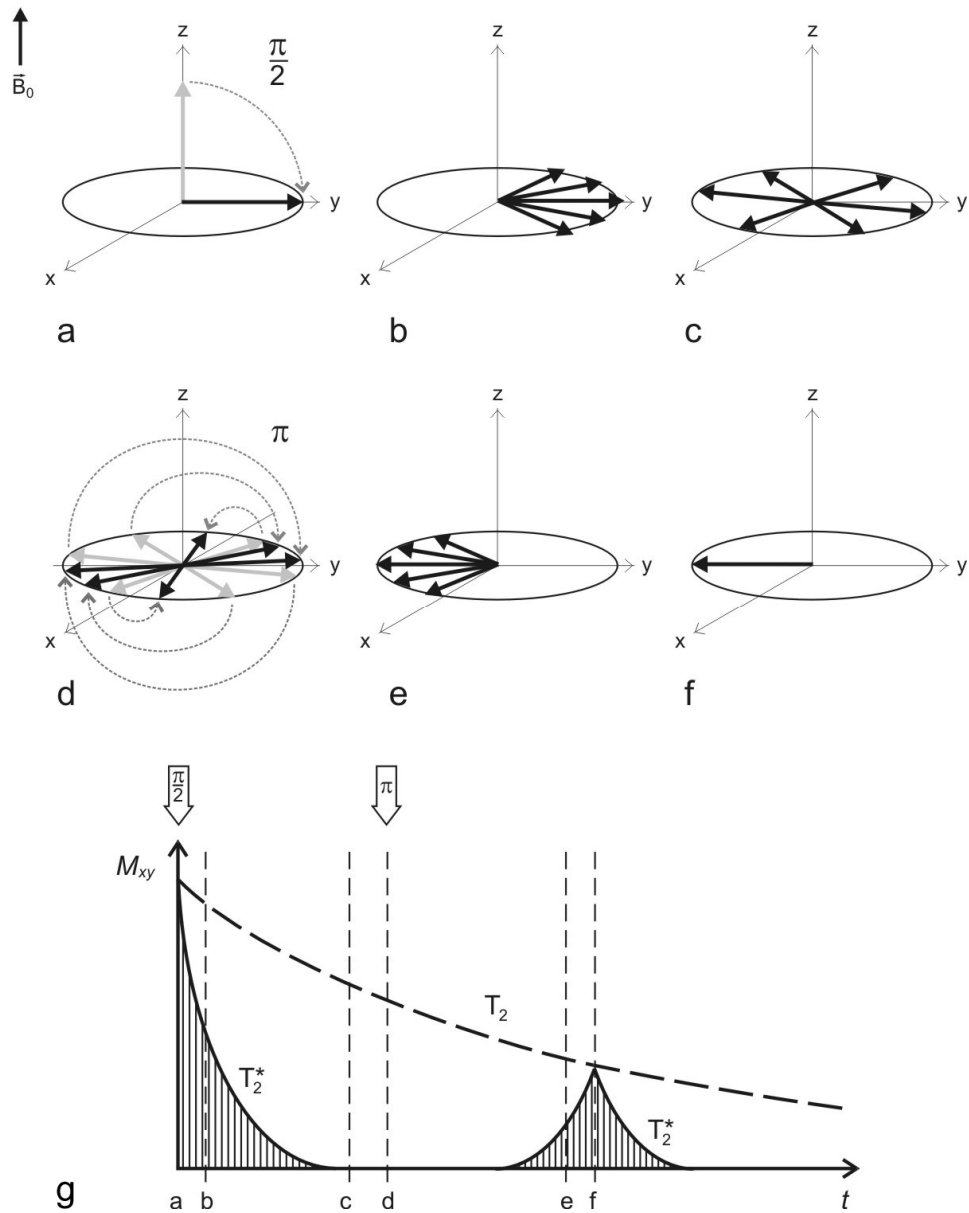


Abb. 2.21. Schematische Darstellung der Spin-Rephasierung bei einer Spin-Echo-Sequenz. **a:** Umklappen der Magnetisierung in die xy -Ebene nach einem $\frac{\pi}{2}$ -Impuls; **b:** Anwachsende Phasendifferenz der einzelnen Spins (Spin-Spin-Relaxation); **c:** Vollständige Dephasierung der Spins; **d:** Invertierung der Magnetisierung einzelner Spins nach einem π -Impuls; **e:** Anwachsende Rephasierung der Spins; **f:** Spin-Echo-Signal nach vollständiger Rephasierung. **g:** Verhalten des NMR-Signals während des Experiments.

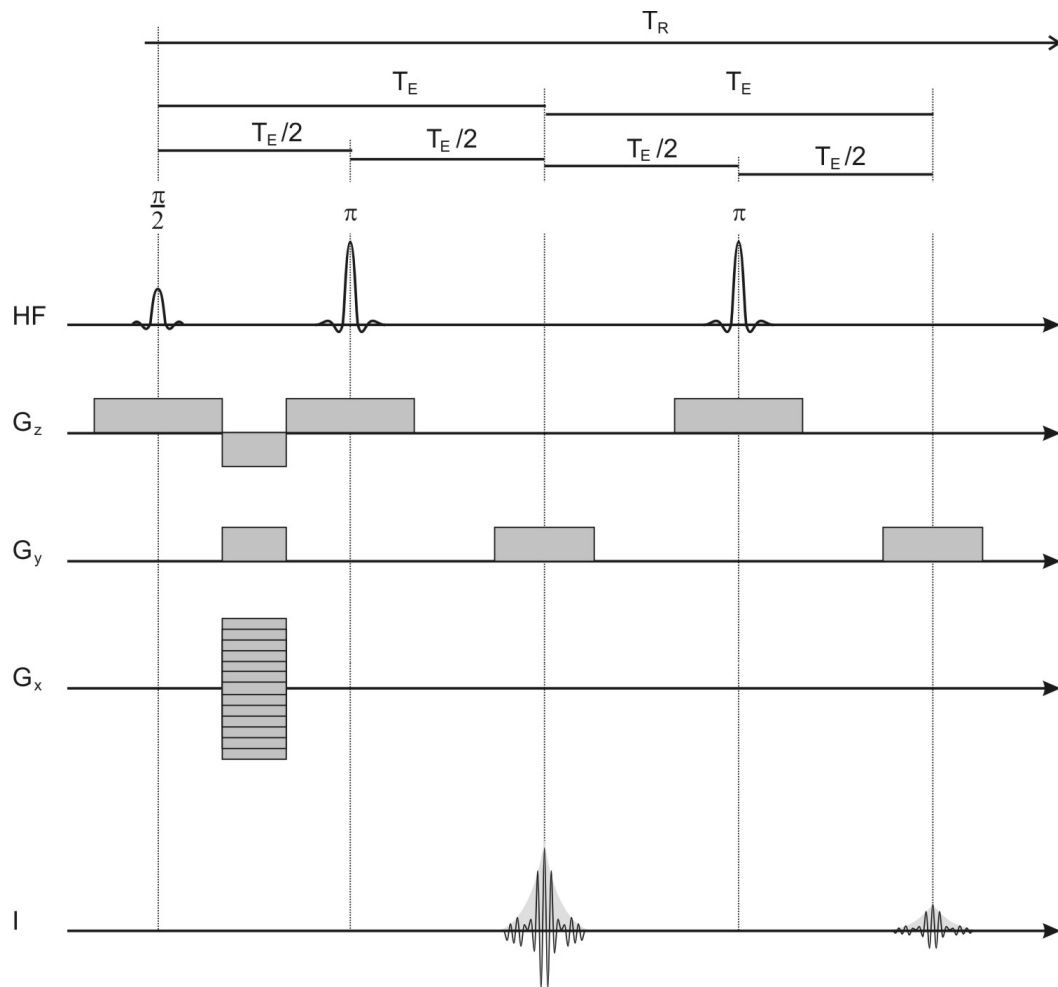


Abb. 2.22. Impuls- und Gradientenschema einer Spin-Echo-Sequenz.

Wie bereits erwähnt, relaxieren die Spins unter normalen Bedingungen auf Grund von Magnetfeldinhomogenitäten mit einer im Vergleich zur wirklichen T_2 -Zeit des Gewebes kürzeren, effektiven T_2^* -Zeit. Verbindet man die Maximalamplituden aller Spin-Echos, erhält man eine Kurve, die mit der T_2 -Zerfallskurve identisch ist (Abb. 2.21g). Die Signalintensität der Spin-Echo-Sequenz ist (bei Wiederholzeiten $T_R \gg T_1$) somit durch T_2 -Relaxationszeit bestimmt. Aus diesem Grund eignet sich diese Methode sehr gut zur Aufnahme T_2 -gewichteter Bilder, welche für die Untersuchungen des kollagenen Netzwerks des Gelenkknorpels angewandt werden.

Die Echozeit T_E und die Repetitionszeit T_R sind, zusammen mit den Eigenschaften der Gewebeprotonen (Wasser, Fett), die grundlegenden Kontrast-Parameter in der NMR-Bildgebung. Die Signalintensität I eines Volumenelements hängt im Falle eines Spin-Echo-Experiments von der Anzahl der zu dem Signal beitragenden Spins $N(H)$ (der Spin- bzw. Protonendichte) sowie von den gewebespezifischen Relaxationszeiten T_1 und T_2 und den Aufnahmeparameter T_E und T_R ab:

$$I \propto N(H) \cdot \left(e^{-T_E/T_2} \right) \cdot \left(1 - e^{-T_R/T_1} \right). \quad (2.16)$$

Durch geeignete Wahl von T_R und T_E erreicht man unterschiedliche Einflüsse der Gewebeparameter auf den Bildkontrast (Bild-Wichtungen). Wählt man zum Beispiel T_E möglichst kurz und T_R möglichst lang ($T_E \ll T_2$; $T_R \gg T_1$), so werden in (2.16) der zweite und der dritte Term $\cong 1$ und die Signalintensität ist allein durch die Protonendichte bestimmt. In diesem Fall spricht man von *protonengewichteten* Bildern. Durch geeignete Wahl der Verhältnisse T_E/T_2 und T_R/T_1 erhält man T_1 - bzw. T_2 -gewichtete Bilder. Allerdings bleibt die Abhängigkeit der MR-Intensität von der Protonendichte immer bestehen. Tabelle 2.1 fasst die Aufnahmeparameterverhältnisse für die Betonung der Gewebeparameter zusammen.

Tab. 2.1. Bildwichtungen bei einer SE-Sequenz.

Wichtung	TR / T1 - Verhältnis	TE / T2 - Verhältnis
N(H)	$T_R \gg T_1$	$T_E \ll T_2$
T1	$T_R \leq T_1$	$T_E \ll T_2$
T2	$T_R \gg T_1$	$T_E \geq T_2$

Wie bereits erwähnt, sind für die Untersuchung der Ultrastruktur des artikulären Knorpels T_2 -gewichtete Aufnahmen wichtig. Der Grund für die Abhängigkeit der T_2 -Relaxation von dem Aufbau der kollagenen Matrix wird in Kap. 4 näher erläutert. Da die *transversalen* Relaxationszeiten von Knorpelgewebe im Bereich von 5-60 ms liegen, wählt man zur T_2 -Betonung Echozeiten T_E von 20–30 ms und Repetitionszeit T_R von 500–1000 ms.

2.2.3. MRT-Technik

Größe und Form klinischer MRT- bzw. NMR-Systeme werden vom speziellen Anwendungsgebiet bestimmt. Die Hauptkomponenten jeder MRT-Anlage sind jedoch immer gleich:

- der Hauptfeldmagnet
- das Gradientensystem
- die Hochfrequenzspulen
- der Rechner.

Der Hauptfeldmagnet dient zur Erzeugung eines hohen stationären Magnetfeldes B_0 , das im Falle eines klinischen Systems über ein großes Volumen möglichst homogen sein soll. Eine hohe Magnetfeldstärke bewirkt ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis (engl. *SNR* — *Signal-to-Noise-Ratio*), was bei gleicher Bildqualität zu deutlich kürzeren Aufnahmezeiten führt (s. Gl. 2.7). Sehr starke Magnetfelder bringen jedoch auch eine Reihe von Nachteilen mit sich: u.a. eine Verlängerung der T_1 -Relaxationszeit, einen

verstärkten Einfluss des Skin-Effekts und eine hohe Absorptionsrate der HF-Strahlung (engl. *SAR – Specific Absorption Rate*) sowie einen zunehmenden Einfluss der chemischen Verschiebung (z.B. zwischen Wasser- und Fettsignal). Zur Begrenzung des magnetischen Streufeldes ist ein erhöhter Aufwand für eine effektive Abschirmung erforderlich. In der klinischen Routine werden gegenwärtig MR-Tomographen mit Magnetfeldern von 0,1 T bis 3,0 T verwandt. Für wissenschaftliche Zwecke sind jedoch auch Magnetfeldstärken von bis zu 9,4 T im Einsatz. Die Entwicklung dieser Tomographen zeigt immer mehr, dass die mit ultrastarken Magnetfeldern verbundenen Probleme mit Hilfe von ausgereifter Technik wesentlich reduziert werden können [Yuh 2006, Grimm 2006]. Diese Scanner besitzen ein hohes Potenzial, insbesondere auch für die hochauflösende Bildgebung unterer Extremitäten [Pakin 2006, Regatte 2007].

Die anwendbare Magnettechnologie wird im Wesentlichen durch die geforderten Feldstärkeeigenschaften bestimmt. Gegenwärtig werden Permanentmagnete, resistive bzw. Widerstandsmagnete und supraleitende bzw. Cryomagnete verwendet. Die ersten zwei Magnettypen werden für die Erzeugung relativ niedriger Feldstärken von ca. bis zu 0,2 T für resistive und 0,35 T für Permanentmagnete gekennzeichnet. Sie werden überwiegend im Bereich der orthopädischen und interventionellen Bildgebung angewandt. Für die Erzeugung von höheren Magnetfeldstärken werden in modernen MR-Tomographen supraleitende Magnete verwendet. Die Feldspulen solcher Magnete werden aus (NbTi)-Legierungen hergestellt, die bei extrem tiefen Temperaturen supraleitende Eigenschaften entwickeln. Dadurch bleibt der durchfließende Strom auf Grund des in supraleitenden Zustand fehlenden Widerstands unveränderlich, was zu einem extrem konstanten Magnetfeld in der Spule führt. Zur Aufrechterhaltung des supraleitenden Zustands ist jedoch eine permanente Kühlung bis unterhalb der Sprungtemperatur des Spulenmaterials ($T_{C[NbTi]} = -263^{\circ}\text{C}$) notwendig. Diese wird üblicherweise durch das Einbringen der Spule in flüssiges Helium (mit der Siedetemperatur von -269°C) erreicht. Zur Bildung eines möglichst homogenen Magnetfeldes wird am häufigsten eine Solenoid-Spule verwendet, die um einen Zylinder mit einer horizontalen Achse gewickelt wird und in dessen Mitte sich die freie Bohrung befindet, in die der liegende Patient eingeführt wird. Die Richtung des statischen Magnetfeldes B_0 verläuft in diesem Fall parallel zur Longitudinalachse des Körpers.

Das Gradientensystem wird zur Realisierung der Ortskodierung verwandt. Dafür werden zusätzlich zum Hauptfeld B_0 örtlich möglichst exakt linear variierende Zusatz-Magnetfelder (Gradienten) in drei Richtungen geschaltet (Kap. 2.2.2). Die dreidimensionale Anordnung der Gradientenfelder erfordert den Einbau von drei Spulensystemen mit jeweils aufeinander senkrecht stehenden Magnetfeldern. Für jede Gradientenrichtung wird jeweils ein Maxwell-Spulensystem (inverse Helmholtz-anordnung) verwendet (Abb. 2.23a). Innerhalb eines bestimmten Volumens zwischen zwei ringförmigen Leiterschleifen befindet sich ein Bereich mit linear ansteigender Magnetfeldstärke (gestrichelte Linie, Abb. 2.23b).

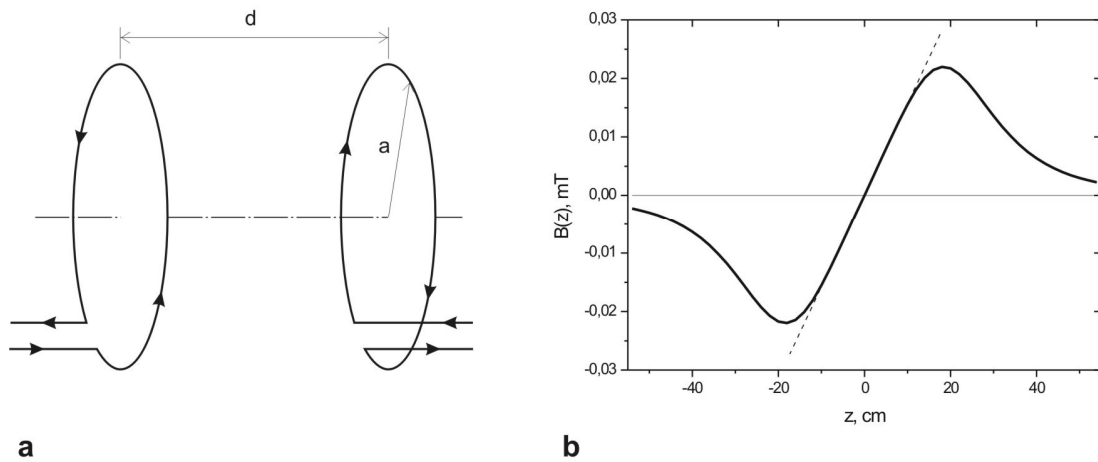


Abb. 2.23. a: Spulenanordnung zur Erzeugung des Gradientenfeldes B^z . **b:** Magnetfeld einer Maxwell-Spule mit $a = 20$ cm, $d = 29$ cm, $I = 1$ A.

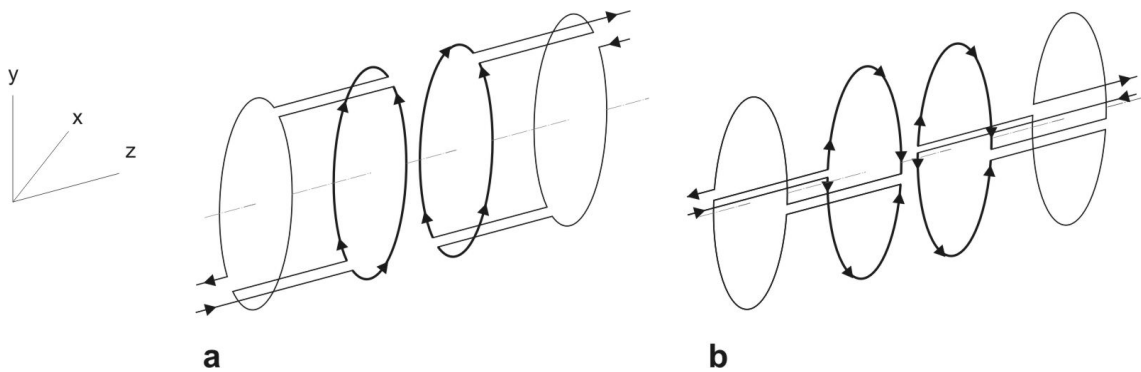


Abb. 2.24. Spulenanordnung zur Erzeugung der Gradientenfelder **(a)** B^x und **(b)** B^y .

Da die x - und y -Gradientenspulen senkrecht zur Hauptachse des Magneten angeordnet sind und gleichzeitig in die koaxiale Geometrie des Cryosystems integriert werden müssen, sind sie als Sattelspulen aufgebaut (Abb. 2.24).

Die Gradientenstärke in konventionellen Ganzkörpertomographen erreicht Werte von bis zu ca. 40 mT/m. Da die räumliche Auflösung von der Gradientenstärke abhängt, ist man bestrebt, diesen Wert zu erhöhen, was jedoch durch die Leistungsfähigkeit der Stromversorgung (bzw. durch die thermische Belastbarkeit des Spulenmaterials) begrenzt ist. Außerdem verursachen sehr schnell veränderbare magnetische Gradientenfelder unangenehme Magnetostimulationen bei den Patienten und extrem laute Geräusche. Deshalb ist es sinnvoll zur Erzielung hoher räumlicher Auflösung bei den Untersuchungen relativ kleiner Körperteile (z.B. Kopf oder Gelenke) sogenannte Gradienteneinschübe (engl. *gradient inserts*) zu verwenden, bei denen der Abstand

zwischen den Spulen wesentlich kleiner ist, und damit bei gleicher Leistung höhere Gradientenstärken erreichbar sind.

Hochfrequenzspulen (*HF-Spulen*, engl. *RF-coils – radiofrequency coils*) spielen in der MRT-Technik eine wichtige Rolle, denn mit ihrer Hilfe wird neben der Aussendung von Anregungsimpulsen das kernspintomographische Signal empfangen. HF-Spulen stellen Antennen zur Erzeugung und Detektion des hochfrequenten (Larmorfrequenz) elektromagnetischen Feldes in der xy -Ebene dar. Typischerweise sind HF-Spulen als elektrischer Schwingkreis mit dem resistiven Impedanz von 50Ω , der mit Hilfe von Kondensatoren auf die Resonanzfrequenz abgestimmt wird, aufgebaut. Die große Ganzkörperspule ist in den meisten Cryomagnet-Systemen in das Gehäuse in Form einer Sattelspule integriert (Abb. 2.25a), auf Grund der mit der Magnetfeldstärke steigenden Frequenz sind Sattelspulen für Systeme mit starken Feldern jedoch nicht geeignet. In diesem Fall werden Schlitzresonatoren verwendet.

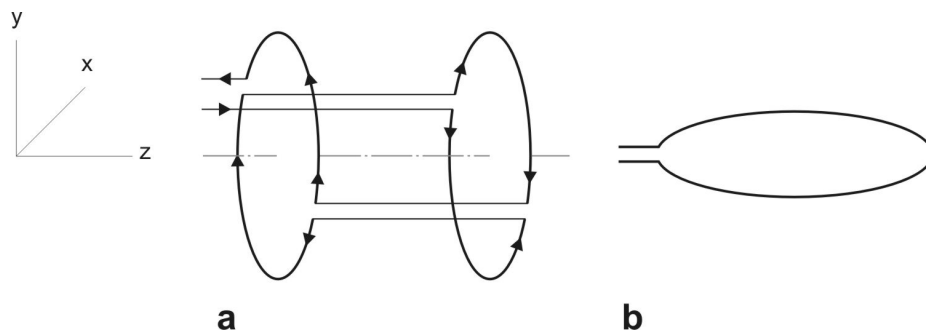


Abb. 2.25. HF-Spulen. **a:** Sattelspule; **b:** Ringförmige Oberflächenspule.

Da das empfangene Resonanzsignal sehr schwach ist, werden Sende- und Empfangsspulen oft getrennt, wobei die letztgenannten möglichst nah zu dem Patienten angebracht werden, um den zunehmenden Signalverlust mit wachsenden Abstand zwischen Signalquelle und Empfangsspule zu verringern, bzw. den Füllfaktor der Empfangsspule (signalemittierendes Volumen/Gesamtvolumen der Empfangsspule) zu vergrößern. Diese Spulen werden meistens entweder ähnlich der Ganzkörperspule (z.B. Kopfspule) oder in Form eines Rings (Oberflächenspule, Abb. 2.25b) gebaut. Für die Untersuchungen relativ kleiner Objekte wie Finger oder Zehen können auch Solenoid-Spulen angewendet werden. In jedem Fall ist auf die richtige Ausrichtung der Spulen im Magnetfeld zu achten.

Zur Untersuchung von Kniegelenken werden spezielle Kniespulen angewandt, die meistens als Käfig-Resonatoren (engl. *birdcage coil*) oder Phased-Array-Spulen konstruiert sind. In manchen Fällen liefern dicht ans Kniegelenk angebrachte Oberflächenspulen eine bessere Bildqualität innerhalb eines relativ kleinen Untersuchungsvolumens.

Kapitel 3. Aufgabenstellung

Die von Benninghoff mittels Lichtmikroskopie durchgeführten Untersuchungen des kollagenen Knorpels lieferten erste Erkenntnisse über seine komplizierte arkadenförmige Aufbaustruktur [Benninghoff 1925]. Dieses Ergebnis wurde auch später mit anderen Untersuchungsmethoden (Polarisationsmikroskopie, Transmissionsrasterionenmikroskopie, Elektronenmikroskopie, partikelinduzierte Röntgenemission) [Clark 1985, Reinert 2001, Reibetanz 2002] bestätigt. So war es nun möglich, die mit zunehmendem Alter sowie bei arthrotischen Prozessen auftretenden Netzwerkstrukturänderungen zu visualisieren.

Von entscheidender Bedeutung ist jedoch die Entwicklung nichtinvasiver Untersuchungsmethoden, die ebenso verlässliche Informationen über die Kollagenstruktur des Knorpels liefern können. Seit etwa 1972 hat sich durch die Entwicklung der bildgebenden NMR-Technik (Magnetresonanztomographie) eine vielversprechende neue Methode für die nichtinvasive medizinische Diagnostik durchgesetzt. Zurzeit gehört die MR-Bildgebung zu den wesentlichen Untersuchungsmethoden aller medizinischen Einrichtungen weltweit. Auch in der orthopädischen Praxis ist die Kernspintomographie inzwischen unverzichtbar, da sie doch praktisch die einzige nichtinvasive Methode ist, die die Gelenkstrukturen und insbesondere den Gelenkknorpel direkt darstellen kann. Allerdings auf Grund eines relativ geringen Auflösungsvermögens der konventionellen MRT, eignet sich diese Technik zurzeit nur eingeschränkt zur Diagnostik von sehr feinen degenerativen Veränderungen der Knorpelultrastruktur in den frühen Arthrostadien. Untersuchungen am artikulären Knorpel in letzten Jahren haben jedoch gezeigt, dass es mit Hilfe einer speziellen T_2 -gewichteten MR-Bildgebungsmethode möglich ist, auch die kollagene Ultrastruktur zu erfassen [Gründer 1998(2)]. Da bei dieser Technik die Intensität des NMR-Signals stark von der Orientierung gerichteten Strukturen abhängig ist, wurde sie als *Winkel-sensitive MRT* (WS-MRT) bezeichnet [Gründer 2000]. Dieses Verfahren wurde in zahlreichen wissenschaftlichen Arbeiten angewandt, um bei der MR-Bildgebung Informationen über die strukturellen Eigenschaften des Knorpels zu gewinnen. Anhand der ausgewerteten Intensitätsabhängigkeit der Kollagenfasern von der Orientierung im äußeren Magnetfeld wurde die topographische Verteilung der Kollagenstruktur innerhalb des Gelenkes [Gründer 2000] bzw. die altersabhängige Entwicklung der Netzwerkstruktur [Reibetanz 2002(2)] dargestellt. Seidel et al. [Seidel 2005(1)] beschrieben ein Verfahren, bei dem die Information über die Kollagenstruktur aus einer MRT-Einzelaufnahme auf Grund der natürlichen Wölbung der Gelenkoberfläche analysiert werden kann.

Großes Potential wohnt den MRT-Untersuchungen von druckbelastetem Knorpel inne, da seine mechanische Eigenschaften bei früher Arthrose im Vergleich zur destruktiven histologischen Analyse einen empfindlicheren Indikator für erste degenerative Veränderungen darstellen können [Lane 1979, Knecht 2006]. Überdies lässt sich durch Druckversuche der Knorpel unter normalen physiologischen Bedingungen beobachten. Daten, die bei derartigen Experimenten gewonnen werden, erlauben es, die wichtigsten elastomechanischen Eigenschaften des Knorpels zu bestimmen. Eine einfache Betrachtung der Dickenänderung unter Druckbelastung liefert Informationen über den Elastizitätsmodul (s. Gl. 2.1) des Knorpelmaterials. Bei Anwendung von neuronalen Netzen und/oder Finite-Elemente-Modellen wurde jedoch festgestellt, dass die Druckverteilung in der Knorpelschicht einen komplizierten Charakter aufweist [Seidel 2005(2), Gründer 2005].

Ziel dieser Arbeit ist es ein erweitertes Verfahren zur Detektion von mikroskopischen anisotropen Ultrastrukturen des hyalinen Knorpels mittels hochauflösender NMR-Bildgebung – *winkel-sensitive MRT* – zu definieren und auszuarbeiten. Auf der Grundlage dieses Verfahrens soll eine Messmethodik entwickelt werden, welche es erstmalig möglich macht, belastungsabhängige Veränderungen der kollagenen Knorpelstruktur quantitativ zu erfassen. Es soll gezeigt werden, dass es unter bestimmten Voraussetzungen möglich ist, die Veränderungen der mittleren Orientierung der Netzwerkstruktur auf eine im Prinzip nichtinvasive Weise zu berechnen. Während im intakten Gelenkknorpel definierte geordnete kollagene Strukturen vorhanden sind, können krankhaft bedingte oder degenerative Veränderungen damit durch ihre strukturellen Irregularitäten sichtbar gemacht werden.

Um die Druckeinwirkung auf die Orientierungsänderung der radialen Kollagenfasern im adulten Knorpel zu beurteilen, werden von Stanzzyindern aus dem Kniegelenk von Schafen T₂-gewichtete hochauflösende MRT-Aufnahmen unter unterschiedlicher Orientierung im äußeren Magnetfeld sowie unterschiedlicher Druckbelastung ausgewertet. Dazu wird ein Modell vorgeschlagen, das das transformationsabhängige Intensitätsverhalten des Kollagennetzwerkes unter Belastung beschreibt, und dessen Anwendung bei unterschiedlich möglicher räumlicher Verteilung der Kollagenfaser diskutiert. Von großer Bedeutung ist es auch, das Potential dieser Untersuchungen unter klinischen Bedingungen zu erkunden. Zu diesem Zweck werden nur die experimentellen Daten ausgewählt, welche unter klinischen Bedingungen gewinnbar sein können und deren Anwendbarkeit im Rahmen des entwickelten Verfahrens wird analysiert.

Im Laufe der Arbeit wird der aktuell noch offenstehenden Frage des räumlichen Aufbaus der kollagenen Matrix nachgegangen. Grund für die Untersuchung dieses Aspekts sind die zurzeit zwei auseinander gehenden Meinungen zum Aufbau der Faserstruktur des adulten Knorpels, welche auf differente Weise die Diskussion über die druckbedingte Strukturtransformation beeinflussen können.

Im Anschluss werden Aussagefähigkeit und Grenzen der vorgeschlagenen Belastungsmodelle diskutiert, mögliche Fehlerquellen und Messungenauigkeiten behandelt, sowie weiterführende Themen als Grundlage für die Fortführung dieser wissenschaftlichen Arbeit vorgeschlagen.

Kapitel 4. Winkel-sensitive MRT

Das MRT-Erscheinungsbild des Knorpels hat einen komplizierten Charakter und ist stark von den Messsequenzen und der Ausrichtung im äußeren Magnetfeld B_0 determiniert. Da der artikuläre Knorpel eine anisotrope Innenstruktur hat, weist auch sein MRT-Bild eine vielschichtige Darstellung gemäß des morphologischen Aufbaus auf [Xia 1997, Gründer 1998, Xia 2000] (Abb. 4.1).

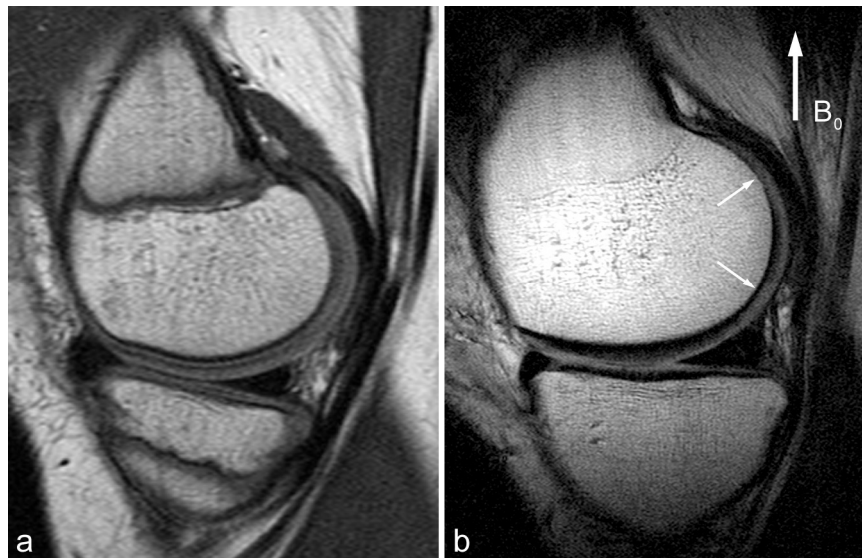


Abb. 4.1. MRT-Aufnahmen von menschlichen Kniegelenken. **a:** Entsprechend dem juvenilen Entwicklungsstadium eines 11-jährigen Mädchen sind auf dem MRT-Bild (SE, TE/TR=30/600 ms) mehrere Knorpelzonen sichtbar (s. Kap. 2.1.2.2); **b:** Das T_2 -gewichtete MRT-Bild (SE, TE/TR=20/720 ms) des Knies eines Erwachsenen (M, 21 Jahre) zeigt eine adulte Struktur entsprechend dem Arkaden-Modell (s. Kap. 2.1.2.2). Mit Pfeilen sind hyperintensive Regionen innerhalb der Knorpelschicht angezeigt.

Von großer Bedeutung ist die Abhängigkeit der Intensität von der Orientierung der Kollagenfasern im statischen Feld B_0 . Wie die Abbildung 4.1b zeigt, sind auf einer MRT-Aufnahme Regionen mit erhöhter Intensität innerhalb des Knorpels vorhanden. Diese Regionen weisen keine lokal abweichende Kollagenstruktur auf, sondern sind Folge des Einflusses der die T_2 -Relaxationszeit und somit die MR-Intensität bestimmenden Dipol-Dipol-Wechselwirkung der an PG gebundenen Wassermoleküle

[Gründer 1998, Xia 1998, Reibetanz 2002, Goodwin 2004]. Dieser Effekt wird als „Magischer-Winkel-Effekt“ bezeichnet, weil unter diesem Winkel (55° zum B_0 Feld) die durch die Kollagenstruktur dominierte dipolare Wechselwirkung minimal ist und damit maximale Signalintensität erreicht wird (s. Pfeile in Abb. 4.1b). Auf der Basis der winkel-sensitiven MR-Bildgebung kann man durch die Orientierungsabhängigkeit der Intensität Informationen über die Ausrichtung der Kollagenfasern und folglich Aussagen über die Integrität des Kollagennetzwerkes vom Knorpel bekommen.

4.1. Bestimmung der Kollagenfaserorientierung

Die Untersuchung der kollagenen Struktur des artikulären Knorpels mit Hilfe von WS-MRT basiert auf dem Zusammenhang zwischen der Intensität des MR-Signals und dem Verlauf der Kollagenfasern im Knorpel. Bei der WS-MRT wird dieser Verlauf auf Grund der Orientierungsabhängigkeit der MR-Intensität im Magnetfeld B_0 detektiert. Wie bereits in Kap. 2.1.2.1 erläutert wurde, spielen dabei die Protonen der Wassermoleküle, die an die Proteoglykane gebundenen sind, eine entscheidende Rolle (vgl. Abb. 2.6c), da der Protonenverbindungsvektor \vec{r} die Information über die Vorzugsrichtung der Kollagenfasern vermitteln kann. Diese Information kann aus der Abhängigkeit der transversalen Relaxationszeit T_2 von der Orientierung des Verbindungsvektors zum äußeren Magnetfeld B_0 gewonnen werden, da bei geeignet gewählten Aufnahmeparametern die Intensität des NMR-Signals stark von der T_2 -Zeit geprägt werden kann (Kap. 2.2.2).

Die MR-Relaxation ist geprägt von verschiedenen Wechselwirkungsmechanismen sowie der thermischen Bewegung der Spins. Der bestimmende Relaxationsmechanismus für Protonen ist im Falle des Gelenkknorpels die Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Diese Interaktion entsteht in Folge der Indizierung eines lokalen fluktuierenden Magnetfeldes eines Protons am Ort des anderen. Dieses lokale Zusatzfeld

$$B_{lok} = -\frac{1}{r^3} \gamma \mu m (1 - 3 \cos^2 \theta) \quad (4.1)$$

ist vom Abstand r zwischen den Kernen sowie vom Winkel θ zwischen dem Kernverbindungsvektor und Richtung des statischen Magnetfeld B_0 abhängig, γ ist das gyromagnetische Verhältnis, μ ist das magnetische Moment und m ist die magnetische Quantenzahl. Bei einem Winkel θ von $54,7^\circ$ wird $B_{lok} = 0$ und die Dipol-Dipol-Wechselwirkung hat keinen Einfluss auf die Relaxation. Dieser Winkel wird als „Magischer Winkel“ bezeichnet (vgl. Abb. 4.1b).

Nach (2.16 und Tab. 2.1) ist die Abhängigkeit der Intensität des NMR-Signals von der transversalen Relaxationszeit bei der T_2 -Wichtung bestimmt durch:

$$I \propto e^{-T_E/T_2} \quad (4.2)$$

Nach Pfeifer [Pfeifer 1972] ist die transversale Relaxationszeit T_2 bei einer intramolekularen Proton-Proton-Wechselwirkung gegeben durch:

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{3} \gamma^2 \langle \Delta H^2 \rangle \left(3\tau_c + \frac{5\tau_c}{1 + (\omega\tau_c)^2} + \frac{2\tau_c}{1 + (2\omega\tau_c)^2} \right) \quad (4.3)$$

wobei γ das gyromagnetische Verhältnis und τ_c die Korrelationszeit (ein Maß für die Umorientierung des Moleküls) sind. $\langle H^2 \rangle$ ist das zweite Moment des Systems

$$\langle H^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_i \frac{9}{16} \gamma^2 \hbar^2 \sum_{k \neq i} \left(\frac{3 \cos^2 \theta_{ik} - 1}{r_{ik}^3} \right)^2 \quad (4.4)$$

Für das 2-Protonen-System des Wassermoleküls ($N = 2$) ergibt sich:

$$\langle H^2 \rangle = \frac{9}{16} \gamma^2 \hbar^2 \left(\frac{3 \cos^2 \theta_{ik} - 1}{r_{ik}^3} \right)^2, \quad (4.5)$$

wobei \hbar das Plancksche Wirkungsquantum, θ_{ik} den Winkel zwischen dem Kernverbindungsvektor und äußeren Magnetfeld B_0 und r_{ik} die Länge des Kernverbindungsvektor bezeichnen.

Aus (4.3) und (4.5) erhält man unter der Bezeichnung aller festen und einstellbaren Größen durch einen Koeffizient $K(r, \tau_c)$:

$$\frac{1}{T_2} = K(r, \tau_c) (3 \cos^2 \theta_{ik} - 1)^2. \quad (4.6)$$

Hieraus folgt, dass die Relaxationszeit T_2 durch den winkelabhängigen Term $(3 \cos^2 \theta_{ik} - 1)^2$ geprägt wird, der bei einem Winkel θ_{ik} von $54,7^\circ$ („magischer Winkel“) Null wird. Mit (4.6) ergibt sich aus (4.2) die Abhängigkeit der MR-Intensität von der Orientierung des Proton-Proton-Verbindungsvektors zum äußeren Magnetfeld B_0 für ein T_2 -gewichteten NMR-Experiment:

$$I \propto e^{-\left(3 \cos^2 \theta_{ik} - 1\right)^2}. \quad (4.7)$$

4.2. Modelle kollagener Struktur

Um die Orientierung der einzelnen Wassermoleküle des kollagenen Knorpels im Magnetfeld B_0 mit dem Verlauf der Fasern zu verknüpfen und deren Intensitätsbeitrag zu berechnen, werden zwei theoretischen Faserverteilungsmodellen betrachtet.

4.2.1. Kegel-Modell

Eine MR-Abbildung stellt eine Matrix aus Bildpunkten dar, die einem endlichen Volumenelement (Abb. 4.2a) der Probe entsprechen. Da bei realen μ MRT-Experimenten ein Volumenelement Abmessungen in der Größenordnung von $40 \times 40 \times 300 \mu\text{m}$ oder größer besitzt, tragen zum NMR-Signal dieses Voxels (aus engl. *volumetric + pixel* = „Volumenbildelement“) mehrere Kollagenfaserabschnitte bei. In Abhängigkeit von der Position dieses Volumenelements innerhalb der Knorpelschicht erwartet man – unter der Annahme einer anisotropen Knorpelstruktur – eine gewisse Vorzugsrichtung der Kollagenfasern und damit die Richtung des Proton-Proton-Verbindungsvektors der Wassermoleküle (Abb. 2.8).

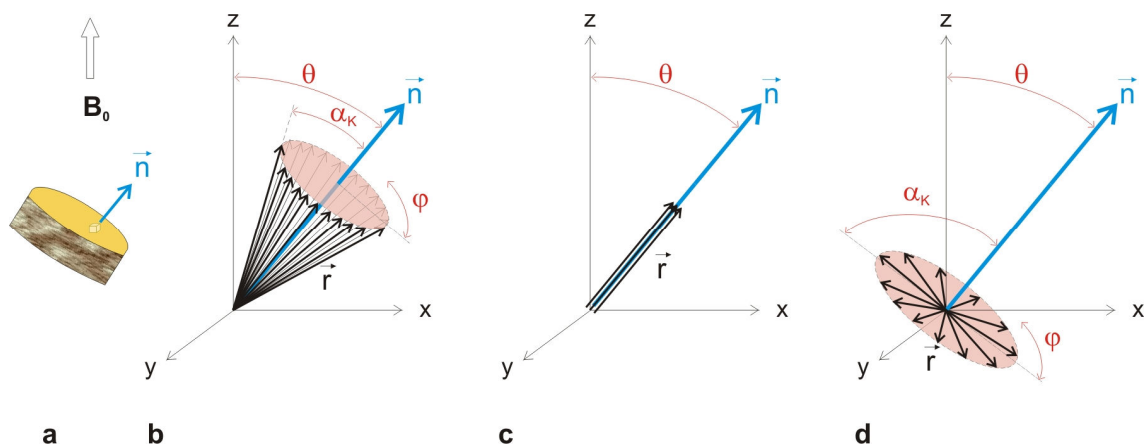


Abb. 4.2. Kegel-Modell der Kollagenfaserverteilung im Knorpel. \vec{r} - Proton-Proton-Verbindungsvektor; \vec{n} - Knorpelnormale; θ – Winkel zwischen der Hauptausrichtung der Kollagenfaser und dem äußeren Magnetfeld B_0 ; α_K – Kegel-Öffnungswinkel; φ - Umlaufwinkel.

Im Allgemeinfall betrachtet man bei Verwendung eines Kegel-Modells (Abb. 4.2) eine kegelförmige Verteilung der Proton-Proton-Verbindungsvektoren \vec{r} (weiter im Text kurz „Verbindungsvektor“) mit dem Anfang im Koordinatenursprung (Abb. 4.2b). Diese Vektoren sind um die Normale \vec{n} zur Knorpeloberfläche (weiter als „Knorpelnormale“ genannt) gleichmäßig verteilt, wobei diese Auffächerung durch den Öffnungswinkel $\alpha_K = [0^\circ, 90^\circ]$ und den Umlaufwinkel $\varphi = 0 \dots 2\pi$ angegeben wird. Für

die Betrachtung des Verhaltens der Intensität in Abhängigkeit von der Ausrichtung der Probe im äußeren Magnetfeld B_0 wurde der Winkel θ eingeführt. Mit diesem Winkel wird auch die Hauptausrichtung der Kollagenfasern beschrieben.

Zur Berechnung der Orientierungsabhängigkeit der MR-Intensität nach (4.7) benötigt man die Darstellung des Kosinus des Winkels zwischen dem Verbindungsvektor und dem äußeren Magnetfeld:

$$\cos \theta = \cos \angle(\vec{r}, \vec{e}_z) = \frac{\vec{r} \cdot \vec{e}_z}{|\vec{r}| \cdot |\vec{e}_z|} = \vec{r} \cdot \vec{e}_z \quad (4.8)$$

Für die Auffächerung des Bündels lässt sich der Vektor \vec{r} geometrisch in Kugelkoordinaten erfassen:

$$\vec{r}(1, \alpha, \varphi) = \begin{pmatrix} \sin \alpha \cdot \cos \varphi \\ \sin \alpha \cdot \sin \varphi \\ \cos \alpha \end{pmatrix} \quad (4.9)$$

Eine Drehung des Kegels um die y -Achse in der xz -Ebene beschreibt die Rotationsmatrix:

$$R_y(\theta) = \begin{pmatrix} \cos \theta & 0 & \sin \theta \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin \theta & 0 & \cos \theta \end{pmatrix} \quad (4.10)$$

Damit ergibt sich aus (4.8) – (4.10) für den Winkel eines beliebig orientierten Verbindungsvektors:

$$\begin{aligned} \cos \theta = R \vec{r} \cdot \vec{e}_z &= \begin{pmatrix} \cos \theta & 0 & \sin \theta \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin \theta & 0 & \cos \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \sin \alpha \cdot \cos \varphi \\ \sin \alpha \cdot \sin \varphi \\ \cos \alpha \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{pmatrix} = \\ &= \cos \theta \cos \alpha - \sin \theta \sin \alpha \cos \varphi \end{aligned} \quad (4.11)$$

Unter Annahme einer Rotationssymmetrie bedingten gleichmäßigen Winkelverteilung des Faserbündels um den Winkel φ erhält man (4.7) und (4.11):

$$I(\alpha_K, \theta) \sim \exp \left\{ \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} - \left(3(\cos \theta \cos \alpha_K - \sin \theta \sin \alpha_K \cos \varphi)^2 - 1 \right)^2 d\varphi \right\} \quad (4.12)$$

Nach Integration über $\varphi = 0 \dots 2\pi$ ergibt sich:

$$\begin{aligned} I(\alpha_K, \theta) \sim \exp \left\{ - \left[\left(3 \cos^2 \theta \cdot \cos^2 \alpha_K - 1 \right)^2 + 27 \cos^2 \theta \cdot \cos^2 \alpha_K \cdot \sin^2 \theta \cdot \sin^2 \alpha_K + \right. \right. \\ \left. \left. + \frac{27}{8} \sin^4 \theta \cdot \sin^4 \alpha_K - 3 \sin^2 \theta \cdot \sin^2 \alpha_K \right] \right\} \end{aligned} \quad (4.13)$$

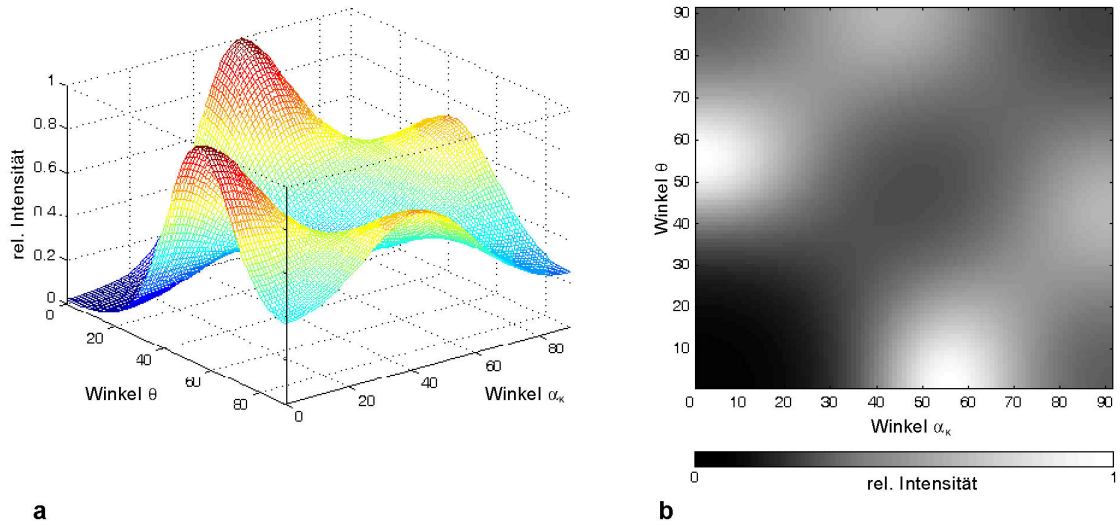


Abb. 4.3. Abhängigkeit der NMR-Intensität von den Winkeln θ zwischen der Hauptrichtung der Kollagenfaser und dem äußeren Magnetfeld B_0 und dem Öffnungswinkel α_K im Falle des Kegel-Modells. **a:** Dreidimensionale Darstellung. **b:** Grauskala-Bitmap-Darstellung.

Für α_K können zwei Spezialfälle betrachtet werden:

- $\alpha_K = 0^\circ$. Wie man auf Abb. 4.2c erkennt, verlaufen unter dieser Bedingung alle Fasern parallel zur Knorpelnormalen \vec{n} . Ein solcher Verlauf kennzeichnet die radiale Zone des adulten Knorpels (s. Kap. 2.1.2.2). Aus (4.13) ergibt sich für die Abhängigkeit der Voxel-Intensität von der Orientierung θ der Knorpelnormalen \vec{n} zum statischen Magnetfeld B_0 :

$$I_{rad} = I(\theta)|_{\alpha_K=0^\circ} \propto e^{-(3\cos^2\theta-1)^2} \quad (4.14)$$

Aus Abb. 4.3 ist erkennbar, dass in diesem Fall ($\alpha_K = 0$) die Intensität bei einem Winkel von $54,7^\circ$ („magischer Winkel“) ihren Maximalwert erreicht.

- $\alpha_K = 90^\circ$. Die Verteilung der Kollagenfaser in einer Ebene senkrecht zu der Knorpelnormale (Abb. 4.2d) entspricht der mit der isotropen Faserausrichtung in der Ebene parallel zur Knorpeloberfläche Tangentialfaserschicht des Gelenkknorpels (s. Kap. 2.1.2.2). Aus (4.13) erhält man unter dieser Bedingung:

$$I_{tan} = I(\theta)|_{\alpha_K=90^\circ} \propto e^{-\left(\frac{27}{8}\sin^4\theta - 3\sin^2\theta + 1\right)} \quad (4.15)$$

Für diesen Verlauf ist bei einem Winkel von etwa 41° ein um ca. 30% kleinerer Intensitätspeak als für die radialen Fasern charakteristisch (Abb. 4.3).

4.2.2. Bündel-Modell

Das „Bündel-Modell“ geht davon aus, dass im einfachsten Fall eine Gleichverteilung der Kollagenfasern über einen Winkelbereich α_B (Bündel-Öffnungswinkel) um die mittlere Orientierung θ zum statischen Magnetfeld im Knorpel existiert. Der Unterschied in den Berechnungen zwischen dem Bündel-Modell und dem Kegel-Modell besteht in der Notwendigkeit der Integration aller zwischen der mittleren Kollagenrichtung und dem Öffnungswinkel liegenden Faservektoren (Abb. 4.4). Dieses Modell scheint für die Beschreibung des realen kollagenen Netzwerks im Gelenkknorpel realistischer zu sein.

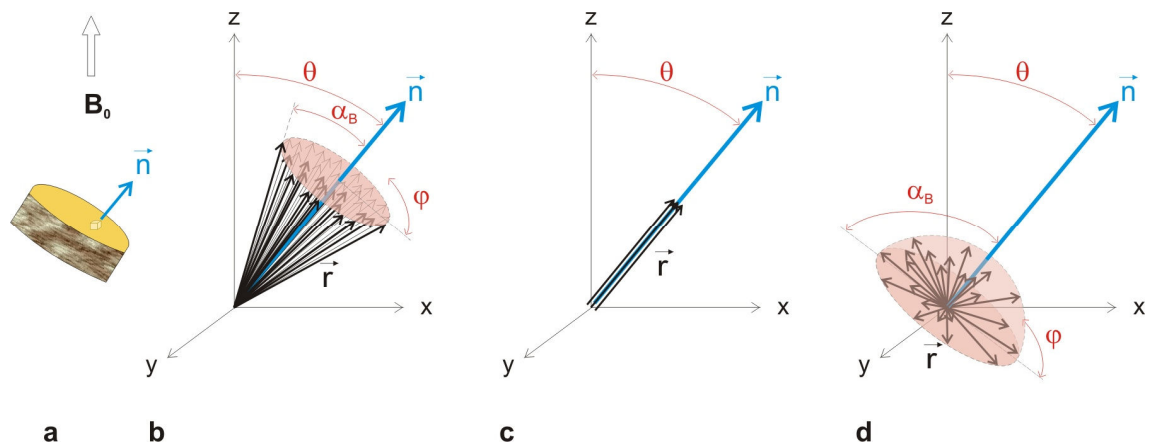


Abb. 4.4. Bündel-Modell der Kollagenfaserverteilung im Knorpel. \vec{r} - Proton-Proton-Verbindungsvektor; \vec{n} - Knorpelnormale; θ - Winkel zwischen der mittleren Kollagenfaserorientierung und dem äußeren Magnetfeld B_0 ; α_B - Bündel-Öffnungswinkel; φ - Umlaufwinkel.

Die Ermittlung der Winkelabhängigkeit erfolgt ähnlich wie beim Kegel-Modell mit der Integration über alle Winkel im Bereich $[0, \alpha_B]$ (unter Annahme einer Gleichverteilung von α_B) und entsprechender Normierung:

$$I(\alpha_B, \theta) \sim \exp \left\{ \frac{1}{2\pi(1 - \cos \alpha_B)} \times \int_0^{\alpha_B} \int_0^{2\pi} \left| 3(\cos \theta \cos \alpha_B - \sin \theta \sin \alpha_B \cos \varphi)^2 - 1 \right|^2 \sin \alpha_B \, d\varphi \, d\alpha_B \right\} \quad (4.16)$$

Die Berechnung des Integrals führt zu folgendem Ausdruck:

$$\begin{aligned}
 I(\alpha_B, \theta) = \exp \left\{ -\frac{1}{8(1 - \cos \alpha_B)} \times \right. \\
 \times \left[\cos \alpha_B \left(12 \cos^2 \theta - 9 \cos^4 \theta - 27 \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \frac{135}{8} \sin^4 \theta + 18 \sin^2 \theta - 8 \right) \right. \\
 \left. + \cos(3\alpha_B) \left(4 \cos^2 \theta - \frac{9}{2} \cos^4 \theta - \frac{9}{2} \cos^2 \theta \sin^2 \theta - 2 \sin^2 \theta + \frac{45}{16} \sin^4 \theta \right) \right. \\
 \left. + \cos(5\alpha_B) \left(\frac{27}{10} \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \frac{9}{10} \cos^4 \theta - \frac{27}{80} \sin^4 \theta \right) \right] \Bigg|_0^{\alpha_B} \Bigg\} \quad (4.17)
 \end{aligned}$$

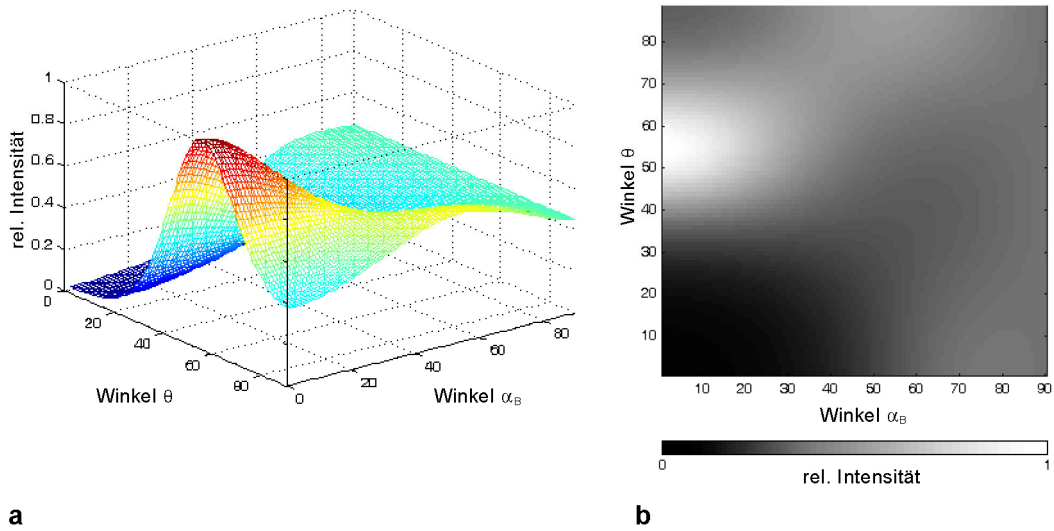


Abb. 4.5. Abhängigkeit der Intensität von der Orientierung θ der Haupttrichtung der Kollagenfasern zum äußeren Magnetfeld B_0 und dem Öffnungswinkel α_B bei Verwendung des Bündel-Modells. **a:** Dreidimensionale Darstellung; **b:** Grauskala-Bitmap-Darstellung.

Wenn man ähnlich wie beim Kegel-Modell die beiden Spezialfälle ($\alpha_B = 0^\circ$ und $\alpha_B = 90^\circ$) betrachtet, ergibt sich eine analoge Intensitätsabhängigkeit für $\alpha_B = 0^\circ$ (Abb. 4.2c und 4.4c, 4.3 und 4.5). Für $\alpha_B = 90^\circ$ erfolgt die Integration über alle Winkel im Bereich $(0^\circ, 90^\circ]$, so dass erwartungsgemäß keine Winkelabhängigkeit vorliegt (Abb. 4.5). Eine solche ideale Gleichverteilung der Kollagenfasern über alle Richtungen ist für die isotrope Zone des Knorpels charakteristisch (s. Kap. 2.1.2.2).

Die Beziehung (4.17) ist unter Berücksichtigung entsprechender Normierung auch für die Betrachtung des Intensitätsverlaufs in einem Öffnungswinkelbereich $[\alpha_1, \alpha_2]$ anwendbar. Somit ergibt sich das Kegel-Modell als ein Sonderfall des Bündel-Modells unter der Bedingung $\alpha_1 = \alpha_2$.

Die Spezialfälle der oben betrachteten Modelle lassen sich in Bezug auf die Faserausrichtung in der Tabelle 4.1 und auf der Abbildung 4.6 zusammenfassen:

Tab. 4.1. Spezialfälle der Faserausrichtungsmodelle.

Faserausrichtung	Beziehung	Bedingung
ideal radial	$I_{rad} = \infty e^{-\left(3\cos^2\theta - 1\right)^2}$	$\alpha_{K, B} = 0^\circ$, Kegel- und Bündel-Modell
ideal tangential	$I_{tan} = \infty e^{-\left(\frac{27}{8}\sin^4\theta - 3\sin^2\theta + 1\right)}$	$\alpha_K = 90^\circ$, Kegel -Modell
ideal isotrop	$I_{iso} = const$	$\alpha_B = 90^\circ$, Bündel-Modell

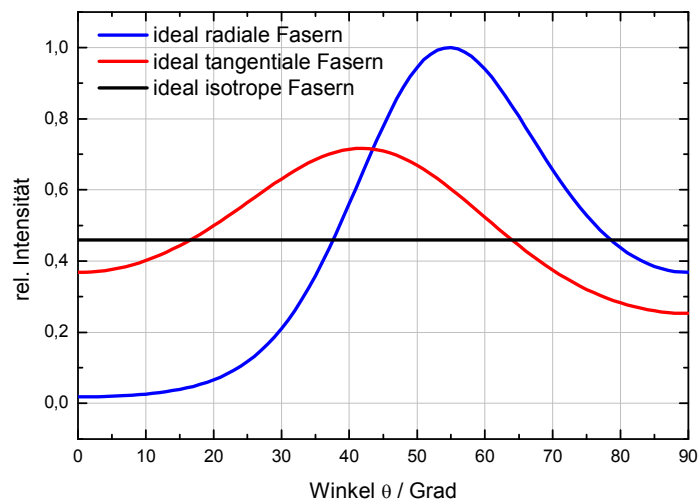


Abb. 4.6. Intensitätsverlauf in Abhängigkeit von dem Winkel θ zwischen der Haupttrichtung der Kollagenfaser und dem äußeren Magnetfeld B_0 bei den Spezialfällen der Kegel- bzw. Bündel-Modelle.

In den dargestellten Modellen wurde von einer gleichmäßigen Winkelverteilung innerhalb eines Bereichs $\alpha = [0, \alpha]$ ausgegangen. In realen biologischen Systemen wird man mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine komplizierte ungleichmäßige Verteilungsfunktion treffen. Es wurde jedoch gezeigt [Seidel 2004], dass bei relativ kleinen Öffnungswinkeln ($0^\circ \dots 30^\circ$) die beschriebene Modelle gut anwendbar sind.

Die Integration der Verhältnisse (4.16) bzw. (4.16) führt zu analytischen Lösungen (4.13) bzw. (4.17). Das erleichtert die grafische Darstellung (Abb. 4.3, 4.5) und ermöglicht direkte Intensitätsberechnungen zur Beobachtung nicht nur der Allgemeinfälle ($\alpha = 0^\circ$, $\alpha = 90^\circ$, $\theta = 0^\circ$, $\theta = 90^\circ$), wie es in vorhergehenden Arbeiten gemacht wurde [Reibetanz 2002(1)], sondern auch der Übergänge in den Kollagenfaserorientierungen. Dies ist sowohl für die Betrachtung der druckbedingten Transformationen als auch für die Beurteilung der Integrität des Kollagennetzwerkes von Bedeutung.

Kapitel 5. Experimentelle Methoden

5.1. Probenmaterial

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden NMR-mikroskopische sowie polarisationsmikroskopische Messungen an tierischem und teils menschlichem Probenmaterial durchgeführt. Für Belastungsuntersuchungen wurde der Knorpel von erwachsenen Schafen (Rauhwolliges Pommersche Landschaf, durchschnittlich 3 Jahre alt) entnommen. Der Vorteil des Schafknorpels liegt in der schnelleren Entwicklung der adulten Kollagenstruktur (ab einem Alter von etwa 1,5 Jahren) im Vergleich zur Entwicklungszeit des Schweineknorpels von ca. 3 Jahren [Reibetanz 2002(2), Gründer 2006] (vgl. Abb. 2.10). Die Schafgelenke wurden als Restmaterial unterschiedlicher wissenschaftlicher Projekte der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig bezogen. Damit wurden die dargestellten Untersuchungen zu keinem direkten Auslöser für die Tötung der Tiere. Das Alter der Schafe wurde vom Ohretikett abgelesen und der Gesundheitszustand vom Tierarzt als unauffällig bezeichnet. Zur Validierung der bestehenden unterschiedlichen Ansichten über den Aufbau der chondralen Ultrastruktur (s. Kap. 2.1.2.2) und die Konsequenzen für die MRT-Darstellung des Knorpels wurden Proben von einem Menschenknie (weibl. 92 Jahre, bezogen vom Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät der Universität Leipzig) sowie von einem adulten Schwein (7 Jahre, bezogen vom Schlachthof Wurzen) analysiert.

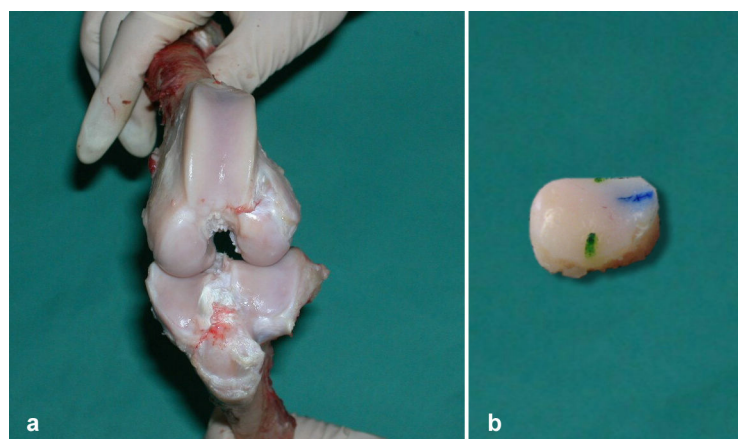


Abb. 5.1. Präparation der Schafgelenke. **a:** Freilegung der Gelenkkapsel; **b:** Knorpel-Knochen-Stanzzyylinder; Markierung der Körperebenen.

Die Gelenke von Schaf und Schwein wurden unmittelbar nach der Schlachtung entnommen und anschließend für die MRT-Experimente präpariert. Dafür wurde die Gelenkkapsel freigelegt und aus der Kontaktstelle Femur-Tibia bei einer normalen Gelenkbeugung die entsprechenden Hauptbelastungszonen ermittelt. Auf den ausgewählten Knorpelregionen wurden coronare (blau) bzw. sagittale (grün) Schnittebenen gekennzeichnet, danach wurden diese Stellen von den Kondylen abgetrennt und zu Knorpel-Knochen-Zylindern mit einem Durchmesser von 15 mm und einer Knochenschicht von etwa 3–5 mm ausgestanzt (Abb. 5.1).

Die Lagerung der Proben, eingewickelt in eine dünne Parafilm „M“-Folie (American National Can, Greenwich, USA), erfolgte bei einer Temperatur von 5° C in einer antibakteriell wirkenden wässrigen Lösung von Ethylmercurithiosalicylat-Natriumsalz (Merthiolat), die keinen nachweisbaren Einfluss auf die NMR-Eigenschaften des Knorpelgewebes hat [Wagner 1995].

Die menschlichen Untersuchungsmaterialien sind nach dem Tod im eingefrorenen Zustand dem Gelenk mit Hilfe einer Spezialsäge entnommen und bei einer Temperatur von ca. –20°C gelagert worden. Diese Art der Knorpelprobenlagerung verursacht ebenfalls keine NMR-relevanten Änderungen der Struktur [Wagner 1995].

5.2. Natürliche Faserausrichtung

Um die natürliche Ausrichtung von Kollagenfasern innerhalb der Knorpelschicht von den für die Druck-Experimente vorgesehenen Proben beurteilen zu können, wurden vorab μ MRT-Messungen bei unterschiedlicher Orientierung der Proben zum Magnetfeld B_0 durchgeführt. Da die Signalintensität von der Orientierung der Knorpelprobe im Magnetfeld abhängig ist und für die radial gerichtete Fasern den Höchstwert bei dem magischen Winkel aufweist, konnte man auf der Basis dieser orientierungsabhängigen Messungen die mittleren lokalen Faserausrichtungen innerhalb einer Schicht ermitteln.

5.2.1. Durchführung der Messung

Die präparierten Proben wurden in einen speziell für die Durchführung von Rotationsexperimenten entwickelten NMR-Probekopf-Aufsatz (Abb. 5.2a) gebracht und so darin platziert, dass sich die zu messende Ebene parallel zu der Richtung B_0 befindet und um die senkrecht zum Hauptmagnetfeld stehende Achse gedreht werden kann (Abb. 5.2b).

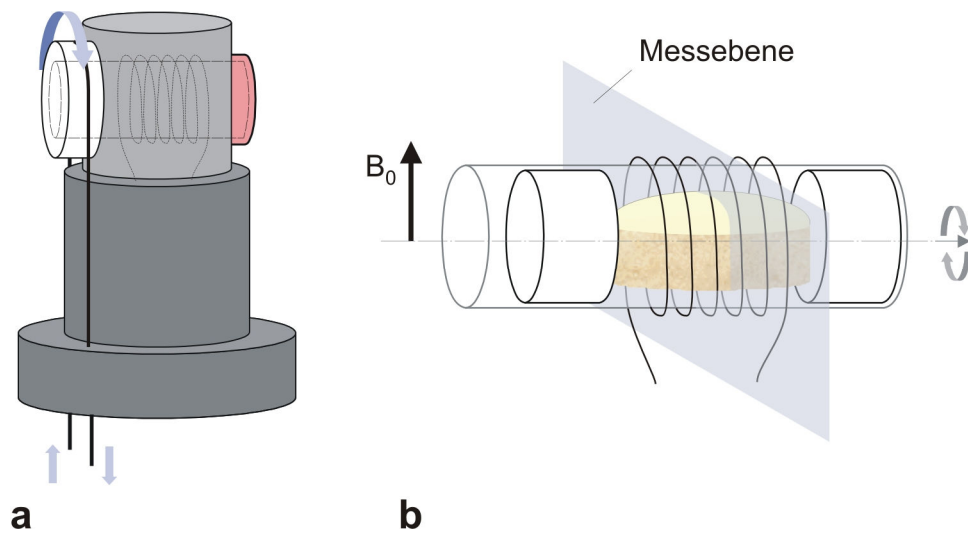


Abb. 5.2. Vorbereitung von Rotationsexperimenten. **a:** Probekopf-Insert für den Einsatz im NMR-Tomographen. Das Glasröhrchen mit der Probe kann mit Hilfe eines um ein Drehrad gewickelten Fadens von außen gedreht werden; **b:** Anordnung und Rotation der Probe relativ zum äußeren Magnetfeld B_0 .

Die Messungen wurden am NMR-Spektrometer DRX-300 (Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten) mit einer Gradienten-Einheit für tomographische Anwendungen bei einer Magnetfeldstärke von 7.1 T durchgeführt. Für die T_2 -gewichteten Aufnahmen wurde eine schnelle modifizierte Spin-Echo-Sequenz RARE (engl. *Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement*) mit folgenden Parametern:

$$TE = 10 \text{ ms} \quad (TE_{\text{eff}}^1 = 20 \text{ ms})$$

$$TR = 1500 \text{ ms}$$

$$RF^2 = 4$$

$$FOV = 18 \times 18 \text{ mm}$$

$$\text{Schichtdicke} = 1 \text{ mm}$$

$$\text{Matrix} = 256 \times 256$$

$$\text{Auflösung} = 70 \times 70 \text{ } \mu\text{m}/\text{Pixel}$$

$$NEX^3 = 2$$

$$\text{Messzeit} = 3 \text{ Min. } 12 \text{ Sek.}$$

angewandt. Die Probe wurde schrittweise um insgesamt ca. 90° gedreht. Bei der Auswertung der Orientierungsabhängigkeit wurden sowohl die Intensitätswerte als auch die genaue Rotation der Proben den MRT-Aufnahmen entnommen. Aus diesem Grund wurde auf präzise Winkeleinstellung bei der Durchführung der Rotationsexperimente

¹ Da beim RARE-Verfahren jedes Echo das Signal für eine Rohdatenzelle liefert, beträgt die endgültige Signalintensität einen Wert, welcher bei einer normalen SE-Sequenz mit einer $TE_{\text{eff}} = TE * RF / 2$ gemessen worden wäre.

² RARE-Faktor bestimmt die Anzahl von Echos während einer Anregung.

³ Anzahl von Akkumulationen (engl. *Number of Excitations*)

verzichtet. Wegen der Ungenauigkeit der Drehung variierte die Schrittzahl von 6 bis 12. Es wurde in sagittale und coronare Richtung gemessen.

Bei T_2 -gewichteten Aufnahmen erscheint der Knorpel normalerweise relativ dunkel, was die Ermittlung der Knorpelgewebegrenzen erschwert. Aus diesem Grund wurde eine protonengewichtete Aufnahme pro Bilderreihe gemacht. Dafür wurde eine Gradienten-Echo-Sequenz mit folgenden Parametern:

TE = 2 ms

TR = 100 ms

FOV = 15×9 mm

Schichtdicke = 1 mm

Matrix = 128×128

Auflösung = 117×70 $\mu\text{m}/\text{Pixel}$

NEX = 4

Messzeit = 51 Sek.

verwendet. Abb. 5.3d zeigt, dass die gesamte Knorpelschicht bei sehr kurzen TE hell erscheint, so dass die Knorpeldicke gut bestimmbar ist.

5.2.2. Auswertung

Nach der Messung standen für jede Probe zwei Bilderreihen (sagittal und coronar) mit unterschiedlichen Drehwinkeln im Bereich von 0° bis 90° zur Verfügung. Nahezu jedes Bild enthielt innerhalb der Knorpelschicht eine deutlich differenzierbare hyperintense Zone (Abb. 5.3a), die auf Regionen mit überwiegend im magischen Winkel zu der Richtung B_0 verlaufende radiale Kollagenfasern deutete (Abb. 5.3b). In Abb. 5.3 ist das Schema der Auswertung von Rotationsexperimenten dargestellt.

Wie in Kap. 4 bereits erklärt wurde, beruht die T_2 -Anisotropie der Knorpelstruktur auf der dipolaren Wechselwirkung von Protonen der an Proteoglykane gebundenen Wassermoleküle. Aus diesem Grund lässt sich die Anordnung der kollagenen Matrix nur indirekt von der Ausrichtung dieser PG-gebundenen Protonen ableiten, da die PG-Ketten parallel zu den Kollagenfasern orientiert sind (Kap. 2.1.2.1). Um die kollagene Struktur unmittelbar zu erfassen, verwendet man u.a. Polarisationsmikroskopie, mit der, auf Grund der doppelbrechenden Eigenschaften von Kollagen, die Faserorientierung bestimmbar ist. Deshalb wurden im Anschluss auch die PLM-Untersuchungen durchgeführt, um diese mit den Daten aus den Rotationsexperimenten zu vergleichen (Kap. 5.4).

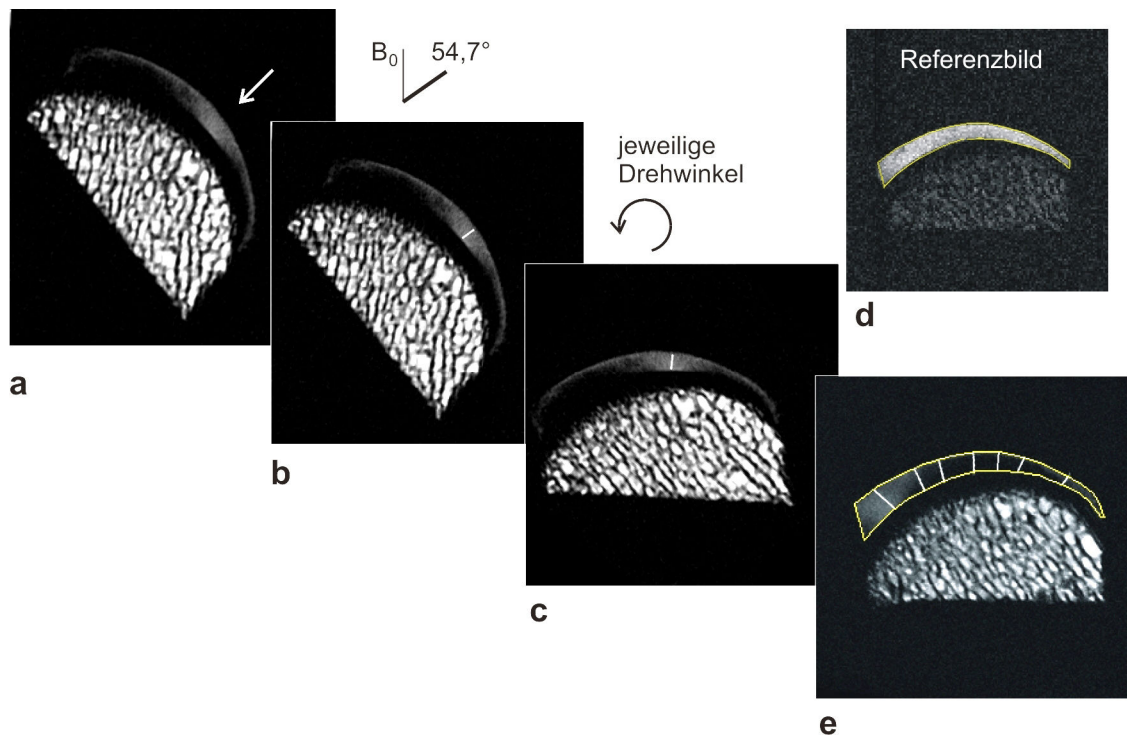


Abb. 5.3. Auswertung von Rotationsexperimenten. **a:** Beispielsbild einer Aufnahme beim Drehwinkel von 50° mit deutlich sichtbarem hyperintensiven Bereich; **b:** Setzen einer Faserrichtung-Marke; **c:** Rückdrehung des Bildes um den jeweiligen Winkel; **d:** Ermittlung der (unteren und oberen) Knorpelgrenzen; **e:** Darstellung der regionalen Faserorientierung nach analoger Bearbeitung und Zusammenführung aller Bilder der Messreihe.

5.3. Dreidimensionale Ultrastruktur

Im Kap. 2.1.2.2 wurde der räumliche Aufbau der kollagenen Faserstruktur diskutiert. Abhängig von den dort dargestellten kontroversen Meinungen, ergeben sich unterschiedliche Auswirkungen bei Druckbelastung (s. Kap. 2.1.2.3), und unterschiedliche Orientierungsabhängigkeiten der Knorpelvisualisierung durch die MRT.

Wenn man die lamellenartige Struktur der Kollagenmatrix mit einer Blätteranordnung eines Buches, und die säulenartige mit dem Besatz einer Bürste vergleicht, ist offensichtlich, dass beim Drücken eines Blätterstapels nur die Biegung in einer Ebene (senkrecht zu den Blättern) beobachtet werden kann. Bei den Borsten sind dagegen Krümmungen in alle räumlichen Richtungen möglich.

Überträgt man diese Überlegungen auf die Knorpelmatrix, kommt man zur Feststellung, dass bei der lamellenartigen Struktur, anders als bei der säulenartigen, die druckbedingte Netzwerktransformation in unterschiedliche Richtungen ungleich erfolgt.

Bisher fehlen in der Literatur eindeutige Studien, die die *leaf-like* Struktur auf Grund der NMR-Untersuchungen bestätigen oder widerlegen konnten. Ein säulenartiger Aufbau der kollagenen Matrix entspricht der bisher gemessenen MR-tomographischen Abbildung des Knorpels. Deswegen wurde hier nur die Auswirkung einer Lamellenstruktur auf die MRT-Darstellung analysiert. Dafür wurden adulte Knorpelproben vom Menschen und vom Schwein verwendet, die nach Käab et al. eine *leaf-like* Struktur aufzeigen [Käab 1998(2)].

Bei der Vorbereitung des Experiments wurde von folgendem Gedanken ausgegangen: Hat der zu untersuchende Knorpel eine lamellenartige Struktur, so wird die MRT-Abbildung in der Messebene, die parallel zu den Lamellen liegt, keine ausgeprägte Richtungsabhängigkeit der Intensität aufweisen, da die Lamellen aus isotrop orientierten Fasern bestehen. Die Auswahl einer zu den Lamellen parallelen Ebene erfolgte auf Grund der in der Literatur beschriebenen Anordnung der Spaltrichtungen, und folglich den Lamellen, innerhalb des Gelenkes (Abb. 2.12, 2.13). Viele Autoren einigen sich auf überwiegend coronar ausgerichtete Spaltrichtungen in der Hauptbelastungsregion der Gelenke [Speer 1979, Below 2002, Goodwin 2004].

Für dieses Experiment standen insgesamt acht Proben zur Verfügung: vier vom Menschen (weibl., 92 Jahre) und vier von einem 7-jährigen Hausschwein, jeweils von den medialen und lateralen Kondylen des Femurs und der Tibia. Auf Grund des hohen Alters der humanen Probe wurden teils erhebliche Destruktionen der Knorpelmatrix festgestellt, der größte Teil des Versuchsmaterials war jedoch gut verwertbar. Für jede Probe wurden drei Rotationsexperimente durchgeführt:

- Drehung in der coronalen Messebene (Abb. 5.4a)
- Drehung in der sagittalen Messebene (Abb. 5.4b)
- Drehung in der vertikalen Ebene bei der Platzierung des Versuchsstücks mit der Oberfläche parallel zu der Richtung B_0 . Messebene axial (Abb. 5.4c).

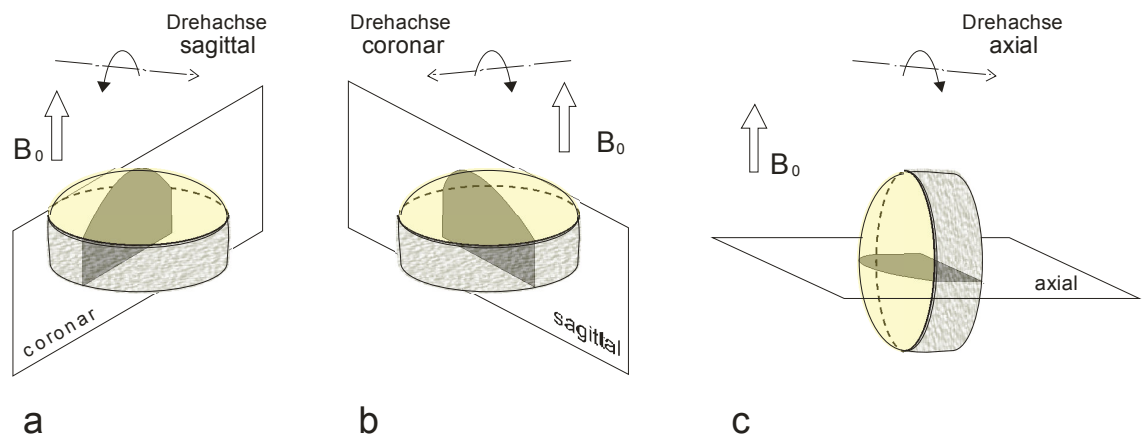


Abb. 5.4. Orientierung der Proben im Magnetfeld B_0 und die Drehrichtung bei den Rotationsexperimenten zur Ermittlung des räumlichen Aufbaus der Kollagenstruktur.

Experimentelle und methodische Bedingungen bei diesen Versuchen waren grundsätzlich identisch mit den Messungen, die in Kap. 5.2 beschrieben sind. Die Proben wurden schrittweise um insgesamt 90° gedreht. Für jede Messreihe wurde die Abhängigkeit der MR-Intensität von der Orientierung zum B_0 -Feld analysiert.

5.4. NMR-Druckexperimente

In der Literatur sind zahlreiche Ergebnisse von in vitro NMR-Untersuchungen vom belasteten Knorpel bekannt [Rubenstein 1996, Gründer 2000, Hanke 2001, Seidel 2004]. In den meisten Arbeiten wurde jedoch aus den druckbedingten Änderungen der Intensität die Lastverteilung innerhalb des Knorpels berechnet oder lediglich qualitative Aussagen über das mögliche Verhalten der Kollagenfasern unter Belastung gemacht.

Mit Hilfe innovativer Untersuchungstechnik mit dem über die ganze Knorpeloberfläche gleichen Druck konnten neue Informationen über das Druckverhalten der Kollagenfasern im artikulärem Knorpel gewonnen werden [Gründer 2006, Garnov 2006].

5.4.1. Durchführung der Messung

Bei der Durchführung von Belastungsexperimenten wurde eine speziell für den Einsatz im NMR-Spektrometer entwickelte Druckapparatur verwendet [Gründer 1998]. Der Druck wird in einem mit entgastem Wasser gefüllten Indeflator durch Verschiebung des Kolbens erzeugt und durch einen flexiblen Hochdruckschlauch auf die Spritze der ins Spektrometer einführbaren Komponente übertragen. Diese Spritze ist mit einer gleichartigen Spritze, in welcher sich die Probe befindet, fest verbunden und überträgt damit den Druck auf die Probe (Abb. 5.5). Die Druckwerte wurden von dem zum Indeflator angeschlossenen Manometer (Norgren GmbH, Alpen) mit einem Messbereich von 0 bis 10 bar abgelesen.

Alle verwendeten Materialien sind auf mögliche magnetische Störungen überprüft worden. Die Verbindung der zwei Spritzen im Probenteil der Apparatur erfolgt durch Messing-Schrauben.

Der über die ganze Oberfläche gleiche Druck wurde mit Hilfe von schnellhärtendem Kaltpolymerisat (Kallocryl, Laborchemie Apolda, Leipzig) realisiert (Abb. 5.6). Die wichtigen Vorteile dieses Materials sind:

- ausreichend niedrige Viskosität innerhalb den ersten 2–3 Min
- schnelle Härtezeiten (ca. 20 Min je nach Mischungsproportionen und Schichtgröße)
- minimale Wärmebildung während des Härtens
- hohe mechanische Festigkeit des gehärteten Harzes
- fehlende Klebehaftung auf dem fetten Knorpelgewebe
- Abwesenheit von Störungserscheinungen im Magnetfeld.

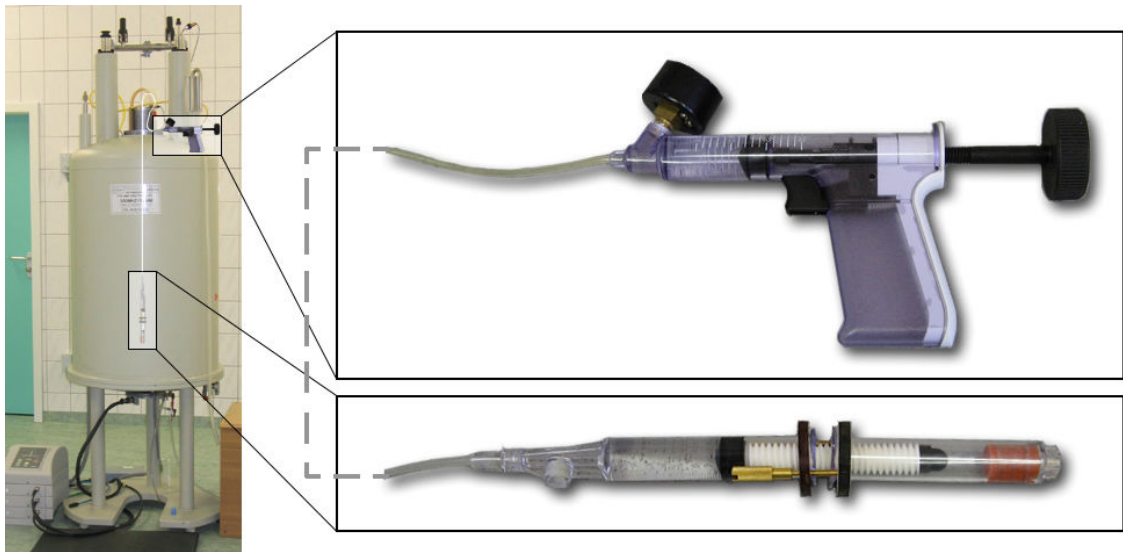


Abb. 5.5. Apparatur zur Durchführung von Druck-Experimenten.

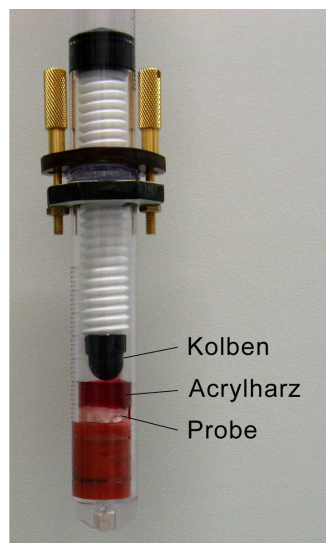


Abb. 5.6. Realisierung gleichen Drucks auf die gesamte Oberfläche der Knorpelprobe bei der Durchführung von Druck-Experimenten.

Die Untersuchungen mit belastetem Knorpel wurden ebenfalls im NMR-Spektrometer DRX-300 durchgeführt. Der Druck wurde schrittweise um 0,1 MPa von 0 bis 1,0 MPa erhöht. Nach jeder Druckerhöhung wurde ca. 15 Min gewartet um der Knorpelmatrix das Gleichgewicht erreichen zu lassen. Nach dieser Zeit wurde jeweils eine T_2 -gewichtete Spin-Echo-Aufnahme mit Hilfe einer Multi-Echo-Sequenz in sagittale und coronare Richtung gemacht mit folgenden Parametern:

TE = 10,5; 21,1; 31,7; 42,3; 52,8; 63,4; 74; 84,5 ms (8 Echos)

TR = 500 ms

FOV = 11,4×15 mm

Schichtdicke = 1,5 mm

Matrix = 256×192

Auflösung = 44¹×78 µm/Pixel

NEX = 8

Messzeit = 12 Min. 50 Sek.

Für die Messung wurde möglichst die gleiche Schicht wie beim Rotationsexperiment ausgewählt. Die MRT-Daten jeder Probe bestanden für jede Messrichtung (sagittal und coronar) aus einer Reihe von 11 Aufnahmen mit jeweils 8 Echo-Bildern.

5.4.2. Auswertung

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Druck-Experimente wurde neben der druckbedingten Stauchung der Knorpelschicht und einer allgemeinen Intensitätszunahme der oberen Knorpelzone in der Mitte der Probe auch eine Verschiebung einer hyperintensiven Region vom Rand zur Mitte der Probe beobachtet (Abb. 5.7).

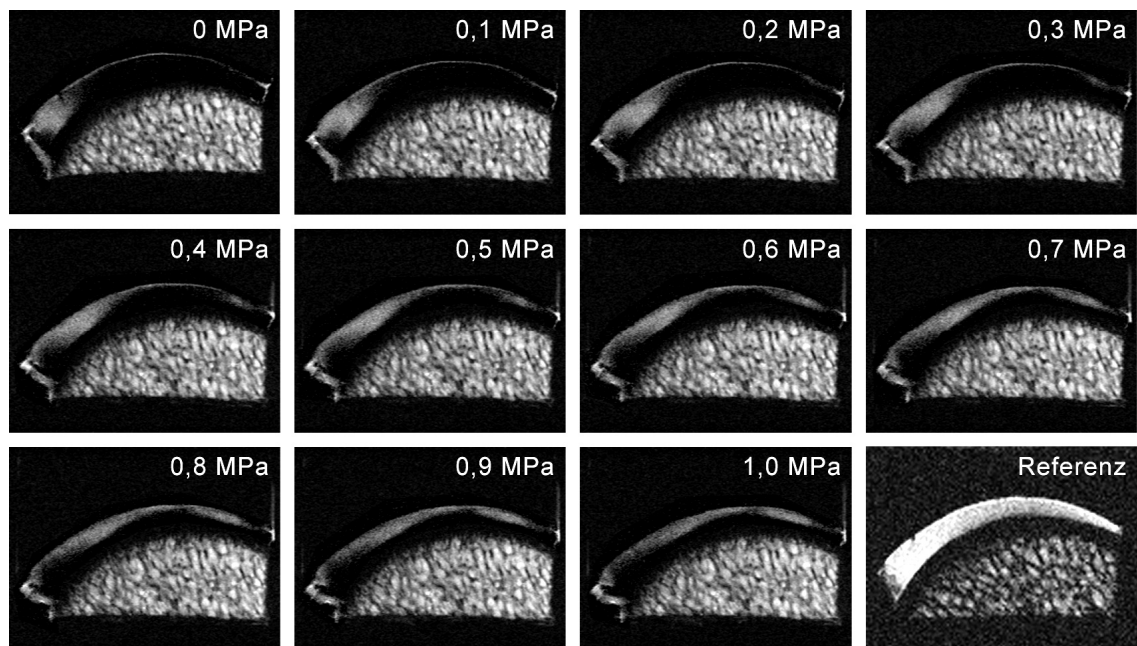


Abb. 5.7. Beispiel für ein Belastungs-Experiment bei gleichem Druck auf der Probenoberfläche (adultes Schaf., mediale Femurcondyle, Echobild mit TE = 20 ms). Neben der Schichtdickenänderung wird ein Effekt der Verschiebung einer Hochintensitäts-Zone (hier: vom linken Rand zu der Mitte) beobachtet.

¹ Da bei den Druck-Experimenten eine feine Knorpelschicht-Dickenänderung erfolgt, wurde eine höhere Auflösung in vertikale Richtung ausgewählt.

Die Zunahme der NMR-Intensität in der Mitte der Probe wurde schon mehrfach bei Druckversuchen auf den Gelenkknorpel beobachtet. Dieser Effekt wird offensichtlich durch die Neigung – und somit die Änderung der Faserrichtung bezüglich des äußeren Magnetfeldes B_0 – verursacht [Rubenstein 1996, Gründer 2000]. Die Verschiebung eines Areals mit erhöhter Intensität lässt sich damit erklären, dass die in dieser Region liegende Kollagenfaser auf Grund unterschiedlicher Ausgangswinkel zu B_0 der gesamten Knorpelschicht (natürliche Wölbung) unter dem Druck geneigt werden und den magischen Winkel $54,7^\circ$ erreichen. Und da die näher zu dem Rand liegende Bereiche ursprünglich stärker zu B_0 geneigt sind, erfüllen sie schon bei niedrigeren Druckwerten die Magischer-Winkel-Bedingung als die weiter vom Rand entfernten Regionen. Eine höhere Belastung verursacht eine größere Neigung der Kollagenfasern bis zu einem Winkel von $54,7^\circ$ und somit zur Verschiebung des Intensitätsmaximums (vgl. Abb. 4.6). Voraussetzung für eine derartige Erklärung ist die Annahme, dass die Kollagenfasern überwiegend radial ausgerichtet sind, was für den adulten Gelenkknorpel zutrifft (vgl. Abb. 2.10).

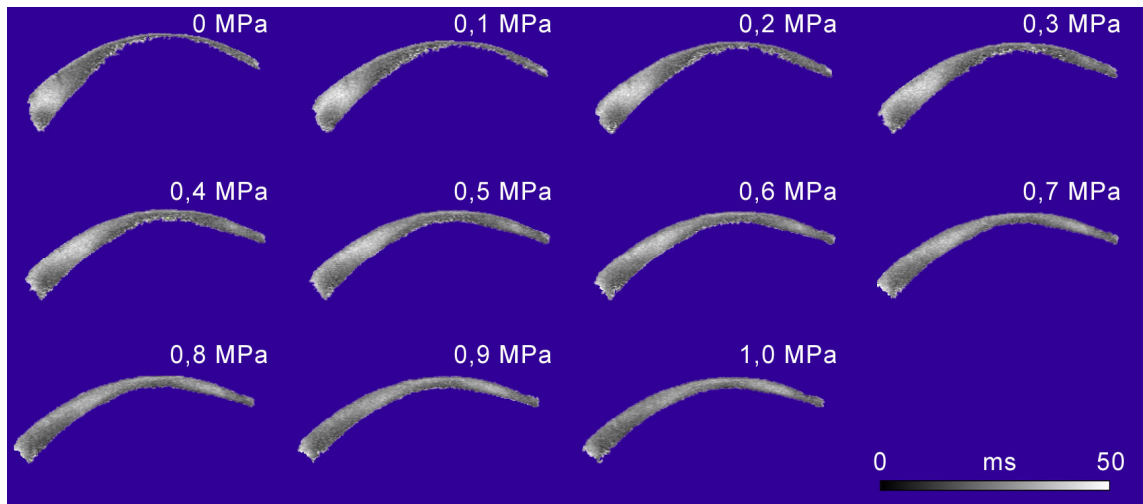


Abb. 5.8. T_2 -Parameterbilder des in Abb. 5.6 aufgeführten Druck-Experimentes. Zur verbesserten Darstellung wurden die Bereiche außerhalb der Knorpelschicht sowie die mit einem T_2 -Wert über 50 ms (z.B. Knochenmark) entfernt.

Es besteht jedoch eine Möglichkeit, dass der beobachtete Effekt eine andere Ursache hat. Dies könnten beispielsweise eine lokale Wasseransammlung und die damit verbundene Protonendichte-Erhöhung sein. In diesem Fall hätten die MR-Bilder keinen deutlichen T_2 -Effekt aufgewiesen. Um diese Tatsache zu überprüfen, wurden ausgehend von den acht Echobildern jeder Messung T_2 -Parameterbilder (auch T_2 -Map genannt) berechnet. Grundlage für die Berechnung sind die gegebenen Intensitätswerte bei unterschiedlichen TE. Die T_2 -Werte werden für jeden Punkt des Bildes nach (4.2) errechnet und in Grauskaladarstellung abgebildet (Abb. 5.8). Die Algorithmen für die Berechnung der parametrischen Bilder sind als Option in nahezu allen MRT-

Bildbearbeitungsprogrammen vorhanden. Die in Abb. 5.8 dargestellten Bilder wurden mit Hilfe des freeware Programms „ImageJ“ (National Institutes of Health, USA) erzeugt. Die Abbildung 5.8. zeigt, die gleiche Verschiebung der hyperintensiven Zone wie in Abb. 5.7. Dies beweist, dass es sich um einen T_2 -Effekt handelt.

Die Auswertung der ausgeführten Druckversuche kann folgende Informationen über die Auswirkung der Belastung auf den Knorpel liefern:

- Dickenänderung der Knorpelschicht
- Intensitätsänderung im Mittelpunkt der Probe und Verschiebung der hyperintensiven Zone und daraus
- Neigung der Kollagenfasern.

Neigung der Kollagenfasern

Die quantitativen Aussagen über die druckbedingte Neigung der Kollagenfasern mit Hilfe von NMR sind zum ersten Mal dank der oben beschriebenen Technologie mit dem homogenen Druck auf der gesamten Knorpeloberfläche möglich. Die von dem Druck verursachte Neigung der Fasern lässt sich aus der Ausgangsausrichtung auf Grund der natürlichen Wölbung ohne Last und der bekannten druckbedingten Neigung zum äußeren Magnetfeld B_0 von $54,7^\circ$ in den Magischer-Winkel-Bereichen ableiten. Die natürliche Ausgangsausrichtung der Fasern entlang der Knorpelprobe wurde auch mit Hilfe von Rotationsexperimenten überprüft und korrigiert (s. Kap. 5.2) sowie von polarisationsmikroskopischen Untersuchungen bestätigt (s. Kap. 5.4).

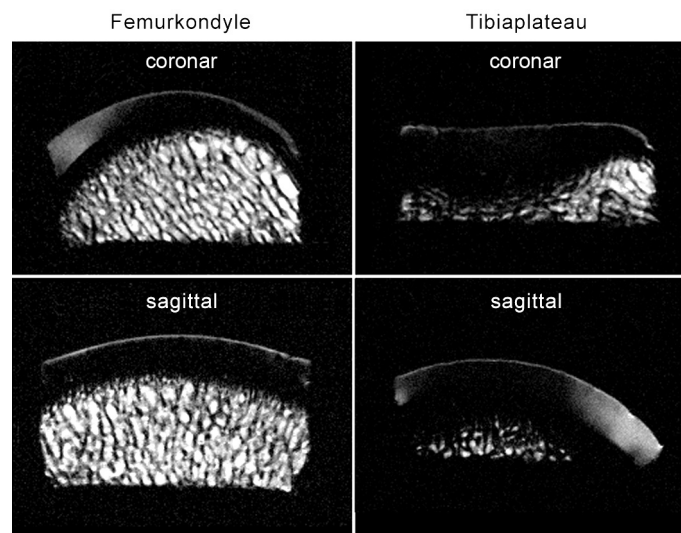


Abb. 5.9. Auswahl einer für die Auswertung von Druck-Experimenten geeigneten Schnittebene.

Zur Auswertung von Druck-Experimenten wurden die Bilder mit einer $TE = 20$ ms verwendet. Es wurden die Bildserien von den Messebenen ausgewählt, die den

ausgeprägtesten Verschiebungseffekt der hyperintensiven Zone zeigten. Dies sind Schnittebenen, bei denen die Probe die größte Oberflächenwölbung zeigt - an den Femurkondylen die coronare, und an den Tibiaplateaus sagittale Richtung (Abb. 5.9).

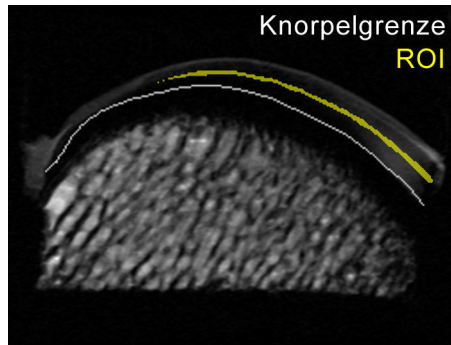


Abb. 5.10. Auswahl der Region of Interest (ROI) für die Auswertung von Druck-Experimenten. Die Knorpelgrenze wurde identisch wie bei den Rotationsexperimenten mit Hilfe einer protonengewichteten Aufnahme ermittelt.

Als ROI wurde eine dünne Zone in der Mitte der Knorpelschicht festgelegt, da in diesem Bereich mit großer Wahrscheinlichkeit eine radiale Ausrichtung der Kollagenfasern zu erwarten ist (Abb. 5.10). Auf Grund unterschiedlicher Knorpelschichtdicken auf der linken und rechten Seite einer Probe wurde zur Auswertung immer die Seite mit der größeren Dicke ausgewählt. Dabei war der Verschiebungseffekt zwar an beiden Seiten sichtbar, jedoch an derjenigen Hälfte mit der dickeren Schicht ausgeprägter.

Die ausgewählten ROIs sind mit Hilfe von ImageJ in die Text-Images, in welchen jeder Bildpunkt als eine absolute Zahl entsprechend dem Intensitätswert dargestellt wird, umgewandelt worden. Diese Daten dienen zur Aufzeichnung des Intensitätsprofils entlang der ROI ($I(x)$, x – horizontale Pixelkoordinate).

Wegen der Richtungsabhängigkeit der Intensität ist die Darstellung jedes Punktes der ROI in Polarkoordinaten ($I(\beta)$, β – Winkel zwischen der Knorpelnormale und der Richtung B_0) notwendig (Abb. 5.12). Die Berechnung der Polarkoordinaten $\beta(x)$ der Punkte innerhalb der ROI wurde mit Hilfe von einem selbstentwickelten GUI-Werkzeug (engl. *Graphical User Interface*) auf der Basis von MATLAB (The MathWorks, Inc. Natick, MA) durchgeführt (Abb. 5.11). In das Fenster der Benutzeroberfläche wurde das BMP-Bild geladen (*Load*), durch Klicken der Maustaste zehn Punkte (*10 Points*) innerhalb der ROI ausgewählt und anschließend auf ein Polynom des 4. Grades gefittet (*Curve*). Die Daten (*Angle to B_0*) wurden in einer Textdatei in Form einer zweizeiligen Matrix mit den Pixel- und entsprechenden Polarkoordinaten $\beta(x)$

$$\begin{array}{cccccc} x_1 & \dots & x_i & \dots & x_n & \\ \beta(x_1) & \dots & \beta(x_i) & \dots & \beta(x_n) & \end{array}$$

gespeichert, welche mit einem anderen Programm (z.B. MS Office Excel oder OriginLab Origin) bearbeitet werden kann.

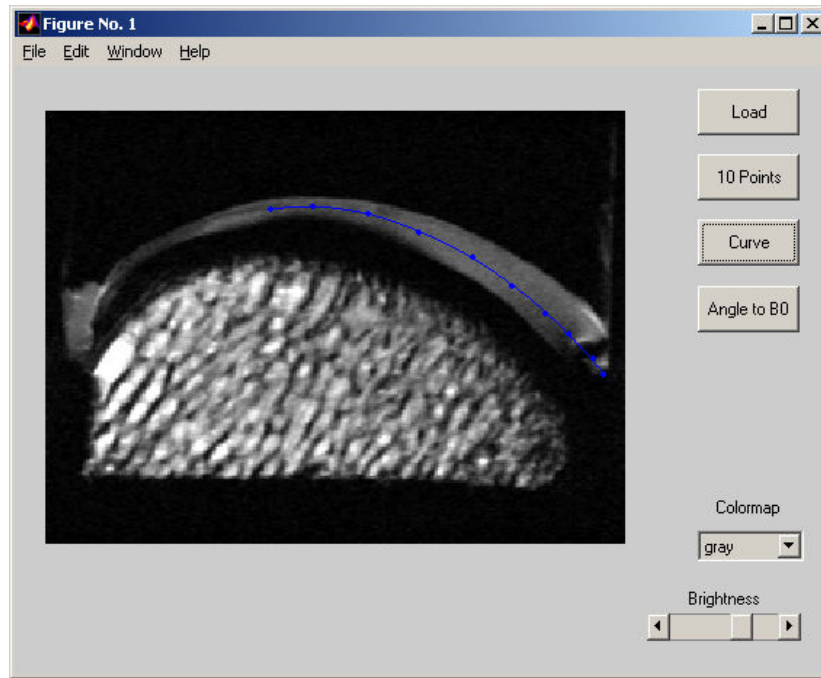


Abb. 5.11. MATLAB GUI-Werkzeug zur Umrechnung der jeweiligen Pixelkoordinaten x in Winkel β zwischen der Knorpelnormale und der Richtung B_0 .

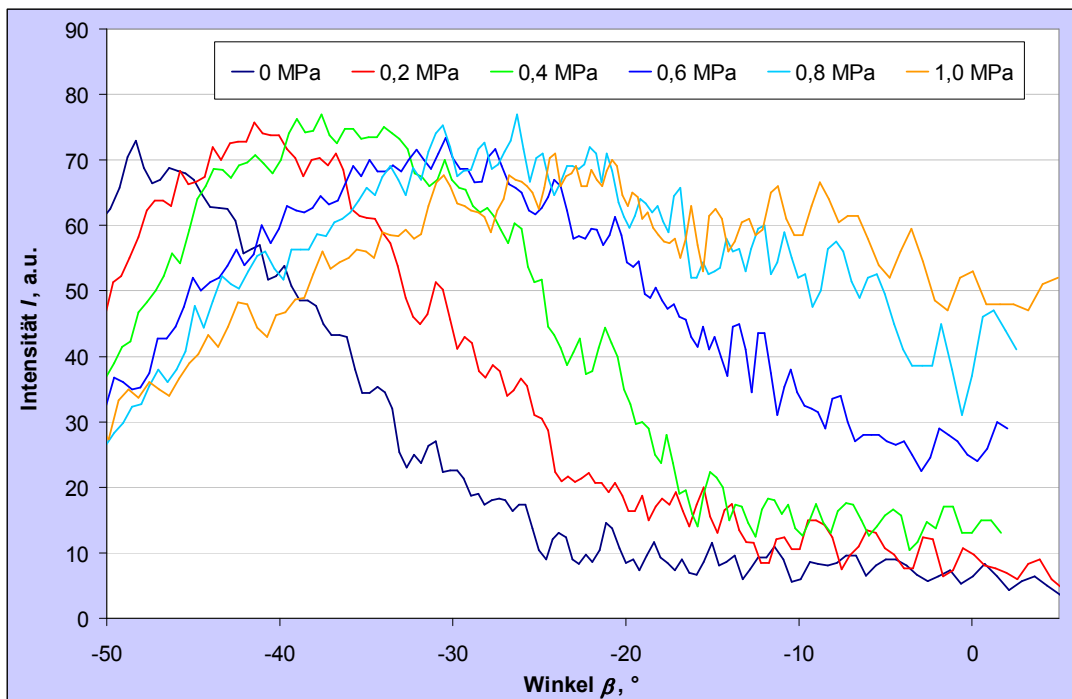


Abb. 5.12. Beispiel für Intensitätsprofile $I(\beta)$ innerhalb der ausgewählten ROIs zur Bestimmung der Koordinaten der Region mit maximaler Intensität.

Darüber hinaus bietet das GUI die Möglichkeit einer Änderung von Farbenpalette (*Colormap: default, gray, hsv, bone*) sowie einer Optimierung der Helligkeit (*Brightness*) des geladenen Bildes.

Aus den Maximalwerten der Intensitätsprofile (Abb. 5.12) lassen sich die Winkelkoordinaten der Region maximaler Intensität (mittlere Orientierung des kollagenen Netzwerks im magischen Winkel zu B_0) in Abhängigkeit vom Druck $\beta^{ma}(p)$ erfassen. Da die Druckeinwirkung in vertikale Richtung erfolgte, wurden die jeweiligen lokalen Druckwerte mit dem Koeffizient $\cos(\beta)$ korrigiert. Aus dieser Information berechnet man die druckbedingte Beugung $\sigma(p)$ der Kollagenfasern (Abb. 5.13) mit Hilfe des folgenden Ausdrucks:

$$\sigma = \theta^{ma} - \beta^{ma} = 54,7^\circ - \beta^{ma} \quad (5.1)$$

Der so erhaltene Neigungswinkel σ kann infolge natürlicher Abweichung der Fasernorientierung von der Richtung der Knorpelnormale auch den ortsabhängigen Winkel σ_0 beinhalten (Abb. 5.13). Die entsprechende Korrektur kann mit Hilfe der in den Rotationsexperimenten ermittelten Faserrichtungsverteilung entlang der Knorpelprobe vorgenommen werden (s. Kap. 5.2).

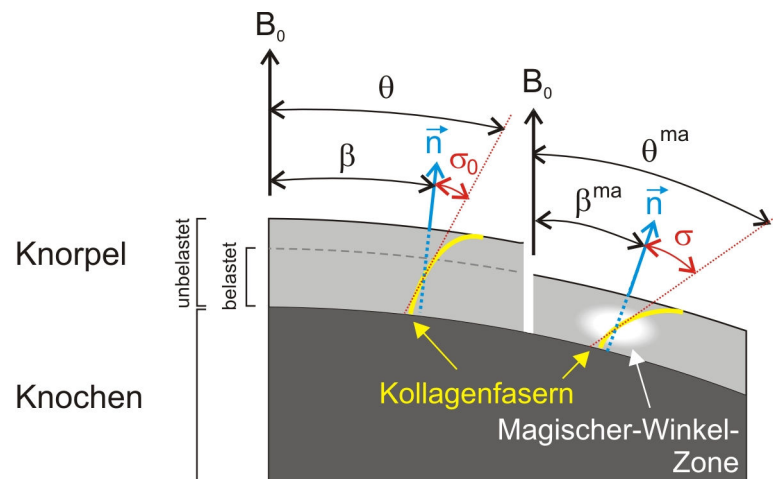


Abb. 5.13. Schematische Darstellung zur Berechnung der druckbedingten Neigung σ aus der Position β^{ma} der Magischer-Winkel-Zone. θ – Winkel zwischen der Vorzugsrichtung der Kollagenfasern und B_0 ; $\theta^{ma} = 54,7^\circ$ – Magischer Winkel; \vec{n} – Knorpelnormale; β – Winkel zwischen der Knorpelnormale und B_0 ; σ_0 – natürliche Abweichung der Faserrichtung von der Knorpelnormale.

Intensitätsänderung im Mittelpunkt der Probe

Um die aus den NMR-Experimenten mit dem homogen über die ganze Knorpeloberfläche verteilten Druck gewonnenen Ergebnisse in der Praxis umsetzen zu können, benötigt man eine Korrelation mit einem unter natürlichen Bedingungen messbaren Parameter. Die frühere MRT-Belastungsuntersuchungen in vivo zeigten die

Möglichkeit, Änderungen der MR-Intensität sowie der Dicke des Knorpels unter dem Druck primär zu erfassen [Gründer 2000, Hardy 2001, Nag 2004, Seidel 2005, Nishii 2008].

Deswegen wurde in den Belastungsexperimenten unter anderem die Auswirkung des angewandten Drucks auf die Intensität in dem mittleren Punkt der Probe untersucht. Die Intensitätswerte wurden dem Profil im Punkt $\beta = 0$ entnommen und die Verhältnisse $I(p)$ für jede Probe erstellt.

Dickenänderung

Neben der Faserausrichtung und der Intensität wurde auch die Dickenänderung der Knorpelschicht unter Belastung analysiert. Die Messung der Schichtdicke wurde in dem Mittelpunkt der Probe sowie an den Stellen mit der Magischer-Winkel-Bedingung durchgeführt und daraus die Homogenität der mechanischen Eigenschaften vom Knorpel bewertet.

5.5. Reproduzierbarkeit der experimentellen Ergebnisse

Die innovativen NMR-Druckexperimente mit dem Acryl-Harz brachten neuartige Ergebnisse, die zur Beobachtung der Knorpelmatrix-Transformation unter der Belastung angewandt werden können. Aus der beobachteten belastungsabhängigen Verschiebung der Magischer-Winkel-Region ergeben sich völlig neue potentielle Möglichkeiten der nichtinvasiven Bestimmung struktureller und biomechanischer Parameter von Gelenkknorpel. Zur Validierung dieses Effektes sind jedoch zusätzliche Untersuchungen notwendig um deren Reproduzierbarkeit zu überprüfen.

Zu diesem Zweck wurden frische Knorpelproben aus dem Knie eines erwachsenen Schafes (3 Jahre) entnommen, präpariert und gelagert wie es in Kap. 5.1 beschrieben. Zur Ermittlung der natürlichen intrakartilaginären Faserausrichtung wurden NMR-Rotationsexperimente durchgeführt (Kap. 5.2.1). Danach erfolgte die erste Serie der μ MRT-Druckexperimente analog zu den in Kap. 5.4.1 beschriebenen. Die Druckbelastung erfolgte in den Schritten: 0 – 0,2 – 0,4 – 0,6 – 0,8 – 1,0 – 1,2 – 1,4 MPa. Nach der ersten Druckserie wurden die Proben aus der Druckapparatur entnommen und bei Kühlschranktemperatur in physiologischer NaCl-Lösung mit Merthiolat (s. Kap. 5.1) für mindestens 30 Std. gelagert, um der Knorpelmatrix den nativen Ausgangszustand erreichen zu lassen. Anschließend folgte die zweite Serie der Druckexperimente unter identischen experimentellen Bedingungen. Dabei wurden die jeweiligen ausgehärteten Acryl-Harz-Formen aus der ersten Serie verwandt, die anhand der, aufgetragene Markierungen auf der Probe platziert wurden.

Die in Folge der Druckversuche aufgenommenen MR-Images wurden ausgewertet (Kap. 5.4.2), die erhaltenen Druckabhängigkeiten der Kollagenfaserneigung aus den ersten und zweiten Experimentenreihen wurden miteinander verglichen und in die anschließende Betrachtung der Reproduzierbarkeit einbezogen.

5.6. *Polarisationsmikroskopische Untersuchungen*

Polarisationsmikroskopie wird im Allgemeinen zur Untersuchung transparenter doppelbrechender Objekte angewendet (s. Kap. 2.1.2.5) und ist für die Darstellung der anisotropen Kollagenstruktur des Knorpels gut geeignet [Romeis 1989, Xia 2001, Nieminen 2001, Reibetanz 2002, Buchholz 2004, Alhadlaq 2004(1)].

In der vorliegenden Arbeit wurde dieses Verfahren zur Ermittlung der natürlichen Kollagenfaserausrichtung angewandt, um die Ergebnisse der μ MRT-Rotationsexperimenten (Kap. 5.2) zu überprüfen.

Die polarisationsoptischen Untersuchungen erfolgten jeweils nach Abschluss der NMR-Studien. Es wurden möglichst die gleichen Schnittebenen wie bei der Auswertung der Druckversuche ausgewählt (s. Kap. 5.4). Zur Präparation der Knorpelproben wurde das Gefriermikrotom Leica CM3050 S (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar) verwendet. Dieses Mikrotom ermöglichte die Anfertigung von Dünnschnitten mit 40 – 60 μ m Schnittdicke. Die Lagerung erfolgte im Kühlschrank bei einer Temperatur von 5°C. Um eine Austrocknung zu vermeiden, wurden die Proben regelmäßig in Merthiolat-Lösung eingetaucht.

Die PLM-Untersuchungen wurden mit Hilfe des Axiolab A Mikroskops (Carl Zeiss Mikroskopie, Jena) mit einer Durchlicht-Polarisation-Ausrüstung (Polarisator, Analysator, Drehtisch) unter Verwendung eines Mikrofotografie-Zusatzes durchgeführt. Es wurde ein Objektiv mit 5-facher Vergrößerung angewandt und die Bilder mit der digitalen SLR-Fotokamera Nikon D 40 aufgenommen.

Das kollagene Netzwerk weist eine optisch anisotrope doppelbrechende Struktur mit einer Durchlassrichtung parallel (bzw. senkrecht) zu den Kollagenfasern auf. Trifft das durch den Polarisator linear polarisierte Licht auf eine solche Struktur und fällt eine der Durchlassrichtungen mit der Lichtschwingungsrichtung zusammen, so geht der Lichtstrahl ungehindert durch und wird auf dem senkrecht zum Polarisator eingestellten Analysator erloschen. Das Bild erscheint dadurch dunkel (Abb. 5.14a). Stimmen die Schwingungsebene des Polarisators und des Objektes nicht überein, so wird der Lichtstrahl im Präparat in zwei zueinander senkrecht schwingende Komponenten aufgespalten und vom Analysator nur teilweise absorbiert, was zu einem hellen Erscheinungsbild führt (Abb. 5.14b).

Somit deuteten dunkle Regionen auf den PLM-Aufnahmen auf parallele (bzw. senkrechte) Anordnung der Kollagenfasern zu der Schwingungsebene des Polarisators hin (Abb. 5.15). Auf diese Weise wurde die Richtung der Kollagenfasern in den Knorpelproben ermittelt und analog zur Auswertung der Rotationsexperimente (s. Kap. 5.2) dargestellt.

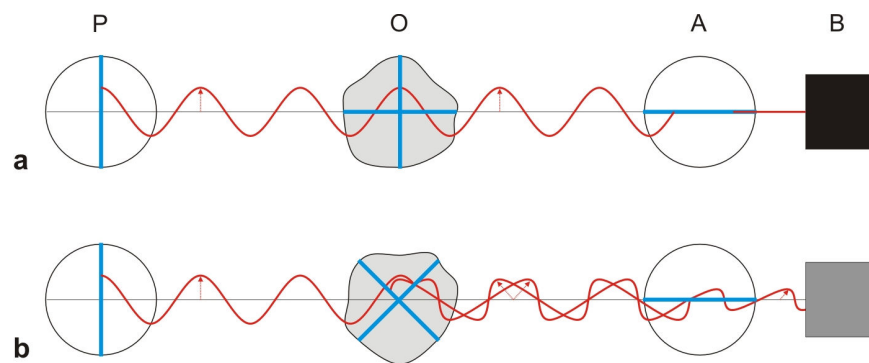


Abb. 5.14. Anwendung der Polarisationsmikroskopie zur Untersuchung doppelbrechender Strukturen. P – Polarisator; O – Objekt; A – Analysator; B – Bild. Mit blauen Linien sind die jeweiligen Schwingungsrichtungen gekennzeichnet.

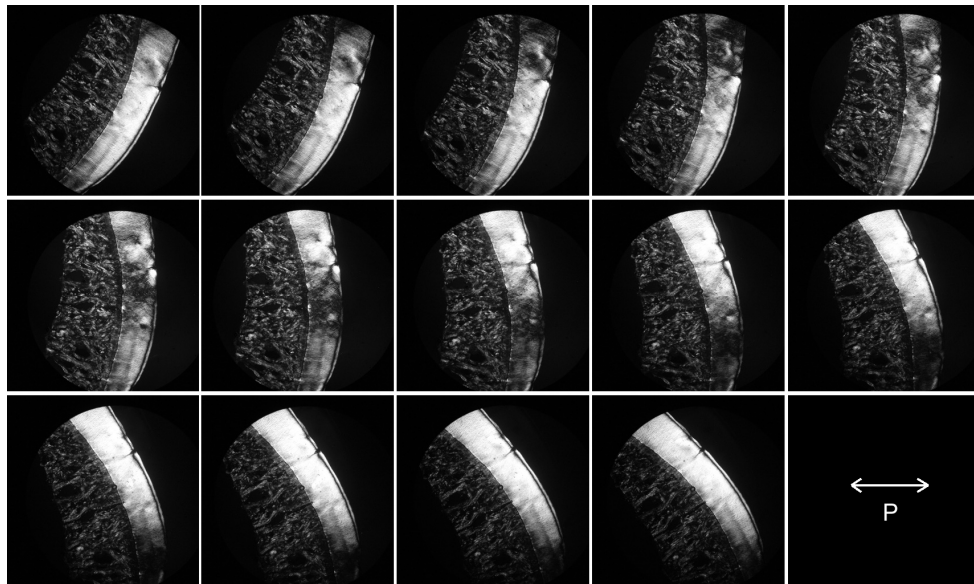


Abb. 5.15. Beispiel von PLM-Aufnahmen der Knorpel-Präparate (adultes Schaf, mediale Femurkondyle, coronar). Die Schwingungsrichtung des Polarisators (P) ist gekennzeichnet.

Kapitel 6. Ergebnisse und Bewertung

6.1. *Bestimmung der nativen Faserausrichtung*

Die natürliche Ausrichtung der Kollagenfaser im artikulären Knorpel weist einen komplizierten Charakter auf, je nach Topographie und Alter [Gründer 2000]. Wie in früheren Arbeiten gezeigt wurde [Benninghoff 1925, Buckwalter 1983, Hagen 1995, Reibetanz 2002(2), Reinert 2001, Nürnberger 2006], nähert sich die kollagene Knorpelstruktur des adulten Knorpels einer idealen Arkadenform, mit überwiegend radial zur Oberfläche und parallel zueinander verlaufenden Fasern in tieferen Knorpelzonen.

Bei den vorangegangenen Untersuchungen der Biegung von Kollagenfasern unter Druck wurde stets eine gleichmäßige und vollkommen radiale Ausrichtung innerhalb des zu untersuchenden Bereiches angenommen. Allerdings wurden einige Unstimmigkeiten gefunden, die eventuell auf eine ungleichmäßige und nicht ideal radiale Faserausrichtung im adulten Knorpel deuteten [Gründer 2006, Garnov 2006].

Dies war Anlass zur genaueren Untersuchung der natürlichen Kollagenfaser-Verteilung, mit dem Ziel, diese Ergebnisse bei der Auswertung der darauf folgenden Druckexperimente zu berücksichtigen.

Die Auswertung der Dreh-Experimente (s. Kap. 5.2) ergab erwartungsgemäß keine vollkommen radiale Faserorientierung innerhalb der Knorpelschicht der untersuchten Kondylen (Abb. 6.1). Die erhaltenen Resultate zeigen die Abweichungen der mittleren Faserausrichtung von einer ideal radialen von 0° bis 22° . Dabei ist die Abweichung (gemessen als Abweichungswinkel σ_0 , vgl. Abb. 5.13) der Fasern in zentralen Regionen (Hauptbelastungsregionen) geringer (0° bis 6°) als auf äußeren Regionen (2° bis 22°). Dies stimmt, wie bereits in Kap. 2.1.2.2 (Abb. 2.9) beschrieben, mit den Ergebnissen vieler Autoren überein [Clark 1990, Clark 1991, Gomez 2000, Goodwin 2004, Nürnberger 2006], und ist wahrscheinlich auf die funktionelle Anpassung an die lokale Belastung zurückzuführen [Broom 1980(2)], denn die Mitte der Probe (Hauptbelastungsregion) entspricht einer Kontaktstelle der Gelenke und somit einem höheren physiologischen mechanischen Stress.

Der Vergleich mit den aus polarisationsmikroskopischen Untersuchungen erhaltenen Resultate (s. Kap. 5.6) zeigt eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der NMR-Drehexperimenten (Abb. 6.1) und erlaubt es, die mit Hilfe dieser Untersuchungen gewonnenen Daten bei der quantitativen Auswertung der Druckversuche zu verwenden.

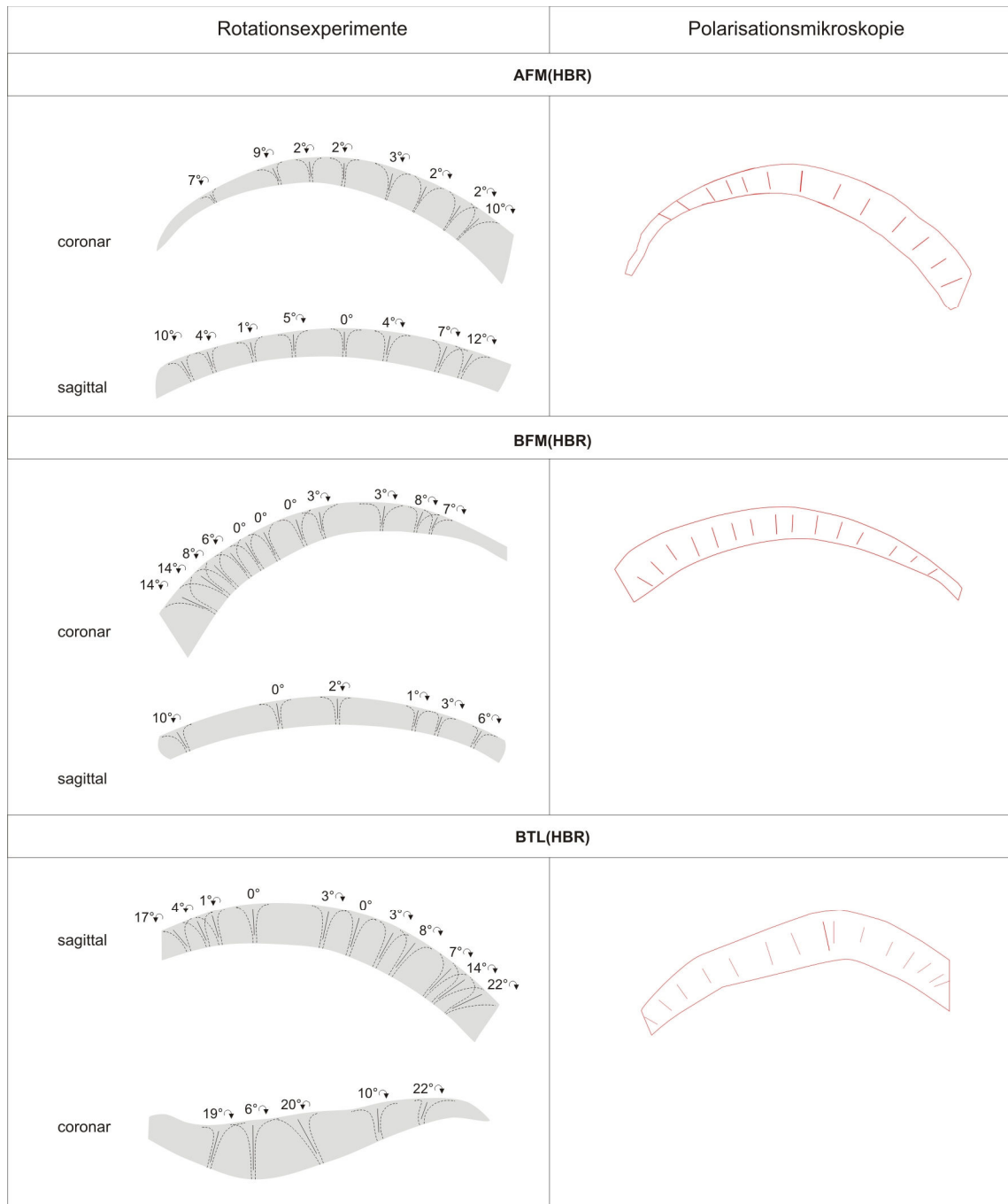


Abb. 6.1. Ermittelte natürliche mittlere regionale Faserausrichtung der Knorpelproben vom adulten Schaf (3 Jahre alt) auf der Basis der NMR-Rotationsexperimente (links) sowie polarisationsmikroskopischer Untersuchungen (rechts). Bezeichnung der Kondyle: A – links, B – rechts, L – lateral, M – medial, F – Femur, T – Tibia, HBR – Hauptbelastungsregion. Die natürliche Abweichung (σ_0) der Hauptausrichtung der Kollagenfasern von der Knorpelnormale \vec{n} ist angegeben.

6.2. Räumliche Strukturierung des kollagenen Netzwerks

Seit den ersten Erkenntnissen von Benninghoff [Benninghoff 1925] über einen strukturierten Aufbau der chondralen Kollagenmatrix versuchten viele Forscher sich ein genaueres Bild über die Faserformation des Knorpels zu machen. Mit Hilfe der licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden viele widersprüchliche Aussagen über den Aufbau des kollagenen Netzwerks gemacht. Einige haben die Arkaden-Struktur befürwortet, andere konnten sie nicht bestätigen [de Bont 1986]. Gegenwärtig haben sich die Forscher auf die strukturierte Architektur des kollagenen Knorpels geeinigt und im Allgemeinen hat sich die von Benninghoff vorgeschlagene Arkadenstruktur gut behauptet. Jedoch stießen viele Untersucher auf ein bisher nicht eindeutig gelöstes Problem über eine mögliche lamellen- bzw. säulenartige Strukturierung des Gelenkknorpels (Kap. 2.1.2.2).

Da der *leaf-like* Aufbau der Kollagenstruktur ausgehend von der winkel-sensitiven MRT (Kap. 4) eine vollkommen andere Orientierungsabhängigkeit der MR-Intensität aufweisen müsste als die *columnare* Struktur, ist die lamellenartige Architektur aus der Sicht der MR-Bildgebung umstritten.

Aus der Literatur und Praxis sind keine Fälle bekannt, bei denen die MR-Intensität bei einer T_2 -gewichteten MRT-Untersuchung des Gelenkknorpels neben der Orientierung im B_0 -Feld auch von der Körperebene abhängig ist: Ein gesundes Gewebe wies normalerweise immer eine hyperintensiven Region im Bereich des magischen Winkels auf, ungeachtet dessen, ob in coronare oder sagittale Richtung gemessen wurde. Bis jetzt fehlte jedoch eine Studie, bei welcher dieses Problem speziell untersucht wurde.

Nachfolgende Überlegungen (auf der Grundlage der im Kap. 5.3 beschriebenen NMR-Rotationsexperimente) führten zu dem Ergebnis, dass eine rein lamellenartige kollagene Struktur des Knorpels nicht realistisch ist: Nach Jeffery [Jeffery 1991] bestehe die Kollagenstruktur aus Lamellen, die dicht aneinander folgen, sich vom Knochen aus radial ausstrecken und anschließend in die tangential oberflächliche Schicht übergehen (Abb. 2.12). Diese Form stimmt zwar mit der Arkaden-Struktur überein, innerhalb der einzelnen Lamellen seien nach Jeffery die Kollagenstränge jedoch völlig ungeordnet, also isotrop. Die Blätterstruktur würde somit dünnen tangentialen Schichten entsprechen, innerhalb welcher die Fasern in einer Ebene (im Falle der Tangentialschicht in der axialen Körperebene) isotrop ausgerichtet sind (Abb. 4.2d). Gemäß des *leaf-like* Modells sind in der radialen Zone solche Schichten in einer zu der Knorpeloberfläche senkrechten Richtung angeordnet (Abb. 6.2). Fügt man zusätzlich eine *Lamellennormale* \vec{n}_L (welche in der tangentialen Zone mit der Knorpelnormale übereinstimmt, für die radiale Zone gilt jedoch $\vec{n}_L \perp \vec{n}$) ein (Abb. 6.2), wird offensichtlich, dass sich die Orientierungsabhängigkeit der MR-Intensität in der radialen Zone bei Messung einer Schicht senkrecht zu der Lamellenebene nach der Funktion (4.15) bei um 90° gedrehter Knorpelnormale verhalten müsste:

$$I_{rad\ leaf-like}(\theta) = I_{tan} \left(\left| \theta - \frac{\pi}{2} \right| \right) \quad (6.1)$$

Dreht man beispielweise die Probe, so dass sich in der radialen Zone der Winkel θ zwischen der Knorpelnormale \vec{n} und B_0 von 0° bis 90° ändert, so verändert sich der Winkel zwischen der Lamellennormale \vec{n}_L und dem äußeren Magnetfeld dagegen von 90° auf 0° . Da die Funktion (4.15) symmetrisch zur 0° -Achse ist, sieht der Intensitätsverlauf nach (6.1) wie die gespiegelte Kurve für ideal tangentiale Fasern aus (Abb. 6.3, —, vgl. Abb. 4.6).

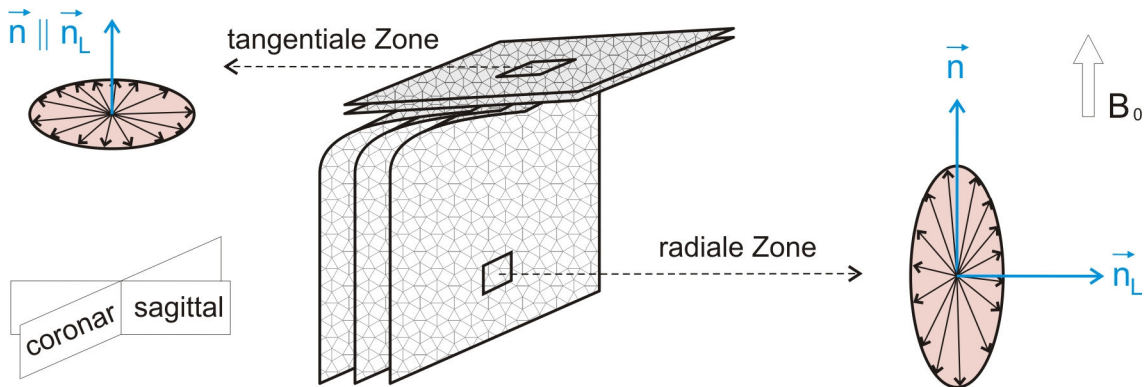


Abb. 6.2. Anordnung der Lamellen bei dem *leaf-like* Modell.

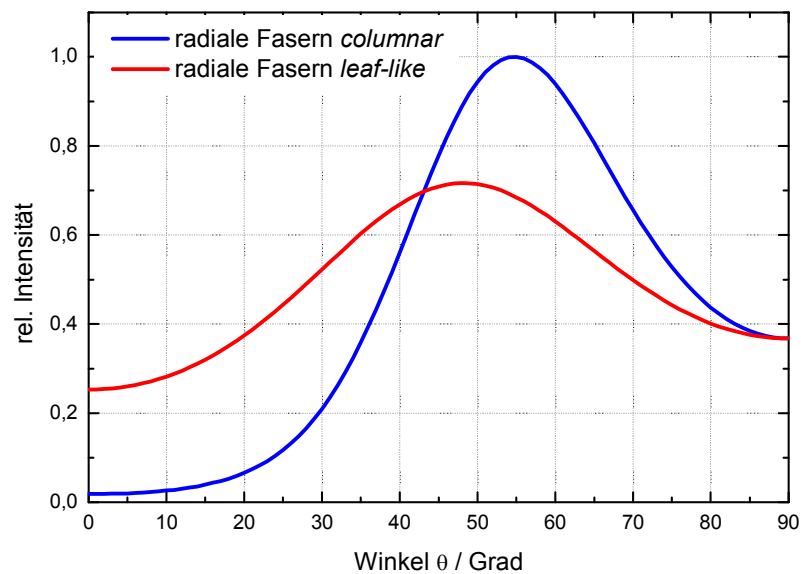


Abb. 6.3. MR-Intensität in Abhängigkeit von dem Winkel θ zwischen der Hauptausrichtung der Kollagenfasern und dem äußeren Magnetfeld B_0 für die radialen Fasern beim säulenartigen (4.14) bzw. lamellenartigen (in der Ebene senkrecht zu der Lamellenrichtung) Modell (6.1) der Kollagenstruktur.

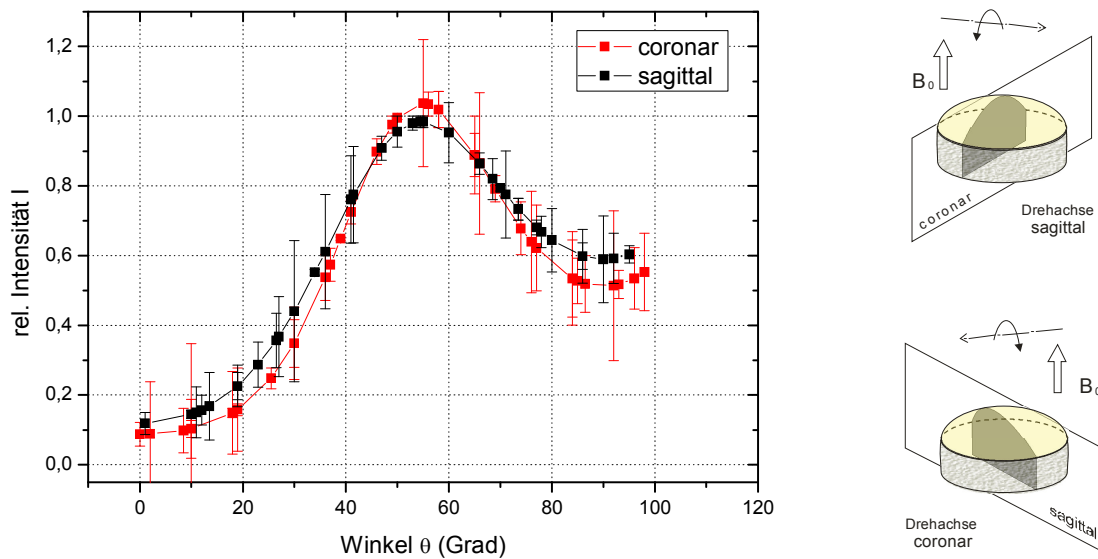


Abb. 6.4. Intensitätsverlauf $I(\theta)$ in der radialen Zone der humanen Knorpelproben (weibl., 92 Jahre) bei der Messung in coronarer bzw. sagittaler Richtung.

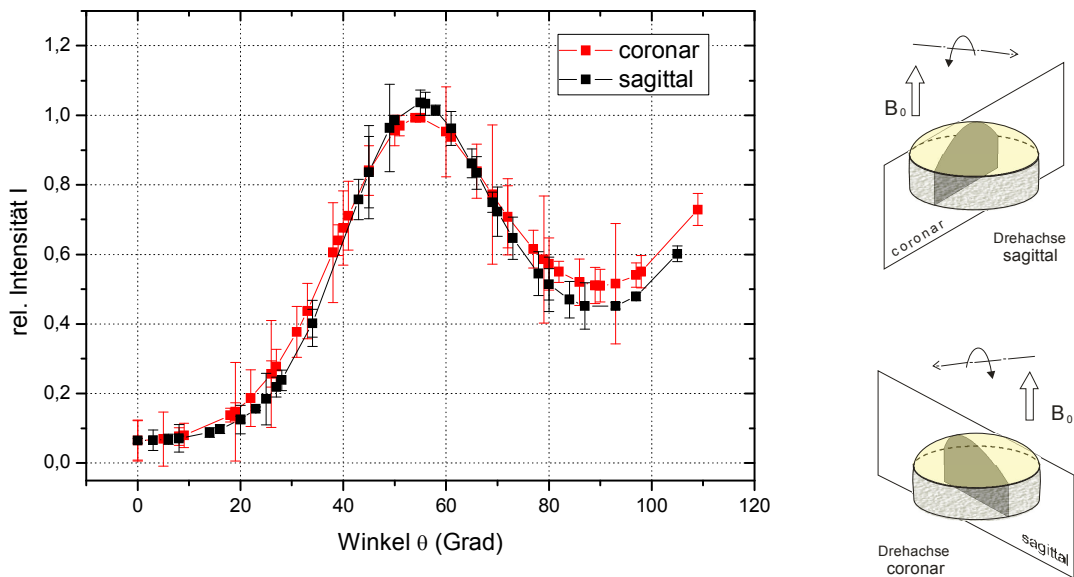


Abb. 6.5. Intensitätsverlauf $I(\theta)$ in der radialen Zone der Knorpelproben vom Schwein (7 Jahre) bei der Messung in coronare bzw. sagittale Richtung.

In der Ebene parallel zu den Lamellen seien nach dem *leaf-like* Modell die Fasern isotrop angeordnet (Abb. 6.2) und müssten daher keine Orientierungsabhängigkeit aufweisen. Die dargestellten Grafiken (Abb. 6.4 und 6.5) zeigen dagegen eine gut

erkennbare Abhängigkeit der Intensität von der Orientierung im äußeren Magnetfeld in beiden Messrichtungen. Die nichtlineare Kurvenanpassung ergab eine bessere Übereinstimmung mit der Funktion (4.14) für ideal radiale Fasern der säulenartigen Struktur ($R^2 = 0,87..0,97$) im Vergleich zu der Intensitätsabhängigkeit (6.1) für die Blätteranordnung der Fasern in der radialen Zone im Falle des *leaf-like* Modells ($R^2 = 0,24..0,7$).

Abb. 6.4 und 6.5 zeigen die Anpassungen der aus den Rotationsexperimenten gemessenen Winkelabhängigkeit der MR-Intensität durch eine theoretische Funktion mit einem Hauptanteil an radialen Fasern (4.14) und einem geringen (< 4%) isotropen Anteil:

$$I(\theta) = aI_{rad}(\theta) + bI_{iso} \quad (6.2)$$

Die maximalen Abweichungen der experimentellen Werte von der angepassten Kurve sind durch Fehlerbalken angegeben.

Dieses Experiment zeigt klar die Gleichheit des dipolaren T_2 -Relaxationseffektes unabhängig von der Messebene und der Rotationsrichtung der Knorpelproben. Damit schließt sich die mögliche ungeordnete Ausrichtung der Kollagenfasern in einer der Ebenen praktisch aus.

Wie oben angedeutet, stellen die lamellenartig angeordneten Kollagenfasern nach dem *leaf-like* Modell in der radialen Zone die gleiche Struktur dar wie die um 90° gedrehte tangentielle Schicht (Abb. 6.2). In diesem Fall müsste die oberflächliche Zone beim Rotieren in der zu der Richtung des äußeren Magnetfeldes B_0 parallelen Ebene (Abb. 6.6b) die gleichartige Intensitätsabhängigkeit aufweisen wie die radiale Zone bei der Drehung in der coronaren Messebene (Abb. 6.6a), denn die Messebene würde in diesem Fall parallel zu den Lamellen liegen (graue Fläche auf Abb. 6.6).

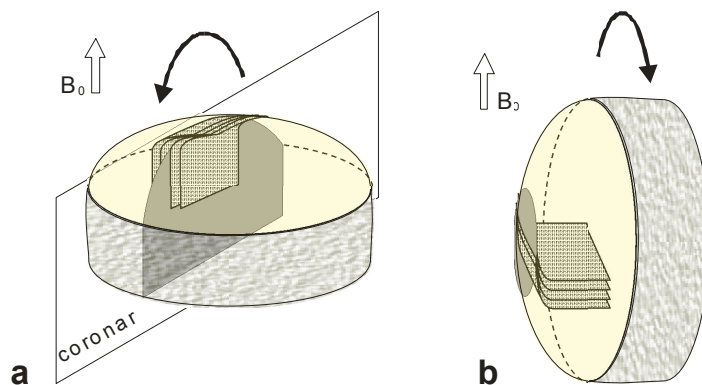


Abb. 6.6. Orientierung der Lamellen beim *leaf-like* Aufbau und entsprechende Messebenen und Rotationsrichtungen bezüglich B_0 bei NMR-Experimenten.

Zur Überprüfung dieser Behauptung wurden NMR-Experimente mit Drehung in vertikaler Ebene bei der Platzierung des Versuchsstücks mit der Oberfläche parallel zu der Richtung B_0 durchgeführt (Abb. 6.6b). Bei der Auswertung gewonnener Daten wurde weder in der tangentialen noch in der radialen oder transitionalen Zone eine

Orientierungsabhängigkeit festgestellt. Es wurden lediglich lineare Ausgleichsfunktionen angewandt (Abb. 6.7 und 6.8). Die Fehlerbalken geben die maximalen Abweichungen der experimentellen Werte von der angepassten Gerade an. Bei den Messungen in der coronaren Messebene dagegen wurde in der Radiärzone eine deutliche Orientierungsabhängigkeit der Intensität beobachtet (Abb. 6.4, 6.5 -■-).

Auf Grund der Ungleichheit des Intensitätsverhaltens der Kollagenfasern in der radialen bzw. tangentialen Zone bei gleichen Messbedingungen lassen sich ebenfalls Unterschiede im räumlichen Aufbau ableiten. Somit kann die lamellenartige Struktur in der radialen Zone wiederum nicht bestätigt werden. Dafür spricht auch die fehlende Orientierungsabhängigkeit in der radialen Zone bei den letzten Experimenten (Abb. 6.7, 6.8 -■-), denn im Falle des *leaf-like* Aufbaus würde sich die Intensität gemäß der tangentialen Funktion (4.15) verhalten.

Das Intensitätsverhalten des adulten Knorpels bei der WS-MRT basiert auf dem dominierenden Einfluss der Dipol-Dipol-Wechselwirkung von Protonen der an Proteoglykane gebundenen Wassermoleküle auf die T_2 -Relaxation (Kap. 4.1). Auf der Basis dieser, inzwischen weitgehend anerkannten, Theorie lassen sich die experimentellen MRT-Daten gut erklären. Der in diesem Kapitel diskutierte, auf Grund von SEM-Untersuchungen abgeleitete *leaf-like* Aufbau des adulten Knorpels von Mensch, Schwein und anderen Tierarten ist jedoch mit diesem Modell nicht erklärbar.

Der Vorteil konventionellen mikroskopischer Methoden gegenüber der MRT besteht in der direkten Visualisierung der Gewebestruktur, während mit Hilfe der winkelsensitiven MRT-Bildgebung nur indirekt modellbezogene Aussagen über den Aufbau des Knorpels abgeleitet werden können. Jedoch stimmen, wie es bereits erwähnt wurde, die mit Hilfe der bildgebenden NMR gewonnenen Ergebnisse sehr gut mit lichtmikroskopischen (z.B. PLM) Befunden überein. Der entscheidende Nachteil der Histologie liegt in der Notwendigkeit der Probenpräparation. Die Gewebedestruktion und die zum Teil komplizierte Probenpräparation können zu erheblichen Gewebeveränderungen und Fehlinterpretationen führen. Die MRT ermöglicht dagegen nichtdestruktive Untersuchungen am nativen Material und auch *in vivo*. Sämtliche SEM-Untersuchungen der kollagenen Ultrastruktur des Knorpels basieren auf einem aufwändigen Vorbereitungsprozess, bei welchem nach der enzymatischen Behandlung und Fixierung der Probe das Wasser mit Hilfe von Ethanol entzogen wird und die Versuchsstücke anschließend eingefroren oder gefriergetrocknet werden [Clark 1991, Jeffery 1991, Käab 1998(2), Goodwin 2000]. Diese Präparationsverfahren sind möglicherweise für Veränderungen der Strukturierung des kollagenen Knorpels verantwortlich und führen zur Ausbildung der beschriebenen *leaf-like* Struktur. Wahrscheinlich führt insbesondere die kryotechnische Prozedur zu der beobachteten Schichtstruktur (Lamellen). Viele Autoren bestätigen ein mögliches Auftreten solcher Artefakte wie Zusammenschrumpfen oder Spaltung der Knorpelstruktur bei gängigen Präparationsverfahren für SEM-Untersuchungen [Boyde 1977, Helminen 1985, Clark 1997] oder Destruktion der Kollagenfaserordnung bei der kryotechnischen Vorbereitung (Temperaturen unter -80°C) von Transplantaten [Gelber 2008].

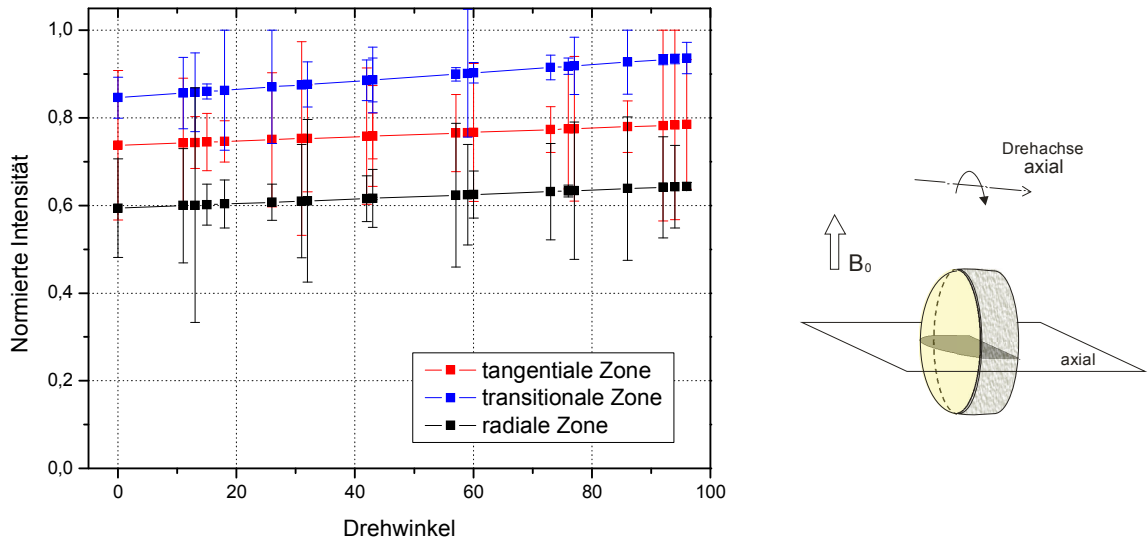


Abb. 6.7. Abhängigkeit der MR-Intensität einer humanen Knorpelprobe (weibl., 92 Jahre) von der Orientierung zum äußeren Magnetfeld B_0 (Messung in axialer Ebene).

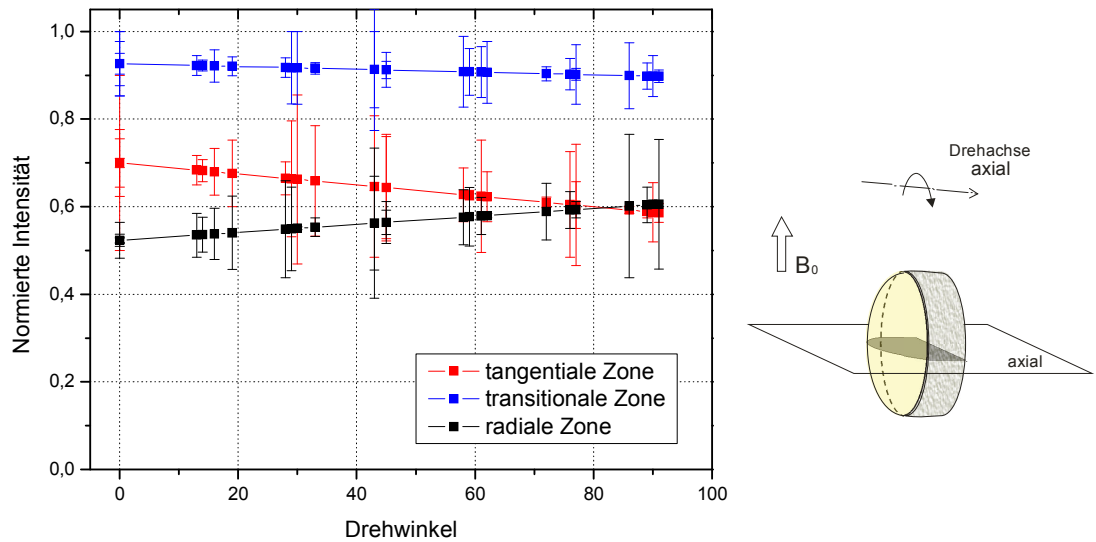


Abb. 6.8. Intensitätsabhängigkeit des μ MRT-Signals von Knorpelproben des Hausschweins (7 Jahre) von der Orientierung zum äußeren Magnetfeld B_0 (Messung in axialer Ebene).

6.3. Belastungseinfluss

Die in Kap. 4 beschriebenen Kegel- und Büschelmodell sowie die entsprechenden Intensität/Winkel-Verhältnisse lassen sich über die Auswertung einer orientierungsabhängigen Änderung der MR-Intensität durch die Drehung von Knorpelproben im Magnetfeld überprüfen (s. Kap. 4.2). Es wurde gezeigt, dass es durch die Anpassung experimenteller Intensität/Winkel-Daten auf die theoretischen Verläufe (4.14) und (4.15) möglich ist, die überwiegend radialen bzw. tangentialen Zonen innerhalb einer Knorpelschicht zu differenzieren [Reibetanz 2002], die Anteile der in einem Segment vorhandenen Faserrichtungen anzugeben [Gründer 2006] sowie die Knorpelmatrixintegrität zu bewerten [Seidel 2004].

Die Möglichkeit der Drehung eines Untersuchungsobjekts im Magnetfeld besteht aus geometrischen Gründen praktisch nur für kleine Proben. Untersuchungen druckbelasteter Gelenke sind jedoch relativ gut sowohl in klinischen offenen [Gold 2004] als auch geschlossenen MR-Tomographen [Nag 2004, Gründer 2006, Nishii 2008] durchführbar. Mit Hilfe solcher Experimente sind auf nichtinvasive Art Aussagen zu den biomechanischen Auswirkungen physiologischer Knorpelbelastungen ableitbar. In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb untersucht werden, welche Auswirkungen Belastungen auf die MR-Intensität des Gelenkknorpels haben und welche Aussagen über druckbedingte Änderungen der Kollagenfaserausrichtung erhalten werden können.

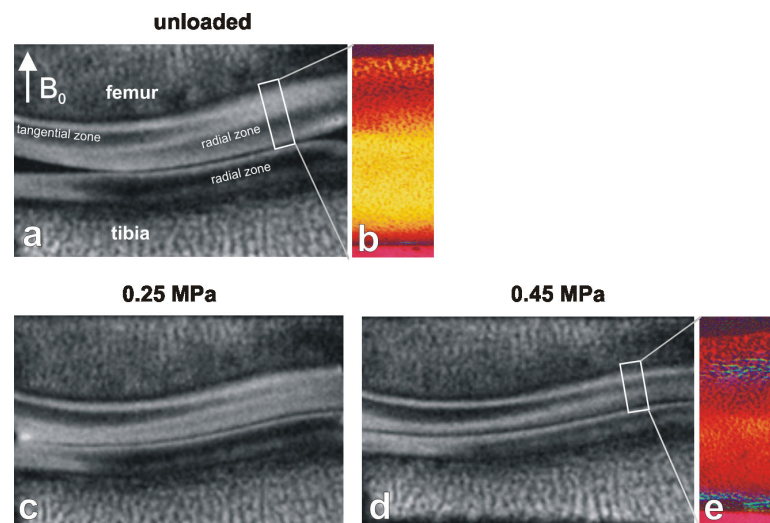


Abb. 6.9. Einfluss der Belastung auf die MR-Intensität (junges Schwein). **a:** Ohne Druck weist die femorale Kondyle die für den juvenilen Knorpel typische Vielzonenstruktur auf; **c, d:** Eine Erhöhung der Druckwerte verursacht Intensitätsveränderungen: die tangentiale Zone wird dunkler, die radiale heller; **b, e:** Die PLM-Darstellung bestätigt die Änderung der Kollagenfaserausrichtung (rot – isotrop, gelb – radial, blau – tangential) in den markierten Bereichen [Gründer 2006].

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, dass sich die MR-Intensität des Gelenkknorpels bei Belastung zonal ändert. Bei den Druckwerten von bis zu 0,5 MPa steigt die Intensität in der radialen Zone an, in der tangentialen Zone sinkt sie dagegen (Abb. 6.9) [Gründer 2000, Gründer 2006].

Die Intensitätsänderung bei T_2 -gewichteten Belastungsexperimenten lässt sich dadurch erklären, dass unter dem Druck eine Orientierungsänderung der Kollagenfasern auftritt (Abb. 2.13). Der genaue Mechanismus der Transformation von Kollagenfasern unter Belastung ist unklar. Einige Erklärungsversuche wurden bereits in Kap. 2.1.2.3 dargestellt. In diesem Teil der Arbeit werden mögliche Formänderungen des Kollagennetzwerks unter Belastung aus den Daten der MR-Bildgebung analysiert.

6.3.1. Analyse der unbelasteten Kollagenstruktur

Zunächst muss die zonal unterschiedliche Hauptorientierung der Fasern (radial, tangential, isotrop) im unbelasteten kollagenen Netzwerk des Gelenkknorpels aus den MRT-Daten bestimmt werden.

Betrachtet man die radiale und tangentiale Knorpelzonen im Zusammenhang mit dem Arkadenmodell, so sind die Fasern in der Tiefe vertikal ausgerichtet, auf der Oberfläche gehen sie in die horizontale Anordnung über. Wie jedoch die Übergangszone mit der isotropen Faserausrichtung organisiert ist, ist bei weitem unklar. Denn würden sich die Fasern in der transitionalen Zone so, wie es vereinfacht auf der Abb. 2.8 gezeigt ist, geordnet einbiegen, könnte an dieser Stelle keine isotrope Ausrichtung der Fasern bestehen. Vermutlich sind auf dieser Höhe viele Stränge vorhanden, die in alle denkbaren Richtungen durch die Übergangszone verlaufen (Abb. 6.10a). Eine andere Erklärung dafür könnte eine Annahme liefern, dass einzelne Kollagenfasern wellenförmig gebildet sind und die Schwingungsweite der Wellen die lokale Faserausrichtung in den Knorpelzonen bestimmt. Dabei sind die Fasern in der radialen Zone schwächer gekurvt als in der transitionalen und der tangentialen, wobei die letzte eine absolute Verstauchung aufweist (Abb. 6.10c). Dies würde auch mit der Tatsache übereinstimmen, dass die Faserdicke vom knochennahen Bereich zur Oberfläche geringer wird [Buckwalter 1983], denn wahrscheinlich je dicker die Fasern sind desto niedriger ist ihre Fähigkeit, sich in solche Wellen zu formen. Über derartige wellenförmige Struktur der Kollagenfasern unter normalen Bedingungen (vor allem, beim natürlichen Wassergehalt des Gewebes) berichten auch Broom und Myers [Broom 1980].

Beide vorgeschlagene Formen der Kollagenstruktur würden bei der WS-MRT das gleiche Verhalten der Signalintensität aufweisen (Abb. 6.10b). Inwieweit die eine oder andere Theorie durch Ergebnisse weiterer mikroskopischen sowie biomechanischen Untersuchungen unterstützt wird, ist nicht Gegenstand dieser Arbeit.

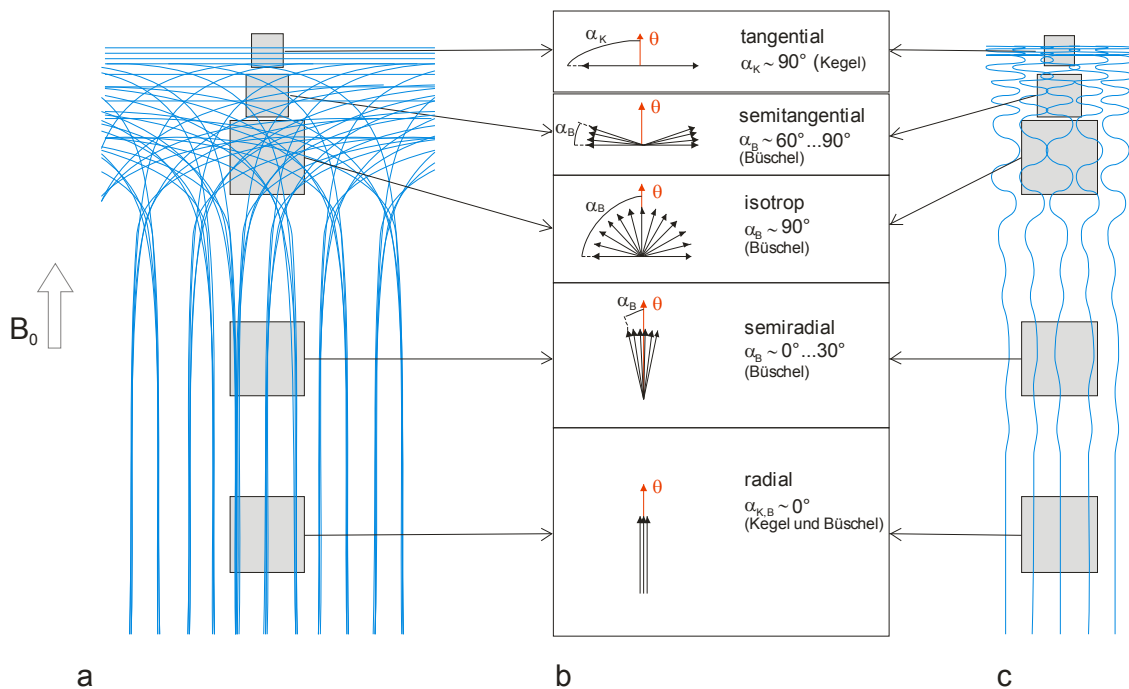


Abb. 6.10. Erklärung der Ultrastruktur des Knorpels auf Grundlage modellgestützter Daten aus der WS-MRT. **a:** Einzelne Kollagenfasern verlaufen arkadenförmig; **b:** Anpassung der jeweiligen Knorpelzonen auf das Kegel- bzw. Bündelmodell; der Winkel θ zeigt die Hauptausrichtung der Kollagenfasern im äußeren Magnetfeld B_0 ; **c:** Einzelne Kollagenfasern verlaufen wellenförmig.

Die auf Abb. 6.10b aufgeführte Zusatzzone „semiradial“ bezeichnet die obere radiale Zone, in welcher die Fasern nicht mehr überwiegend radial verlaufen und damit eine Erhöhung der MR-Intensität auf Grund des vergrößerten Bündel-Öffnungswinkels α_B verursachen, wie die theoretische Kurve auf der Abb. 6.11 deutet. Somit lässt sich im einfachen Fall die Auffächerung des Faserbündels von der Tiefe in Richtung der Oberfläche des Knorpels ableiten. Auf der Abb. 6.12 und 6.13 sind normierte Intensitäts-Tiefenprofile einer humanen Probe und einer Probe vom adulten Schwein dargestellt (■). Da die Intensitäten bei der T_2 -gewichteter MR-Bildgebung stark von der angewandten TE-Zeiten abhängig sind, wurden bei der Betrachtung der tiefenabhängigen Intensitätsvariationen T_2 -Parameterbilder verwendet. Es wurde davon ausgegangen, dass in der Knochennähe die Fasern ideal radial sind und in der Oberflächennähe isotrope Ausrichtung ist ($\alpha_B \approx 90^\circ$). Die Normierung erfolgte so, dass der minimale bzw. maximale Wert dem minimalen (0,02) bzw. maximalen Wert (0,46) der nach (4.17) errechneten Abhängigkeit der Intensität von dem Bündel-Öffnungswinkel (Abb. 6.11) entspricht. In den an den Knochen grenzenden Knorpelbereichen fällt eine Streuung der Intensitätspunkte um einen Minimalwert auf. Diese kann als Signalausgang interpretiert werden. Aus diesem Grund wird zusätzlich angenommen, dass die Bereiche 0 – 10 Pixel bei der Humanprobe bzw. 0 – 6 Pixel bei

dem Schweinsknorpel (grüne Fläche auf Abb. 6.12 bzw. 6.13) die radiale Zone vertreten, d.h. einen Öffnungswinkel $\alpha_B = 0^\circ$ aufweisen.

Anhand der Normierung lassen sich aus den experimentellen Intensitätswerten in Abhängigkeit von der Knorpeltiefe eine Tiefenabhängigkeit des Bündel-Öffnungswinkels $\alpha_B(z)$ herleiten indem man die experimentelle Signalwerte $I(z)$ den theoretischen Werten $I(\alpha_B)$ gegenüberstellt (Abb. 6.12, 6.13):

$$\{I(z)_{exp} \equiv I(\alpha_B)_{theor}\} \rightarrow \alpha_B(z)$$

Die so ermittelte Tiefenänderung des Bündel-Öffnungswinkels $\alpha_B(z)$ ist in Abb. 6.14 dargestellt. Dabei wurden, wie oben erwähnt, die knochennahen Bereiche auf den Wert $\alpha_B=0^\circ$ gesetzt und nur die mit der Knorpeltiefe kontinuierlich steigenden Intensitätswerte berücksichtigt. Die Graphen zeigen, dass auf diese Weise Aussagen über die Auffächerung der radialen Kollagenfasern gemacht werden können, um z.B. den Übergang der radialen Struktur in die isotrope zu verdeutlichen.

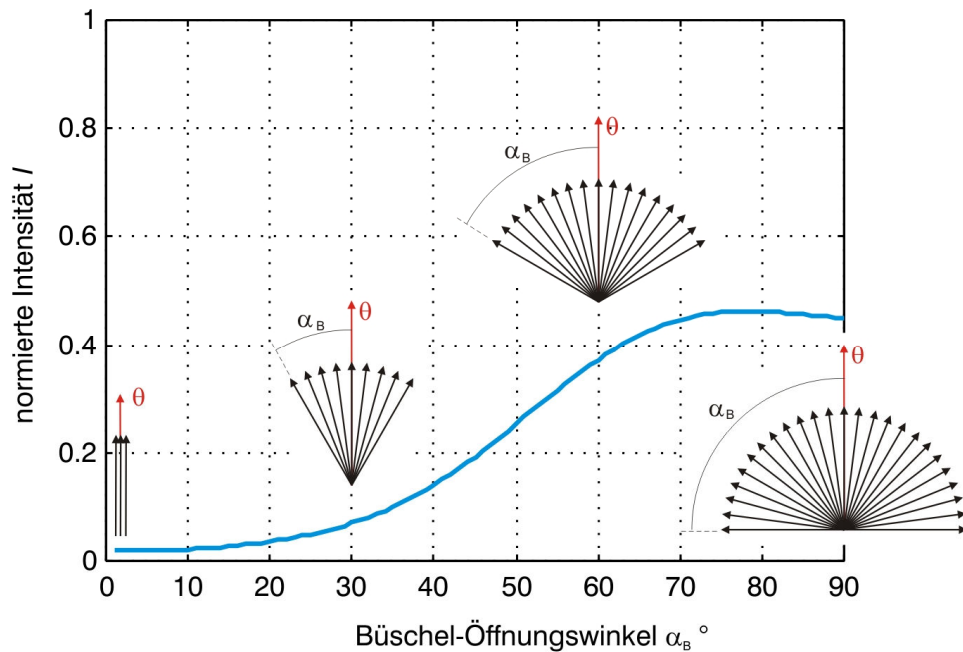


Abb. 6.11. Abhängigkeit der Intensität von dem Bündel-Öffnungswinkel α_B bei $\theta = 0^\circ$ (nach dem Bündel-Modell, s. Kap. 4.2.2).

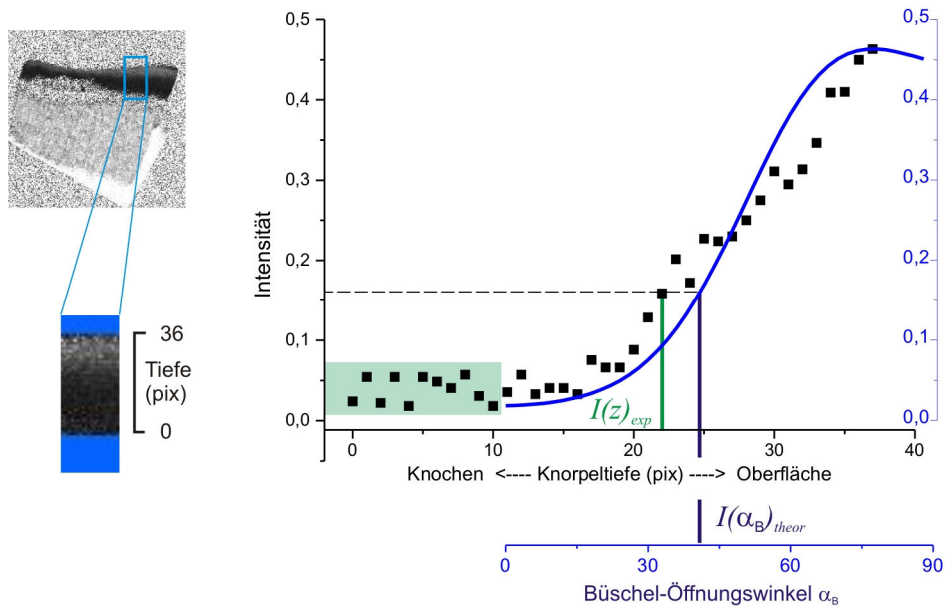


Abb. 6.12. Normierter experimenteller Intensitätsverlauf innerhalb der Knorpelschicht (■) am Beispiel einer humanen Femurprobe (weibl. 92 J.) und die theoretische Abhängigkeit der Intensität von dem Büschel-Öffnungswinkel α_B (s. Abb. 6.11) bei Orientierung der radialen Faserrichtung parallel zum B_0 -Feld ($\theta = 0^\circ$ (-)).

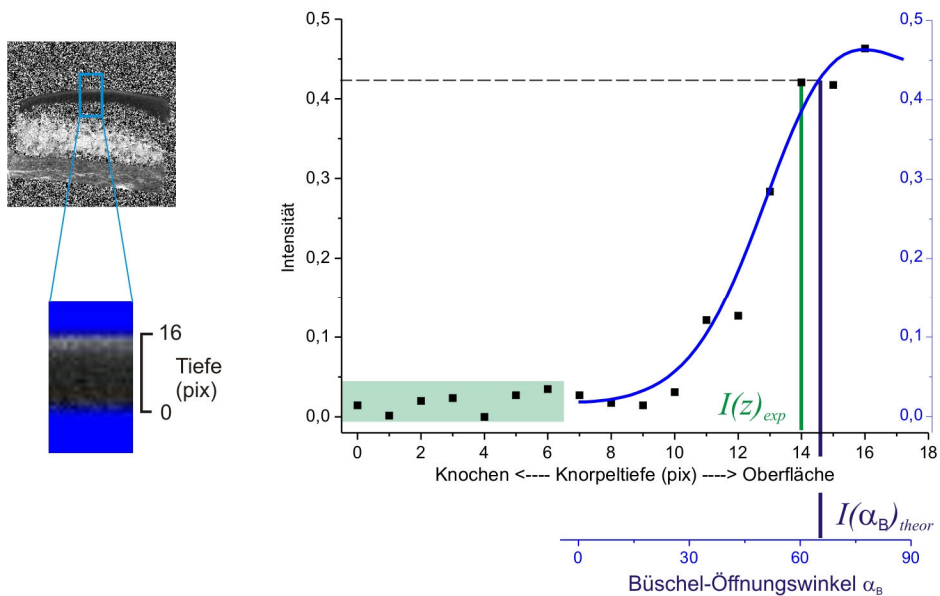


Abb. 6.13. Normierter experimenteller Intensitätsverlauf innerhalb der Knorpelschicht (■) am Beispiel einer Femurprobe vom Schwein (7 J.) und die theoretische Abhängigkeit der Intensität von dem Büschel-Öffnungswinkel α_B bei $\theta = 0^\circ$ (-).

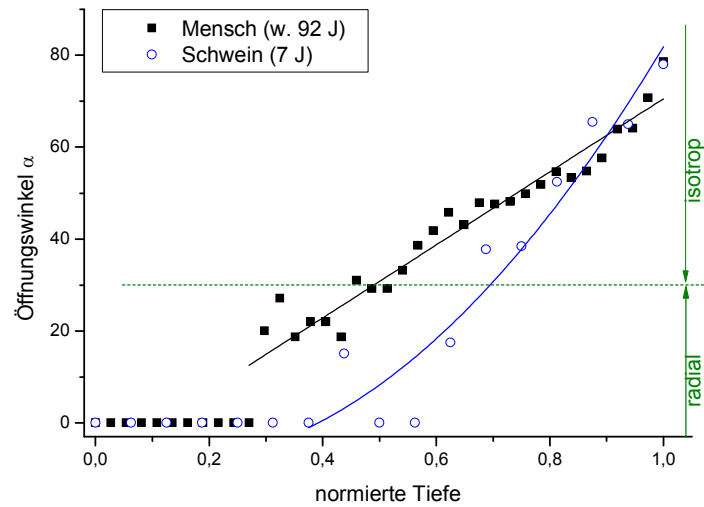


Abb. 6.14. Tiefenprofile des Bündel-Öffnungswinkels α_B bei $\theta = 0^\circ$ einer humanen (■) bzw. einer Femurprobe vom Schwein (○) aus Abb. 6.12 bzw. 6.13.

Eines der Merkmale der radialen Zone des Gelenkknorpels im Rahmen des Bündel-Modells ist die charakteristische Orientierungsabhängigkeit der MR-Intensität von Kollagenfasern dieser Zone im äußeren Magnetfeld B_0 . Auch bei einem Öffnungswinkel des Faserbündels größer als Null besteht diese Abhängigkeit. Sie ist mit steigendem α_B jedoch immer weniger ausgeprägt, und das Maximum („magischer Winkel“) verschiebt sich in Richtung ansteigender Werte (Abb. 6.15). Wie man aus den Graphiken auf der Abb. 6.15 sieht, verschwindet die typische Orientierungsabhängigkeit der Intensität bei Öffnungswinkeln von über 30° . Damit könnte man eine Bedingung für eine Definition der Übergangsgrenze der radialen Fasern in die isotropen festlegen. Aus dem Tiefenprofil eines adulten Schweins (Abb. 6.14, ○) lässt sich die Grenze zwischen der radialen und der transitionalen Zone bei einer relativen Tiefe von ca. 0,7 deuten. Im Falle der humanen Probe aus Abb. 6.14 (■) zeigt sich diese Grenze entsprechend bei einer Tiefe von etwa 0,5.

Auf die gleiche Weise lässt sich theoretisch auch der Übergang von der isotropen zu der tangentialen Zone beschreiben (s. *semitangential* Zone, Abb. 6.10b). In diesem Fall betrachtet man einen Öffnungswinkelbereich $[\alpha_1, \alpha_2]$, wobei die isotropen Fasern gleichverteilt im Intervall $[0^\circ, 90^\circ]$ und tangentiale im Intervall $[90^\circ, 90^\circ]$ liegen (Abb. 6.16). In der Praxis ist jedoch diese Grenze auf Grund sehr geringer Dicke der tangentialen Zone schwer definierbar.

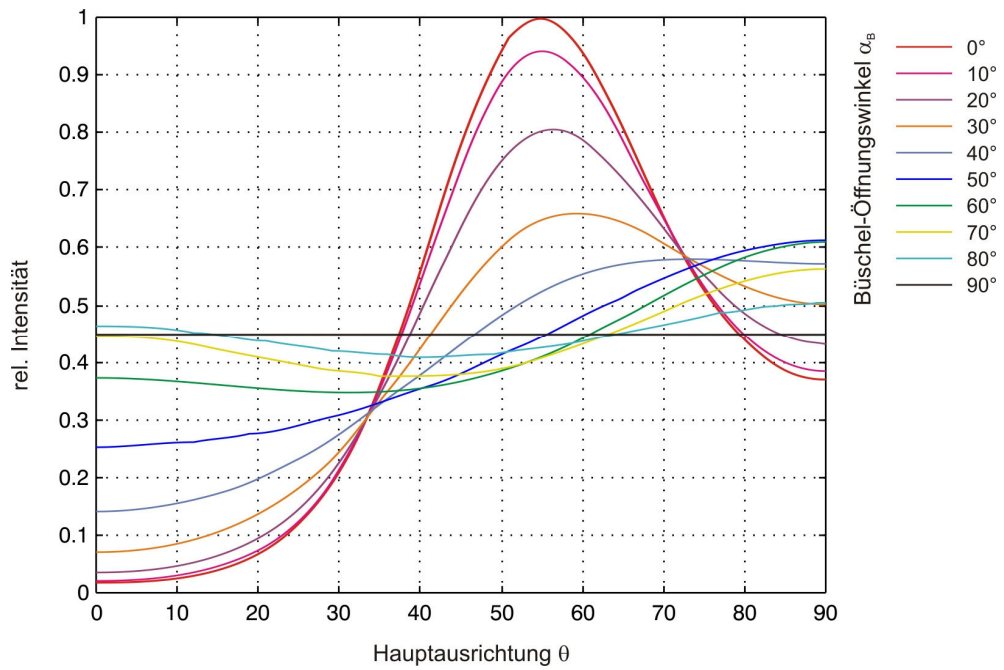


Abb. 6.15. Intensitätsverläufe in Abhängigkeit von Hauptausrichtungen θ der Kollagenfasern bei verschiedenen Bündel-Öffnungswinkeln α_B .

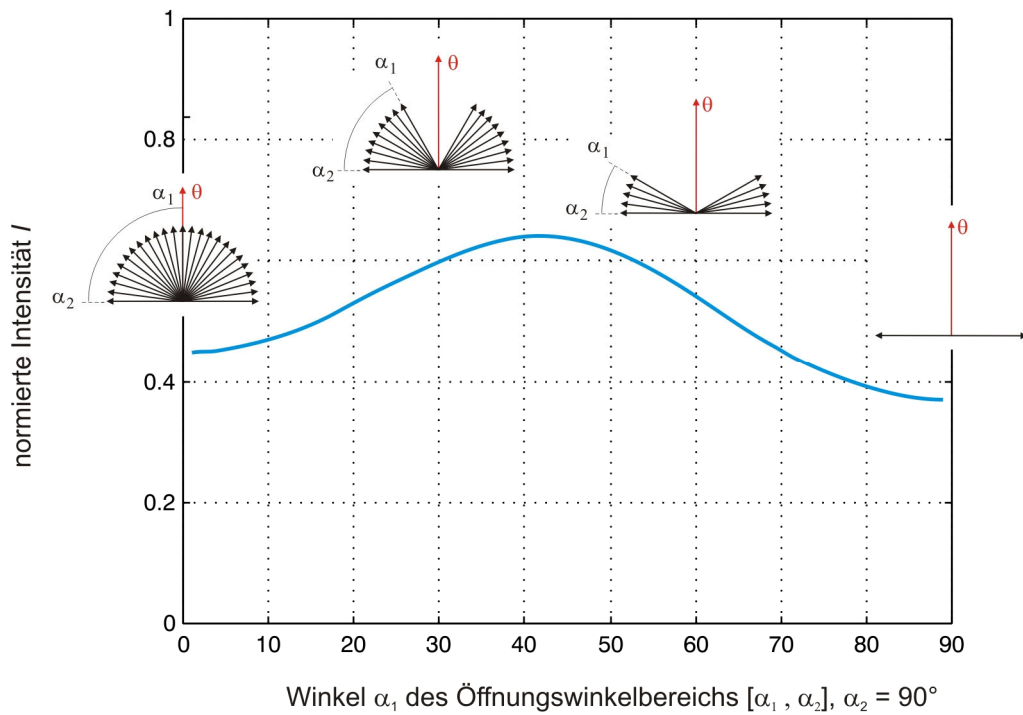


Abb. 6.16. Abhängigkeit der Intensität von dem Öffnungswinkelbereich $[\alpha_1, \alpha_2]$ bei $\alpha_2 = 90^\circ$ und $\theta = 0^\circ$ (nach dem Bündel-Modell, s. Kap. 4.2.2).

Abbildung 6.17 stellt zusammenfassend die nach dem Bündel-Modell berechnete Intensitätsvariation beim Übergang der Faseranordnung über die ganze Knorpeltiefe dar, d.h. von der radialen in die isotrope (Abb. 6.11) und weiter von der isotropen in die tangential Schicht (Abb. 6.16).

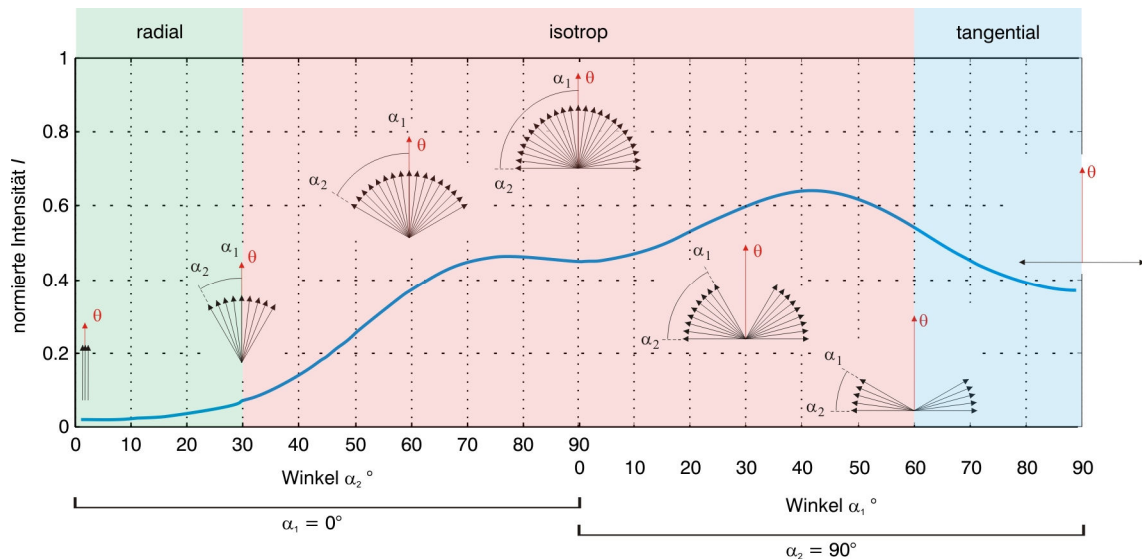


Abb. 6.17. Schematische Abbildung der Intensitätsabhängigkeit von dem Öffnungswinkelbereich $[\alpha_1, \alpha_2]$ bei $\theta = 0^\circ$ (nach dem Bündel-Modell, s. Kap. 4.2.2) beim zonalen Übergang der Faser von radialer über die isotrope in die tangential Anordnung.

6.3.2. Druckbedingte Transformation der Kollagenstruktur

Wie bereits erwähnt, verursacht mechanische Belastung eine geometrische Transformation der Kollagenfasern im Gelenkknorpel. Da der Widerstand des Knorpelgewebes gegenüber der (physiologischen) mechanischen Belastung zu dessen primären biologischen Funktionen gehört und die Veränderung dieser Fähigkeit zu Knorpelzerstörungen führen kann, sind die Bestimmung der elastischen Eigenschaften und die Aufklärung der zugrundeliegenden biomechanischen Prozesse von großem medizinischen Interesse.

In Kap. 6.3.1 wurden zwei Formen der kollagenen Ultrastruktur dargestellt, auf deren Basis die möglichen Transformationen der Fasern unter Druck diskutiert werden. Die Reaktion des Knorpels auf die Druckbelastung zeigt sich in einer Intensitätsveränderung in T_2 -gewichteten MR-Bildern des Gelenkknorpels. Diese Intensitätsänderungen haben ihre Ursache in der gezeigten Richtungsabhängigkeit der kollagenen Strukturen im statischen Magnetfeld B_0 (s. Kap. 4).

Im Folgenden werden mögliche druckbedingte Transformationen des Kollagenetzwerkes aus einem NMR-Experiment abgeleitet, bei dem ein identischer Druck über

die gesamte Knorpeloberfläche (s. Kap. 5.4) realisiert wurde. Um die Rückschlüsse über den möglichen Transformationsmechanismus zu machen, wird der Einfluss der Belastung auf die MR-Signalintensität aus den modellbezogenen Überlegungen determiniert und den experimentellen Daten gegenübergestellt (Kap. 6.3.5). Dabei wird eine Faserstruktur entsprechend den Abb. 6.10a und 6.10c zu Grunde gelegt sowie regional (Mitte der Probe; Rand der Probe) unterschieden.

Transformation arkadenförmiger Fasern

Auf Abb. 6.18 ist eine der möglichen Transformationen der arkadenförmigen Fasern (Abb. 6.10a) in mittlerer Region der Knorpelprobe dargestellt. Auffällig ist bei dieser Hypothese die Beugung in die entgegengesetzten Richtungen, was zu einer Kluft (vertikale gestrichelte Linie) in dem Fasernetz führt. Diese Darstellung basiert auf den Beobachtungen von einigen Autoren, die die Formänderung der Kollagenstruktur unter Druckbelastung mit Hilfe von SEM [Glaser 2002] oder DICM [Thambyah 2006] untersucht haben. Solche Aufteilung ist einmalig im Punkt des höchsten Drucks und die weiter vom Zentrum entfernten Fasern sind in eine entsprechende Richtung geneigt.

Die Erhöhung der MR-Intensität radialer Zone in der Mitte der Probe ($\theta = 0^\circ$) lässt sich anhand des Kegel-Modells erklären, da die druckbedingte Neigung eine Zunahme des Kegel-Öffnungswinkels α_K verursacht ($\theta = 0^\circ$ -Linie —, Abb. 6.19).

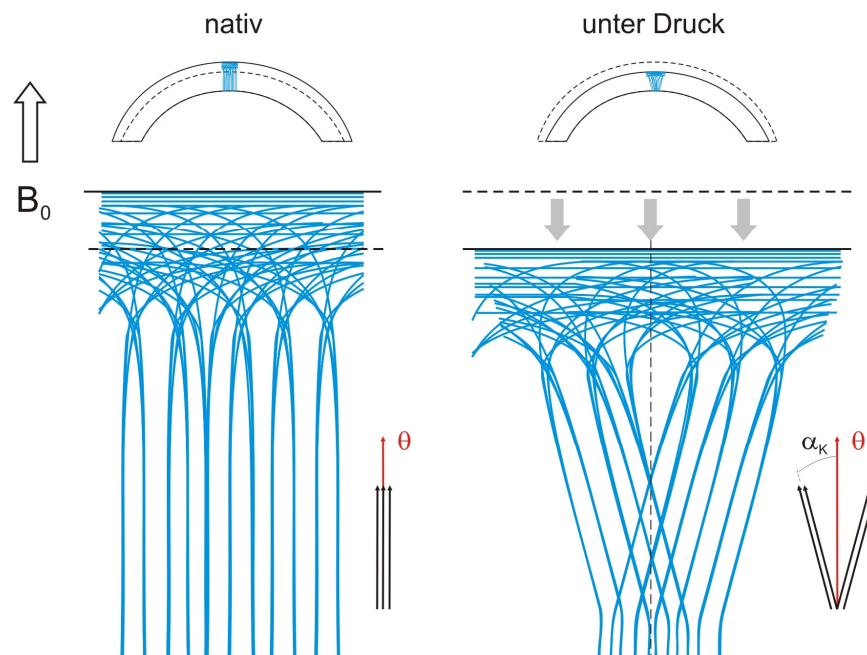


Abb. 6.18. Druckbedingte Transformation der arkadenförmigen Fasern (Abb. 6.10a) in mittlerer Region der Knorpelprobe.

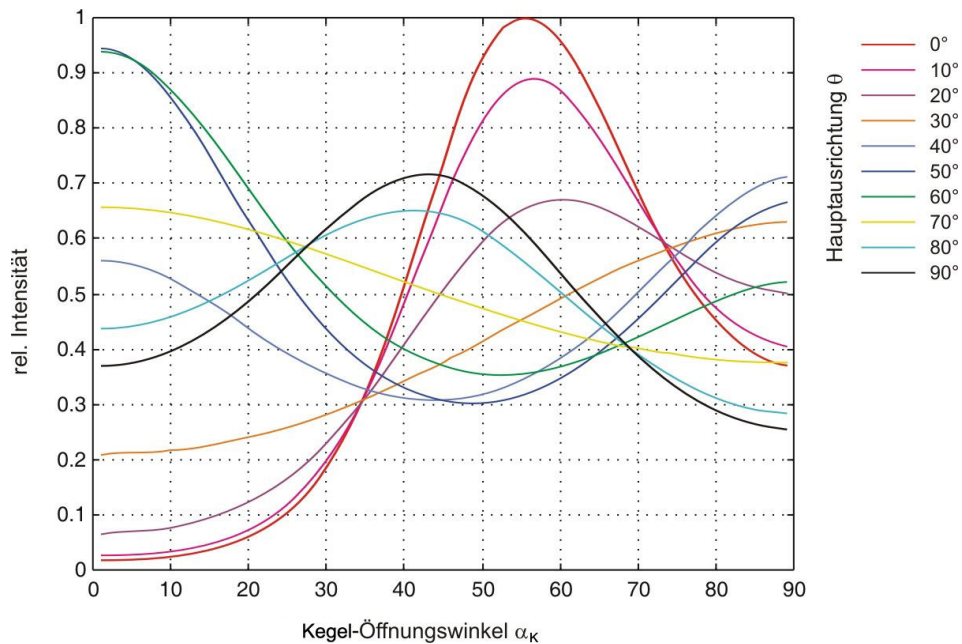


Abb. 6.19. Intensitätsverläufe in Abhängigkeit von Kegel-Öffnungswinkeln α_K bei verschiedenen Hauptausrichtungen θ der Kollagenfasern.

Auf Grund der natürlichen Wölbung der untersuchten Proben vom Schaf liegen die Fasern in den randnahen Regionen unter einem Winkel θ ungleich Null zwischen der Faserhaupttrichtung und dem äußeren Magnetfeld B_0 . Aus diesem Grund wird auch die Transformation der Fasern in diesen Regionen im Zusammenhang mit dem Verhalten der MR-Intensität entsprechend dem Kegel- bzw. Büschelmodell (Abb. 6.20, 6.21, 6.23, 6.25) diskutiert.

Es wurde oben erwähnt, dass einige Autoren eine druckbedingte Transformation der Kollagenstränge beobachteten, welche sich in der Neigung der Fasern in dem Punkt des höchsten Druckes in die entgegengesetzten Richtungen ausdrückte. Seitlich von diesem Punkt seien die Fasern in nur eine entsprechende Richtung gebogen [Glaser 2002, Thambyah 2006]. Für unsere detaillierte Untersuchung werden wir jedoch auch die (biomechanisch eher unwahrscheinliche) Möglichkeit in Erwägung ziehen, dass sich die Fasern innerhalb der ganzen Knorpelschicht gleichzeitig in beide Richtungen neigen, so wie es auf Abb. 6.20 aufgeführt ist. Die druckabhängige MR-Intensität in der radialen Zone würde in diesem Fall einen komplizierten Charakter aufweisen: In den mittleren Regionen ($\theta = 0^\circ \dots 20^\circ$) verursacht die Vergrößerung des Kegel-Öffnungswinkels α_K (s. Abb. 6.19) einen ansteigenden Verlauf mit einem Maximum bei ca. 55° bis 60° . Je weiter die Regionen vom Zentrum entfernt sind, umso komplexer wird das Intensitätsverhalten: Bei Winkeln θ zwischen 40° und 70° wendet sich der Verlauf und die Auffächerung führt zunächst zu dem Abfall der Intensität.

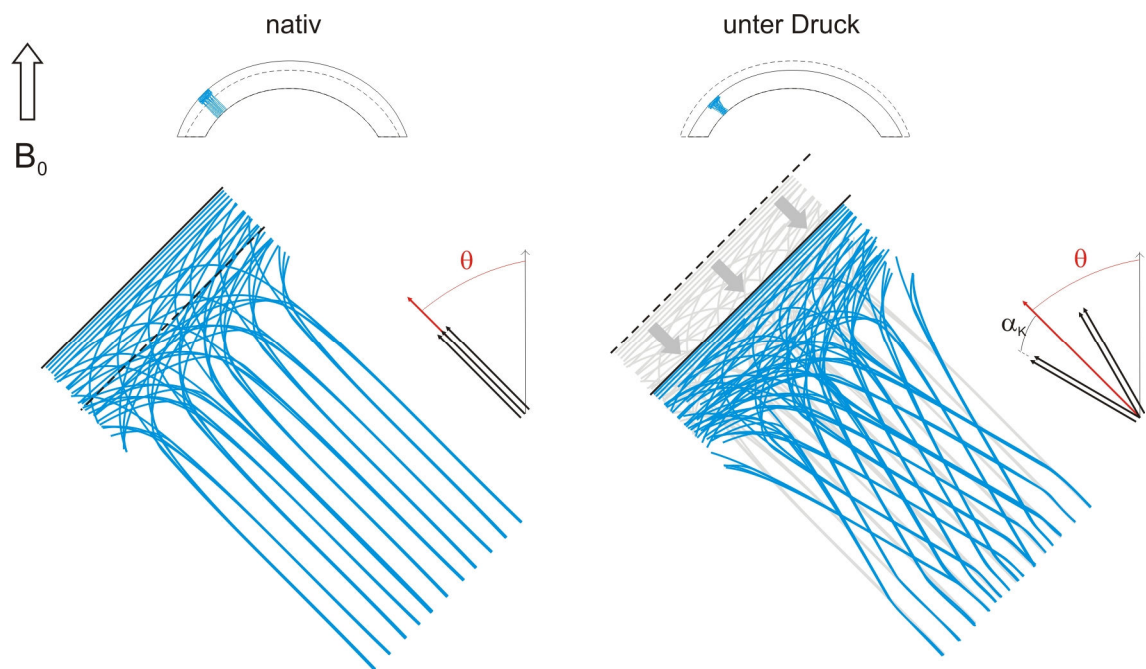


Abb. 6.20. Druckbedingte Transformation der arkadenförmigen Fasern (Abb. 6.10a) in der Randregion der Knorpelprobe mit beidseitiger Neigung.

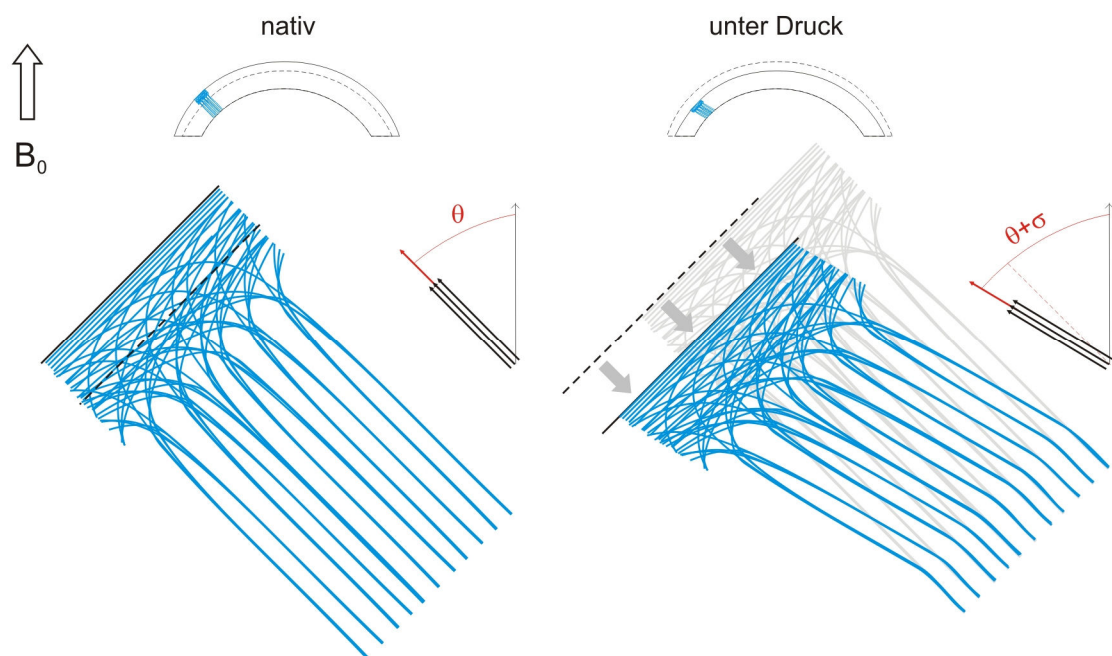


Abb. 6.21. Druckbedingte Transformation der arkadenförmigen Fasern (Abb. 6.10a) in der Randregion der Knorpelprobe mit einseitiger Neigung.

Werden die Fasern in den Randregionen unter Druck in nur eine Richtung geneigt, so entfällt die Notwendigkeit einen Öffnungswinkel α_K zu berücksichtigen (Abb. 6.21). Die druckbedingte Neigung wird in diesem Fall über einen Winkel σ nach (5.1) beschrieben (s. Abb. 5.13). Die Intensität in der radialen Zone ist in diesem Fall nur von dem Winkel $(\theta + \sigma)$ bei einem Kegel-Öffnungswinkel $\alpha_K = 0^\circ$ abhängig. Das entspricht dem Intensitätsverhältnis (4.14) für ideal radiale Fasern (s. Abb. 4.16) bei $\theta \equiv \theta + \sigma$.

Transformation wellenförmiger Fasern

Wird eine wellenförmige Kollagenstruktur zusammengedrückt, dann erscheint in der radialen Zone eine sichtbare Kräuselung, welche mit steigendem Druck immer größere Wellenamplitude aufweist [Kääb 1998]. Diese Stauchung der Kollagenstränge verursacht eine Auffächerung des Faserbüschels, welche in zentraler Region der Probe ($\theta = 0$) auf Grund des zunehmenden Büschel-Öffnungswinkels α_B (Abb. 6.22) zur Zunahme der MR-Intensität führt (Abb. 6.11). In den Randregionen (Abb. 6.23) dagegen bewirkt die druckbedingte Auffächerung eine indifferente Intensitätsveränderung, welche stark von der jeweiligen natürlichen Ausrichtung (θ) der Fasern zu der Magnetfeldrichtung B_0 abhängt (Abb. 6.24). Ähnlich wie bei den arkadenförmigen Fasern mit beidseitiger Neigung (Abb. 6.20), steigt die Intensität im zentralen Bereich ($\theta = 0^\circ \dots 20^\circ$) mit der Zunahme vom Büschel-Öffnungswinkel, auf der Peripherie ($\theta = 40^\circ \dots 70^\circ$) sinkt sie dagegen (vgl. Abb. 6.19).

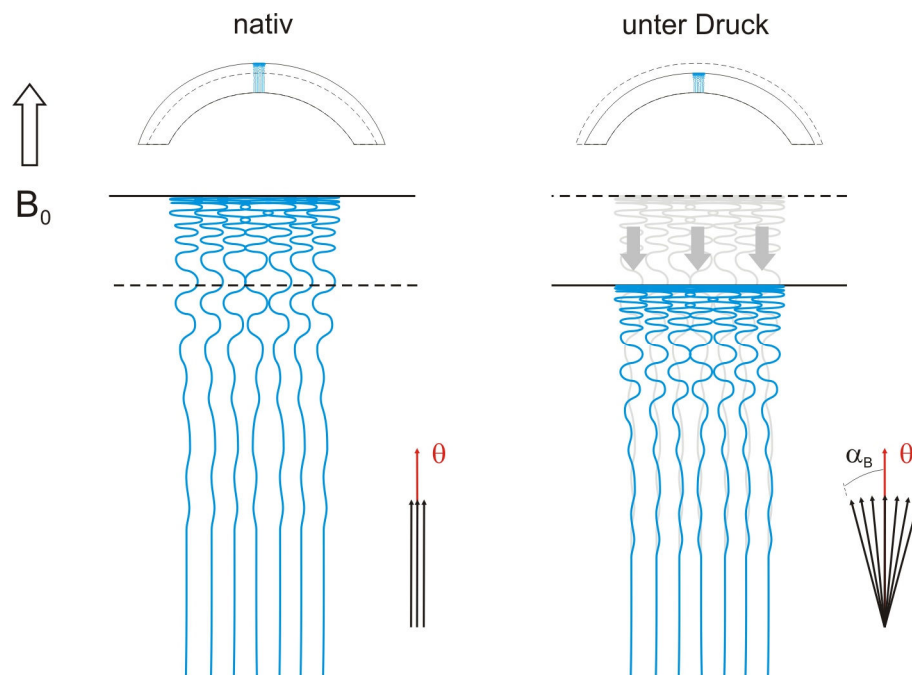


Abb. 6.22. Druckbedingte Stauchung der wellenförmigen Fasern (Abb. 6.10c) in mittlerer Region der Knorpelprobe.

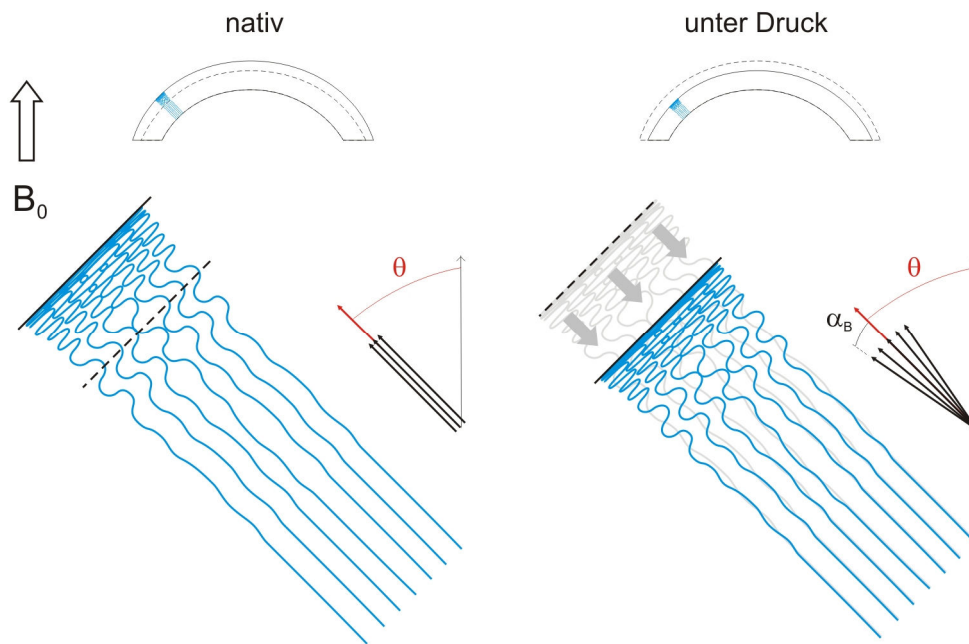


Abb. 6.23. Druckbedingte Stauchung der wellenförmigen Fasern (Abb. 6.10c) in der Randregion der Knorpelprobe.

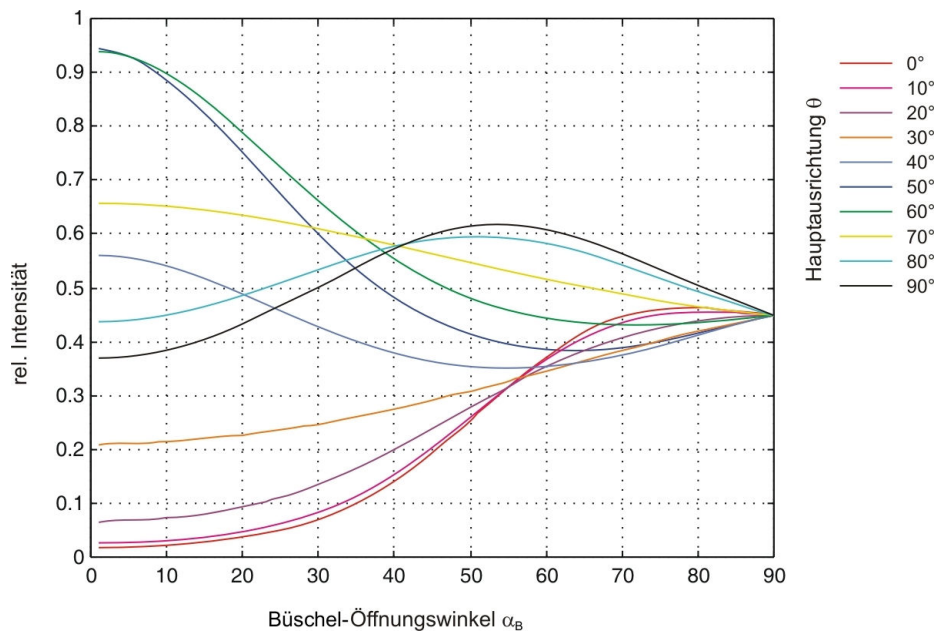


Abb. 6.24. Intensitätsverläufe in Abhängigkeit von Bündel-Öffnungswinkeln α_B bei verschiedenen Hauptausrichtungen θ der Kollagenfasern.

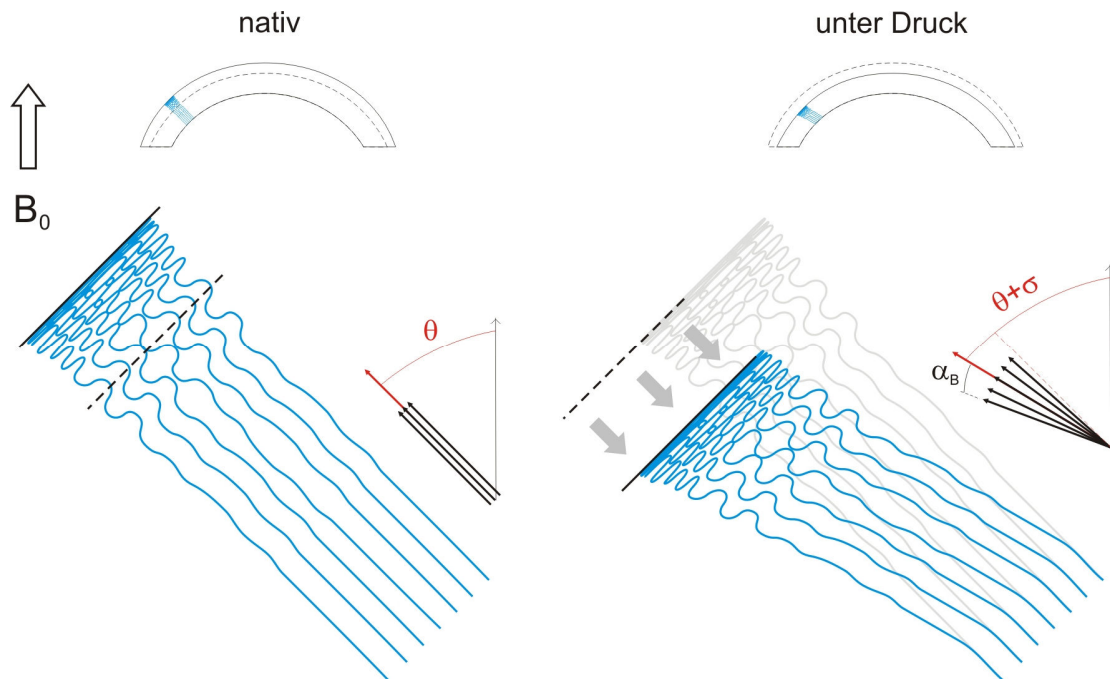


Abb. 6.25. Druckbedingte Stauchung und Neigung der wellenförmigen Fasern (Abb. 6.10c) in der Randregion der Knorpelprobe.

Von vielen Autoren wurde nicht nur eine Kräuselung (engl. *crimping*) der Kollagenfasern im druckbelasteten Knorpel sondern auch die Neigung (engl. *bending*) der Stränge beobachtet [Nötzli 1997, Käab 1998, Käab 2000, Käab 2000(2), Thambyah 2006]. In diesem Fall, bezogen auf das Faserbündel-Modell, ändert sich mit steigendem Druck sowohl die Auffächerung α_B als auch der Winkel θ zwischen der Hauptrichtung der Fasern und dem äußeren Magnetfeld B_0 (Abb. 6.25). Die Signalintensität wird damit gleichzeitig von zwei Faktoren determiniert: $I(\alpha_B, \theta)$. Solche Abhängigkeit wurde auf Abb. 4.5 dargestellt.

Die Korrelation der oben dargestellten Transformationsmechanismen des Kollagennetzwerkes unter Belastung mit den experimentellen NMR-Aufnahmen wird in Kap. 6.3.5 diskutiert.

6.3.3. Experimentell ermittelte biomechanische Eigenschaften

Wie beschrieben in Kap. 5.4.2, wurde für drei untersuchten Proben vom Schaf: AFM, BFM, BTL (s. Abbildungsunterschrift Abb. 6.1) die Neigung σ der Kollagenfasern in Abhängigkeit vom Druck p nach (5.1) errechnet (Abb. 6.27 – 6.29). Mit Hilfe der bei den Rotationsexperimenten bzw. der PLM ermittelten natürlichen Neigung σ_0 , welche sich teilweise beträchtlich von der ideal radialen Ausrichtung unterscheidet (s. Abb. 5.13, Kap. 6.1), lässt sich die korrigierte Neigung σ_{korr} darstellen. Der Vergleich

der Ausgleichkurven für σ und σ_{kor} hat gezeigt, dass die Untersuchung natürlicher Neigung für die genauere Einschätzung des Druckeinflusses auf die Kollagenstruktur durchaus notwendig ist.

Gründer hat in der früheren Arbeit von einer gleichmäßigen und mit der Knorpelnormale übereinstimmenden Hauptausrichtung der Kollagenfasern ausgegangen [Gründer 2006]. Er stellte jedoch bei der Auswertung von Faserneigungs-Daten fest, dass die Fasern bereits ohne Druckbelastung um ca. 22° geneigt waren (Abb. 6.26). In der aktuellen Arbeit wurde ohne Berücksichtigung natürlicher Faserneigung σ_0 derselbe Effekt beobachtet (■, Abb. 6.27 – 6.29). Die Korrektur der Daten mit den Resultaten der Rotationsexperimente hat zu einem realistischen Ergebnis geführt, bei welchem ohne Druck auch keine (mit einem Fehler von max. $\pm 4^\circ$) druckbedingte Neigung vorhanden ist (■, ■, Abb. 6.27 – 6.29). Darüber hinaus weist die korrigierte Druckabhängigkeit auf Grund größerer natürlicher Neigung am Rand als in der Mitte der Probe (Abb. 6.1) eine bis zu 46% stärkere Steigung gegenüber der unkorrigierten Gerade auf. Diese Steigung bestimmt den Einfluss des Druckes auf die Neigung der Kollagenfasern. Gründer hat diesen Koeffizienten als „Winkel-Modul“ $E_\sigma = \Delta p / \Delta \sigma$ bezeichnet [Gründer 2006]. In unserer Studie beträgt dieser Parameter je nach Probe 25 bis 37 $\text{kPa}/^\circ$ (s. Tab. 6.1).

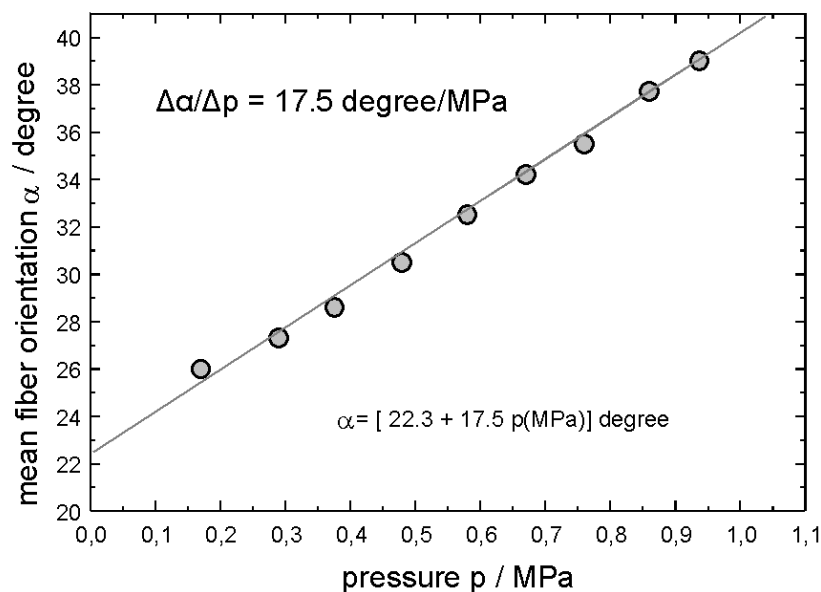


Abb. 6.26. Änderung der Hauptausrichtung der Kollagenfasern unter Belastung aus [Gründer 2006]. Der Neigungswinkel wurde in dieser Arbeit durch α gekennzeichnet.

Offensichtlich korreliert der „Winkel-Modul“ mit den elastischen Eigenschaften des Gewebes (Abb. 6.30 – 6.32): Der errechnete Elastizitätsmodul E (2.1), ähnlich wie E_σ , ist größer bei der Tibiaprobe und kleiner bei dem femoralen Knorpel. Elastische Deformation des Gewebes unter Druck wurde quantitativ ermittelt in der mittleren Region (Probenmitte) sowie in den Magischer-Winkel-Bereichen (Probenrand). Dabei

ergab sich eine geringfügig höhere Steifigkeit des Materials in den randnahen Regionen (Tab. 6.1), welche möglicherweise auch auf die experimentelle Bedingungen zurückzuführen ist.

Tab. 6.1. Biomechanische Eigenschaften der Knorpelproben.

Probe	„Winkel-Modul“ E_{σ} , $MPa/^{\circ} \times 10^3$		Elastizitätsmodul E , MPa	
	korrigiert	unkorrigiert	Mag. Winkel	Mitte
AFM	28,25	46,7	2,22	1,85
BFM	25	35,7	2,4	2
BTL	36,76	68,3	5,26	3,85

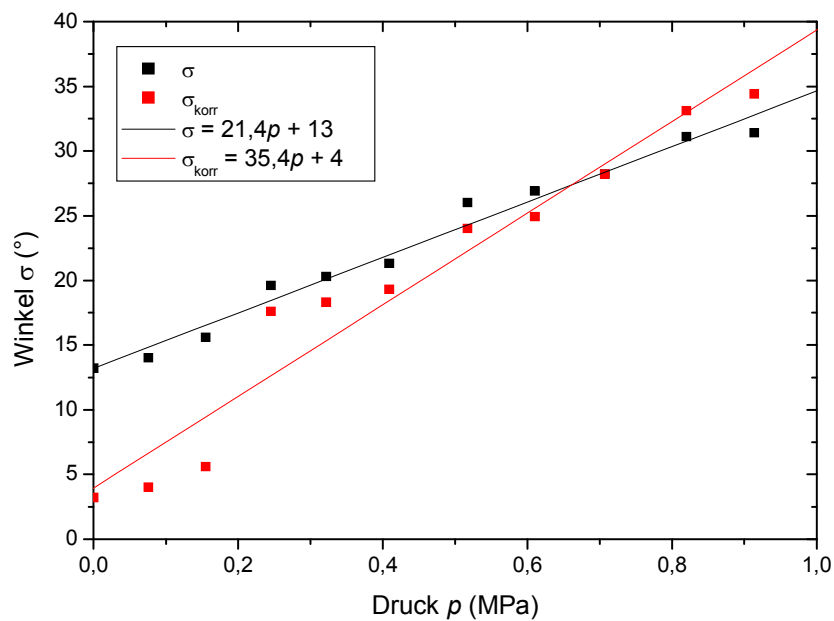


Abb. 6.27. Experimentell bestimmte druckbedingte Neigung σ der Kollagenfasern der Knorpelprobe AFM (Schaf, 3 Jahre).

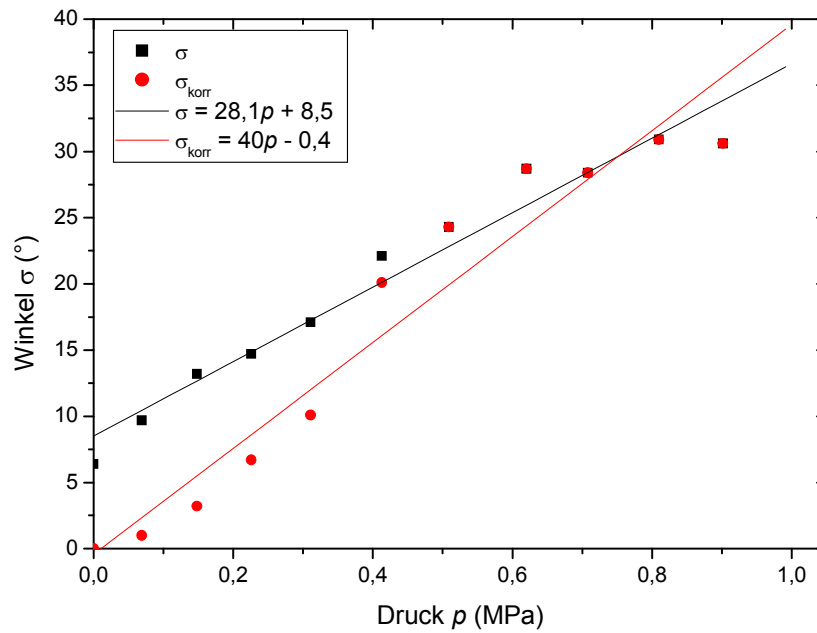


Abb. 6.28. Experimentell bestimmte druckbedingte Neigung σ der Kollagenfasern der Knorpelprobe BFM (Schaf, 3 Jahre).

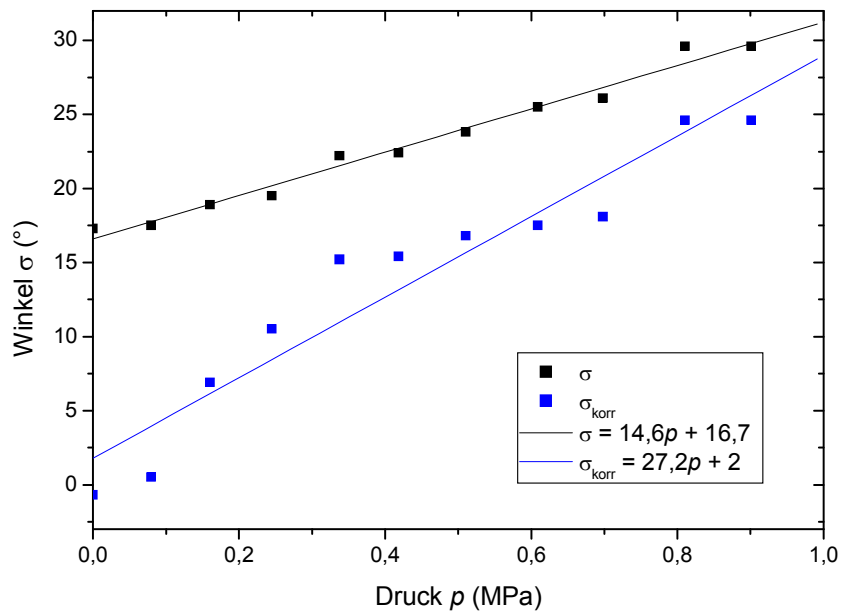


Abb. 6.29. Experimentell bestimmte druckbedingte Neigung σ der Kollagenfasern der Knorpelprobe BTL (Schaf, 3 Jahre).

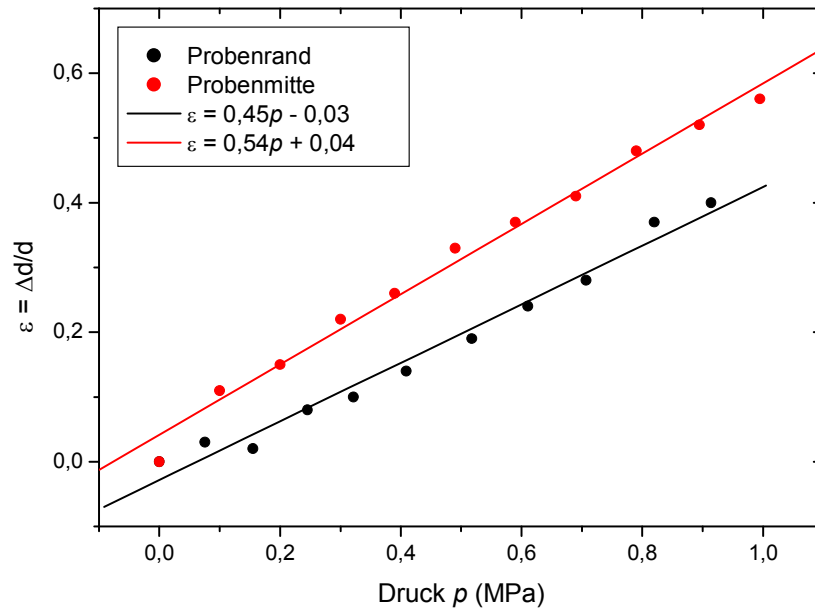


Abb. 6.30. Elastische Deformation der Knorpelprobe AFM (Schaf, 3 Jahre).

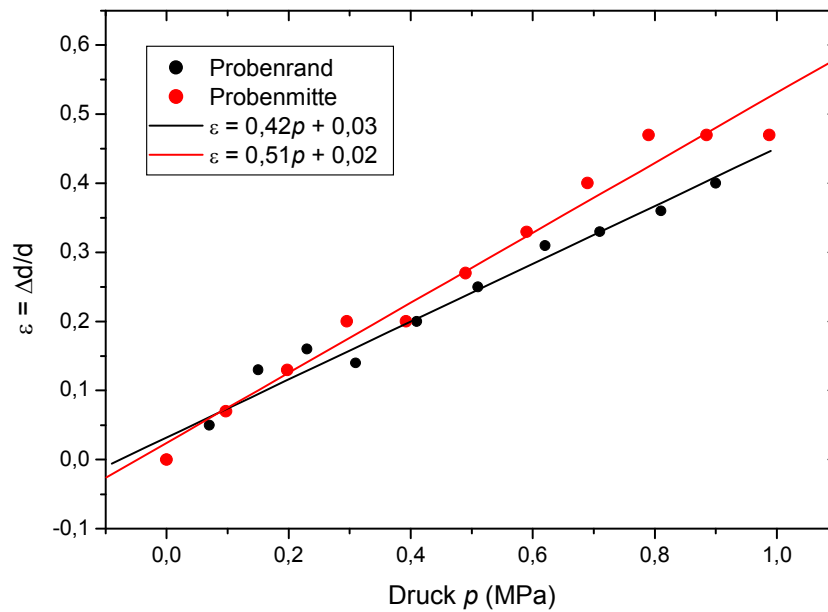


Abb. 6.31. Elastische Deformation der Knorpelprobe BFM (Schaf, 3 Jahre).

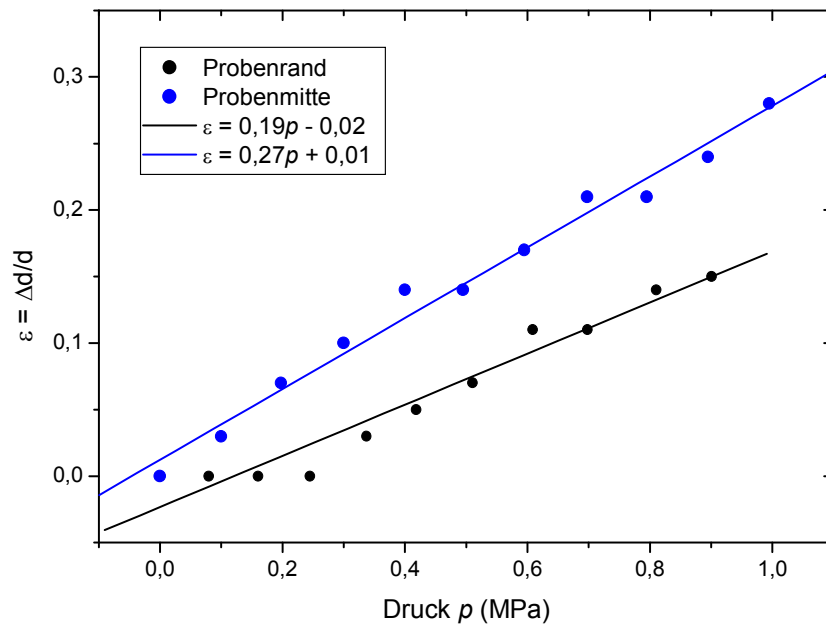


Abb. 6.32. Elastische Deformation der Knorpelprobe BTL (Schaf, 3 Jahre).

6.3.4. Druckbedingte Kräuselung der Fasern

Aus der Beobachtung der Deformation der Kollagenstruktur unter Belastung, die sich in einer Abnahme der Knorpeldicke und einer (dadurch bedingten) Neigung der Fasern zeigt, lassen sich Aussagen zur Formänderung der Kollagenstränge ableiten. Ein eventuell möglicher Deformationsmechanismus ist in Abb. 6.33 schematisch dargestellt. Danach ergibt sich bei gegebenen Neigungswinkeln σ und σ_0 sowie Dicke d bzw. Dickenänderung Δd eine scheinbare „Verkürzung“ der Faserlänge:

$$\Delta l = \frac{d}{\cos \sigma_0} - \frac{d - \Delta d}{\cos(\sigma + \sigma_0)}. \quad (6.3)$$

Offensichtlich können unterschiedliche Mechanismen zu dieser „Verkürzung“ beitragen. Es könnte zum Beispiel eine größere Neigung der Fasern in der Nähe der Knorpeloberfläche, eine Verformung der Fasern durch einen „Knick“ zu einer „Chevron-Form“ (*engl.* chevron-type shear discontinuity) [Thambyah 2006, Thambyah 2007] oder auch die bereits erwähnte Kräuselung der Fasern in der radialen Zone auftreten.

Wenn man die einfache Neigung (Abb. 6.33) berücksichtigt und davon ausgeht, dass die auftretende Verkürzung eine zunehmende Kräuselung der Fasern bewirkt, lässt sich diese durch eine relative Verkürzung $\Delta l/l$ der Fasern (Abb. 6.34) unter Belastung beschreiben. Erwartungsgemäß erhöht sich der Verkürzungsgrad und somit auch die Kräuselung mit steigendem Druck, was auch Kääb et al. in ihrer Arbeit [Kääb 1998(1)] beobachtet haben.

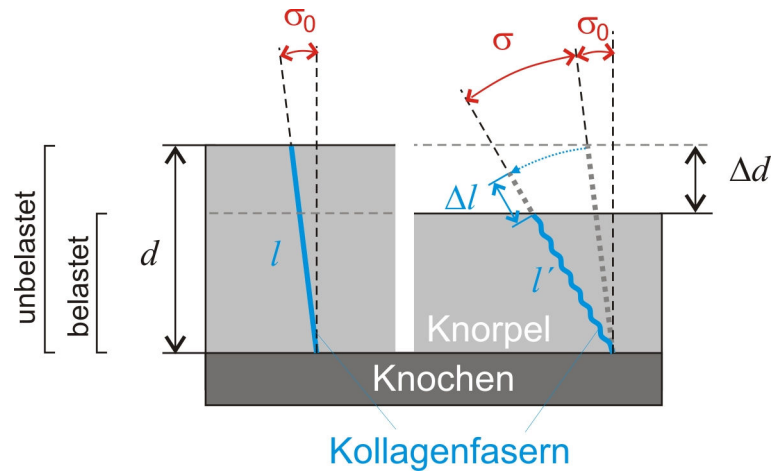


Abb. 6.33. Schematische Darstellung des Deformationsmechanismus der Kollagenfasern zur Berechnung der relativen Verkürzung.

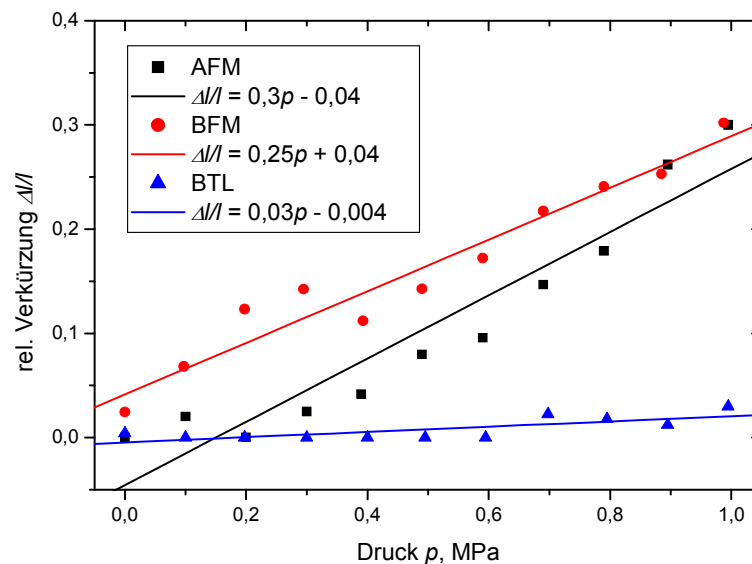


Abb. 6.34. Verkürzung der Kollagenfasern unter der Belastung bei einfachen Neigung in den Randregionen der Proben (Schaf, 3 Jahre).

Zum Erklärungsversuch für eine derartige Formänderung der Kollagenfasern unter Belastung kann ein vereinfachtes geometrisches Modell dienen, in welchem die Kräuselung der Stränge als Umwandlung einer Gerade in eine Sinuskurve dargestellt werden kann. Bei der Transformation dieser Weise verringert sich die Länge der Faser zugunsten der Zunahme deren Breite. Dieser Effekt trifft für den Knorpel als ein praktisch absolut inkompressibles Gewebe zu.

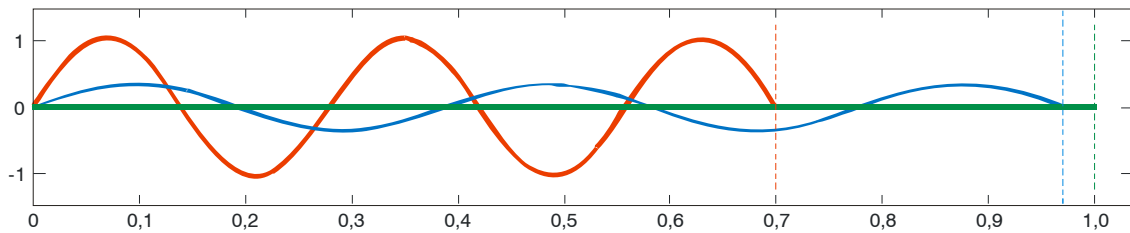


Abb. 6.35. Schematische Darstellung der Verformung der Kollagenfasern unter Belastung aus einer geradlinigen in eine Sinusform (Erläuterungen im Text).

Der Mechanismus einer solchen Verformung lässt sich aus Abb. 6.35 erklären. Die grüne gerade Linie stellt eine unbelastete Faser der Länge $l = l$ dar. Wie man aus Abb. 6.34 ableiten kann, wurde bei den femoralen Knieproben eine Verkürzung von ca. 0,3 bzw. ca. 0,03 bei dem Tibiaknorpel unter der maximalen Druckbelastung von 1 MPa beobachtet. Dementsprechend verringert sich die Länge l' der Femur- bzw. Tibiafasern auf 0,7 bzw. 0,97 (rote bzw. blaue Kurve auf Abb. 6.35) der Ausgangslänge l . Die tatsächliche Länge L der Fasern muss jedoch theoretisch unverändert bleiben. Unter der Annahme, dass die Fasern bei Kräuselung die Form der Sinuskurve annehmen, welche bei der Stauchung in erster Linie die Amplitude sowie geringfügig auch die Wellenlänge ändert und unter der Bedingung, dass die tatsächliche Kurvenlänge konstant bleibt, lässt sich die Amplitude einer solchen harmonischen Funktion $f(x) = a \cdot \sin(\omega x)$ berechnen: Ihre Länge im Intervall $[t_1, t_2]$ ergibt sich zu

$$L = \int_{t_1}^{t_2} \sqrt{1 + \left(\frac{df(x)}{dx} \right)^2} dx \quad (6.4)$$

In unserem Fall ist die Funktion $f(x) = a \cdot \sin(\omega x)$ auf einem Intervall $[0, l]$ gegeben und die Beziehung für Berechnung tatsächlicher Kurvenlänge wird als

$$L = \int_0^l \sqrt{1 + a^2 \omega^2 \cos^2(\omega x)} dx \quad (6.5)$$

beschrieben. Da diese Funktion ein Elliptisches Integral darstellt, kann die Länge L nur numerisch berechnet werden. Auf Abb. 6.36 sind die berechneten Kurvenlängen relativ zu der Länge der geraden Linie (grün) in Intervallen $[0, 0,7l]$ für Femur (rot) und $[0, 0,97l]$ für Tibia (blau) bei unterschiedlichen Amplituden a angezeichnet. Die Frequenz der Sinuskurve wird in Abhängigkeit von der druckbedingten Stauchung als

$\omega = \frac{1}{l - \Delta l}$ angenommen. Das ergibt für den Femurknorpel einen Wert von ca. 1,43 und für die Tibia ca. 1,03.

Daraus ergibt sich für die Faser der Femurproben aus unserem Experiment bei einem Druckwert von 1,0 MPa eine Form, die mit der Funktion $f_f(x) = 1,05 \cdot \sin(1,43x)$

beschrieben wird. Für die Tibia gilt $f_i(x) = 0,35 \cdot \sin(1,03x)$. Auf Abb. 6.35 sind diese Kurven gezeigt worden.

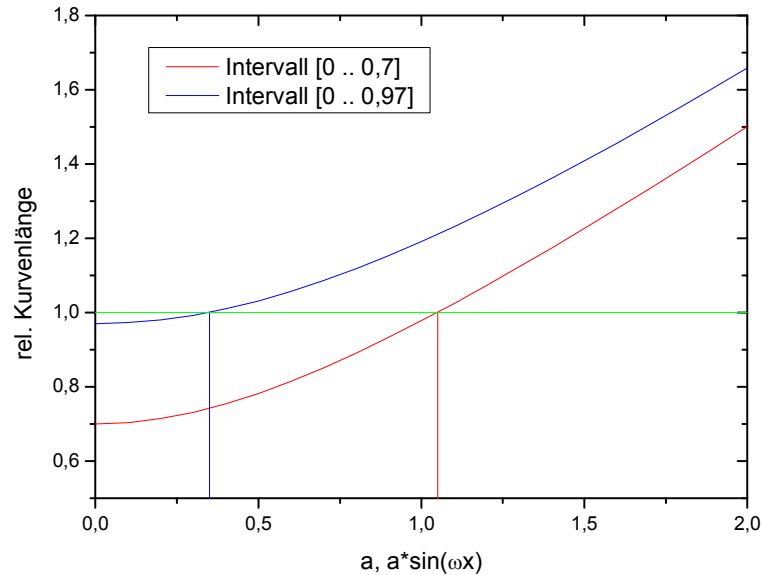


Abb. 6.36. Numerisch errechnete Abhängigkeit der Länge der Sinuskurven $a \cdot \sin(\omega x)$ von der Amplitude a in den Intervallen $[0, 0,7]$ und $[0, 0,97]$ bei den Frequenzen 1,43 bzw. 1,03.

Die Anpassung der Faserform an die theoretische Sinuskurve ermöglicht die Ermittlung des Bündel-Öffnungswinkels α_B bei der druckbedingten Kräuselung, da sich durch Differenzierung der bekannten Funktion der Steigungswinkel im beliebigen Punkt x_0 berechnen lässt:

$$\alpha_B(x_0) = \arctan(f'(x_0)). \quad (6.6)$$

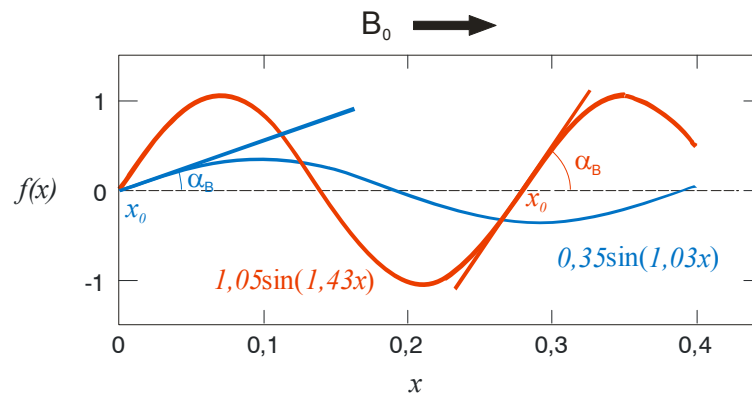


Abb. 6.37. Zur Berechnung des Bündel-Öffnungswinkels α_B von gegebenen Sinuskurven $a \cdot \sin(\omega x)$.

Dabei wird als x_0 der Punkt mit der höchsten Steigung ausgewählt, welcher bei einer Sinusfunktion der Schneidepunkt mit der Nullachse ist (Abb. 6.37). Nach der Berechnung ergibt sich für den Öffnungswinkel α_B ein Wert von ca. 56° für die Femurproben und ca. 20° für die Tibia bei dem Höchstdruck von 1 MPa. Auf diese Weise lässt sich die allgemeine Abhängigkeit des Bündel-Öffnungswinkels α_B vom Druck darstellen (Abb. 6.38).

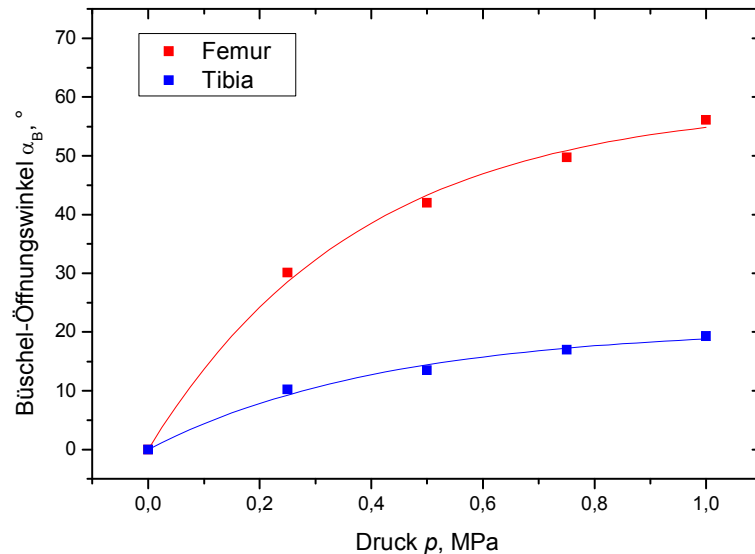


Abb. 6.38. Druckabhängigkeit des Bündel-Öffnungswinkels α_B bei der Kräuselung der Kollagenfasern unter der Belastung p .

Die Bewertung erhaltener Öffnungswinkel offenbart eine Unstimmigkeit mit den experimentellen Daten, denn bereits ab einem Bündel-Öffnungswinkel von ca. 30° (s. Abb. 6.15) würde die spezifische Winkelabhängigkeit der Intensität verschwinden, was bei dem Femurnorpel ab der Druckstufe 0,3 MPa (Abb. 6.38) der Fall wäre. Der Magischer-Winkel-Effekt wurde jedoch auch nach dem höchsten Druckwert von 1,0 MPa beobachtet. Als Schlussfolgerung ergibt sich, dass der in Abb. 6.33 vorgeschlagene einfache Mechanismus der Faserneigung unter Belastung nicht den realen biomechanischen Ablauf widerspiegelt.

Die mikroskopischen Untersuchungen der Faserdeformierung unter der Druckbelastung von Thambyah et al. zeigen eine Verformung der Kollagenfasern zu einer so genannten „Chevron- (Zickzack-)Kurve“ (s. Abb. 2.14c) [Thambyah 2006, Thambyah 2007]. Diese Form entsteht offensichtlich auf Grund der festen Bezugspunkte der Fasern in der intakten oberflächlichen Tangentialschicht. Von den Autoren wurde jedoch keine Druckabhängigkeit der „Chevron-Form“ untersucht. Es wurde nur eine einzige Druckstufe angewandt. Die Verformung von Kollagenfasern bei unterschiedlich starker Belastung kann man jedoch von den Randregionen der Druckfläche (Abb. 2.14c) ableiten: sie beginnt mit der leichten Krümmung und

bekommt einen immer schärferen Knick. Dieses Verhalten ist auf Abb. 6.39 schematisch dargestellt. Ähnliche Verformung stellten auch Alhadlaq und Xia bei der Auswertung von hochaufgelösten MRT-Aufnahmen von belastetem Knorpel fest [Alhadlaq 2004(2)].

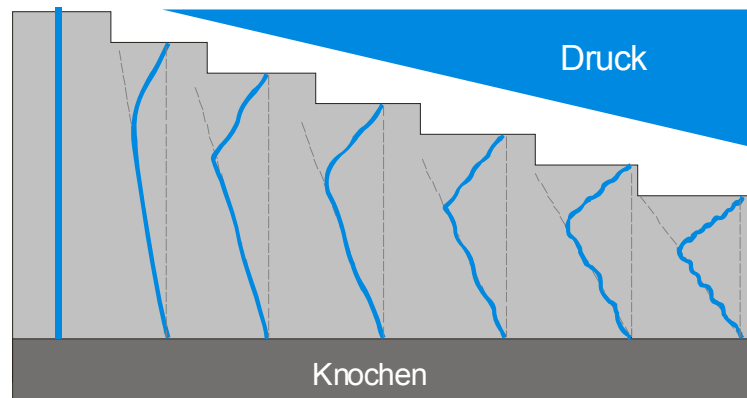


Abb. 6.39. „Chevron-type“ Verformung der Kollagenfasern unter Belastung.

Bei derartiger Deformierung werden die Kollagenfasern wesentlich geringer verkürzt als bei der oben aufgeführten einfacher Neigung. Zur genaueren Berechnung der relativen Verkürzung der Kollagenfasern kann die Länge l der Stränge aus der Ermittlung des Umfangs des gebildeten Dreiecks abgeleitet werden (Abb. 6.40).

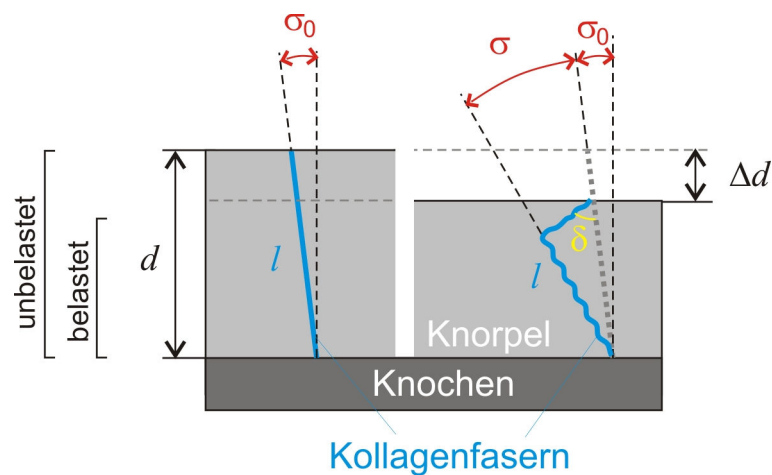


Abb. 6.40. Schematische Darstellung des „Chevron-type“-Deformationsmechanismus der Kollagenfasern zur Berechnung der relativen Verkürzung.

Der Umfang lässt sich aus bekannter Knorpeldicke und dazugehörigen Winkel mit Hilfe des Verhältnisses:

$$u = l + \frac{(d - \Delta d)}{\cos \sigma_0} = \frac{4(d - \Delta d)}{\cos \sigma_0 \cdot \sin(\pi - \delta - \sigma)} \cdot \cos\left(\frac{\pi - \delta - \sigma}{2}\right) \cdot \cos \frac{\delta}{2} \cdot \cos \frac{\sigma}{2} \quad (6.7)$$

bestimmen. Das Problem bei dieser Berechnung besteht in fehlenden Kenntnissen über die Knickschärfe des Chevrons nahe der Oberfläche und damit in unbekannter Größe des Winkels δ . Aus der Literatur sind jedoch einzelne Aussagen bekannt, aus denen man die Position des Knicks herleiten kann. Thambyah und Broom beobachten dieses Phänomen in einer Tiefe von 150-300 μm von der Oberfläche, Kääb et al. geben dafür eine relative Höhe von 0,5 bis 0,8 an, welche mit steigender Druckbelastung tendenziell sinkt [Kääb 1998(1), Thambyah 2006, Thambyah 2007]. Bei den vorliegenden Berechnungen wird angenommen, dass sich die Position des Chevrons auf der relativen Höhe von 0,8 befindet. Die Vorgabe der relativen Höhe von 0,5 würde zu den gleichen Ergebnissen wie bei der bereits beschriebenen einfachen Neigung führen.

Die Festlegung der relativen Knicksposition von 0,8 vereinfacht die Ermittlung der Faserverkürzung bei der „chevron-type“ Deformation, da der bisher fehlende Winkel δ jetzt eine feste Abhängigkeit vom gegebenen Winkel σ aufweist, welche durch folgenden Ausdruck beschrieben werden kann:

$$\delta = \frac{\pi}{2} + \sigma_0 - \arctan\left(\frac{0,2}{0,8 \cdot \tan(\sigma + \sigma_0) - \tan \sigma_0}\right) \quad (6.8)$$

Daraus ergibt sich für die gesuchte Verkürzung $\Delta l/l$ aus (6.7) und (6.8) unter Normierung $d = 1$ und nach wenigen trigonometrischen Umwandlungen:

$$\frac{\Delta l}{l} = 1 - (1 - \Delta d) \cdot \frac{\cos\left(\sigma_0 - \arctan\left(\frac{0,2}{0,8 \cdot \tan(\sigma + \sigma_0) - \tan \sigma_0}\right)\right) + \sin \sigma}{\cos\left(\sigma + \sigma_0 - \arctan\left(\frac{0,2}{0,8 \cdot \tan(\sigma + \sigma_0) - \tan \sigma_0}\right)\right)} \quad (6.9)$$

Auf Abb. 6.41 ist die relative Verkürzung bei der Chevron-artigen Deformation der Kollagenfasern unter Belastung für die untersuchten Knorpelproben dargestellt. Demnach lässt sich eine Verkürzung von etwa 6–10% für den Femurknorpel bei der Druckbelastung von 1 MPa feststellen. Für die Tibia wird keine messbare Verkürzung beobachtet.

Nach analogen Berechnungen wie für den Fall einfacher Neigung ergibt sich bei der „chevron-type“-Neigung unter maximaler Druckbelastung von 1 MPa der Büschel-Öffnungswinkel von ca. 28° bzw. 34° für die AFM- bzw. BFM-Probe. Entsprechende Druckabhängigkeit des Öffnungswinkels α_B ist auf Abb. 6.42 dargestellt. In diesem Fall befindet sich der Öffnungswinkel bei der maximalen Druckbelastung nicht deutlich über den Werten von 30° und somit entspricht vermutlich die Chevron-artige Deformation der Fasern annähernd dem Verhalten der Kollagenmatrix unter dem Druck.

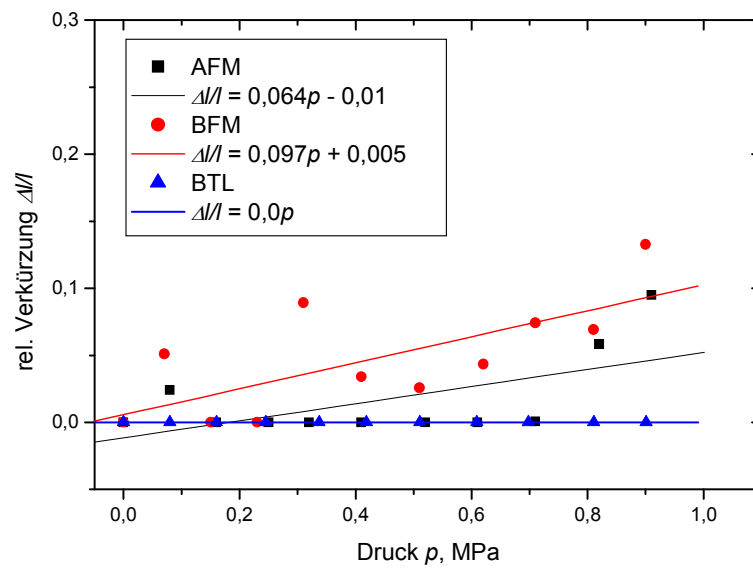


Abb. 6.41. Verkürzung der Kollagenfasern unter der Belastung bei „chevron-type“-Deformation in den Randregionen der Proben (Schaf, 3 Jahre).

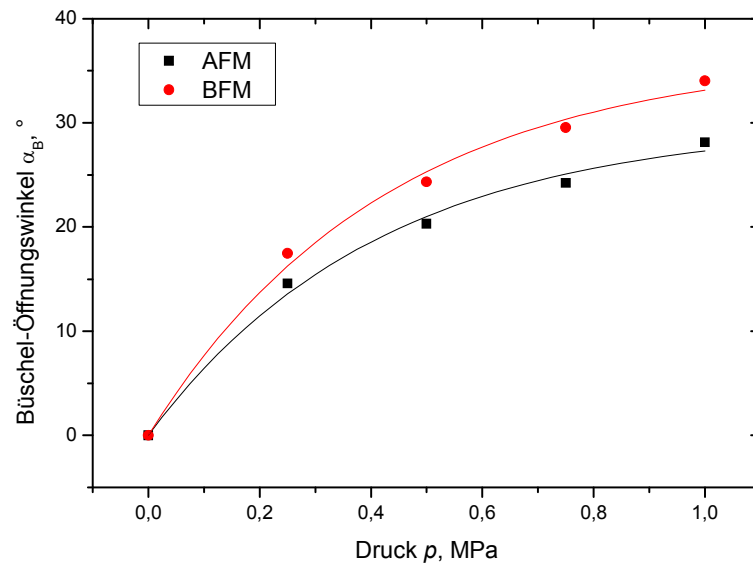
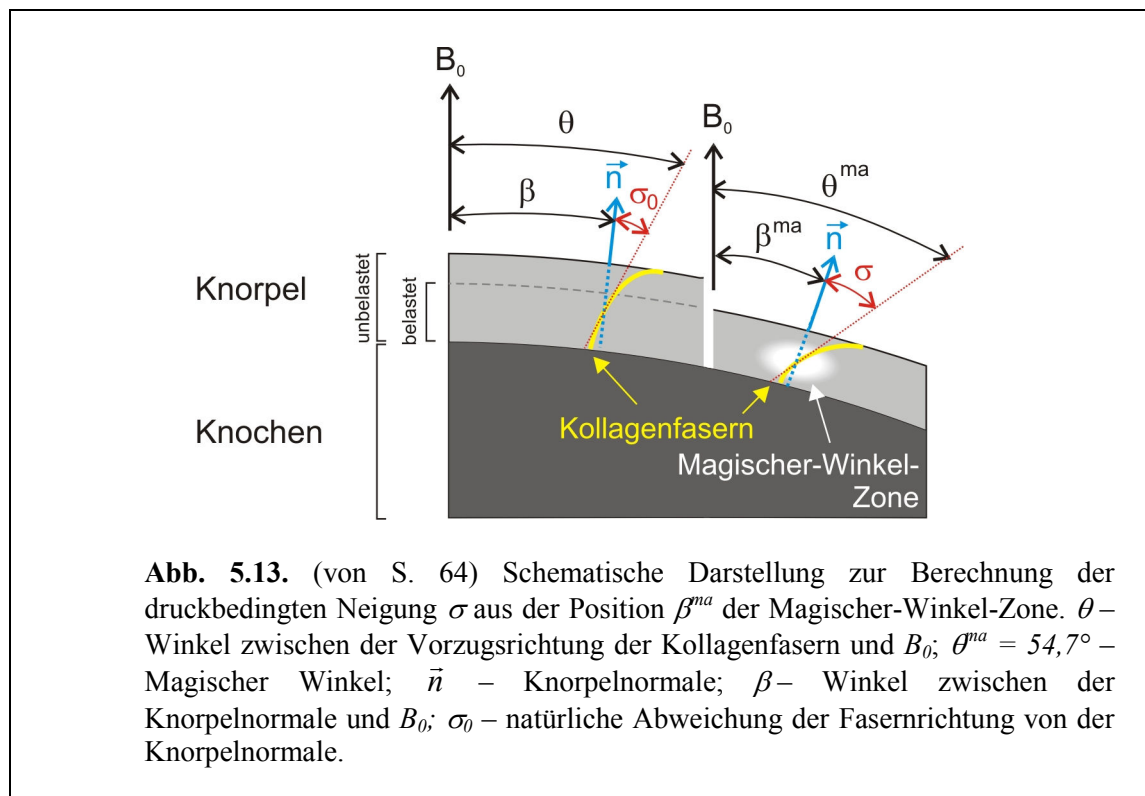


Abb. 6.42. Druckabhängigkeit des Büschel-Öffnungswinkels α_B bei der Kräuselung der Kollagenfasern auf Grund der „chevron-type“-Deformation der Matrix unter der Druckbelastung p .

6.3.5. Korrelation der Transformationsmodelle mit der Intensitätsänderung

Aus den Ergebnissen der μ MRT-Versuche mit identischem Druck über die ganze Knorpeloberfläche (s. Kap. 5.4) sind auf der Basis der beobachteten Intensitätsänderungen genauere Informationen über druckbedingten Transformation der Kollagenmatrix ableitbar. Dazu werden die theoretischen Intensitätsverläufe für die in Kap. 6.3.2 dargestellten Neigungsmodelle mit den experimentell gemessenen MRT-Daten verglichen.

In Kap. 5.4.2 wurde die druckabhängige Verschiebung einer kleinen hyperintensiven (unter dem magischen Winkel zu B_0 orientierten) Knorpelregion beschrieben (Abb. 5.7). Probenabhängig befand sich diese Region im Bereich $\beta^{ma} = 25^\circ \dots 45^\circ$ (s.u. Abb. 5.13 zur Winkeldefinitionen). Aus diesem Grund wurde zur Beobachtung der Intensitätsänderung eine Koordinate von $\beta = 30^\circ$ ausgewählt. Da an dieser Stelle die ermittelte natürliche Neigung σ_0 nahe Null liegt (Abb. 6.1), befinden sich die Kollagenfasern in dieser Region unter einem Winkel zum äußeren Magnetfeld B_0 von $\theta = \beta = 30^\circ$. Wie die Ermittlung der druckbedingten Neigung σ gezeigt hat (Kap. 6.3.3), ändert sich die Faserausrichtung bei der Druckbelastung um 27° bis 40° (Abb. 6.27 – 6.29). Demzufolge wird für die theoretische Darstellung ein Mittelwert von 35° angenommen.



In Kap. 6.3.2 wurden mögliche Varianten der Kollagenmatrixtransformation unter der Druckbelastung dargestellt. Abb. 6.43a-c zeigen theoretische Intensitätsverläufe der in Abb. 6.20, 6.21 und 6.23 dargestellten Deformationen der Kollagenfasern in den Knorpelrandregionen bei definierten Werten von θ und α_K bzw. α_B . Auf der Grafik in Abb. 6.43d sind die gemessenen druckabhängigen MR-Intensitäten für die untersuchten Knorpelproben für Regionen mit einer Ausgangs-Faserorientierung von 30° aufgezeichnet. Auffallend ist für alle drei Proben ein glockenförmiger regionaler Intensitätsverlauf mit einem deutlichen Anstieg, einem Maximum (Magischer-Winkel-Region) und einem flacheren Abfall. Der Vergleich von experimentellen Daten mit theoretischen Kurven zeigt ein ähnliches Intensitätsverhalten von realen Knorpelproben (Abb. 6.43d) und dem auf Grundlage des Neigungsmodells für arkadenförmige, in eine Richtung geneigte Fasern berechneten (Abb. 6.21, 6.43b).

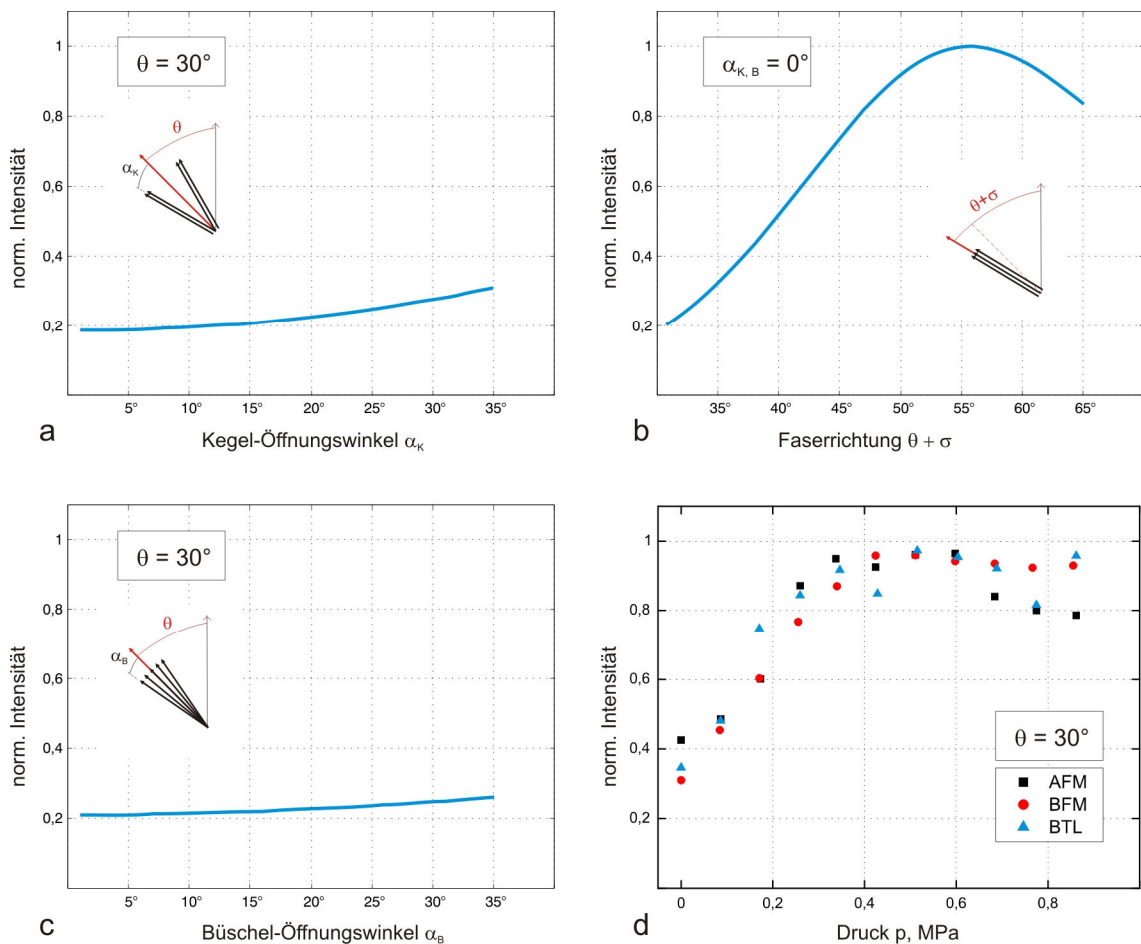


Abb. 6.43. Zur Bestimmung der Neigung der Kollagenfasern anhand der Intensitätsänderung. **a–c:** Theoretische Intensitätsverläufe entsprechend den in Abb. 6.20, 6.21 und 6.23 gezeigten Neigungsmodellen. **d:** Experimentell ermittelte Intensitätsänderung der untersuchten Proben (Schaf, 3 Jahre).

Bei der Bestimmung der druckbedingter Kräuselung der Kollagenfasern (Kap. 6.3.4) der untersuchten Proben wurde eine Auffächerung des Bündel-Öffnungswinkels α_B um etwa 30° festgestellt. Abb. 6.25 beschreibt eine weitere Deformationsform der Fasern unter dem Druck, bei welcher diese sowohl geneigt als auch gestaucht werden. Bei bekannter Neigung σ von 0° bis 35° sowie bekannter Kräuselung, welche, verursacht durch die Erhöhung des Drucks von 0 auf 1,0 MPa, zur Zunahme des Bündel-Öffnungswinkels α_B von 0° bis 30° führt, lässt sich für $\beta = 30^\circ$ ein regionaler, in Abb. 6.44 dargestellter Intensitätsverlauf errechnen (rote Kurve). Die grauen Kurven in dieser Grafik entsprechen der Intensitätsverläufen für Zonen im Bereich von $\theta = 30^\circ$ bis 65° (für die Anfangshauptausrichtung an der Beobachtungsstelle $\theta = \beta$ von 30° und druckbedingte Neigung σ von 0° bis 35°) bei Bündel-Öffnungswinkeln α_B von 0° bis 30° . Da bei dieser Berechnung die Intensität nicht nur in Abhängigkeit von der Hauptausrichtung θ sondern auch von der mit dem Druck steigenden Kräuselung beobachtet wird, wurden die dem jeweiligen Druckwert entsprechenden Punkte in die Kurven eingezeichnet.

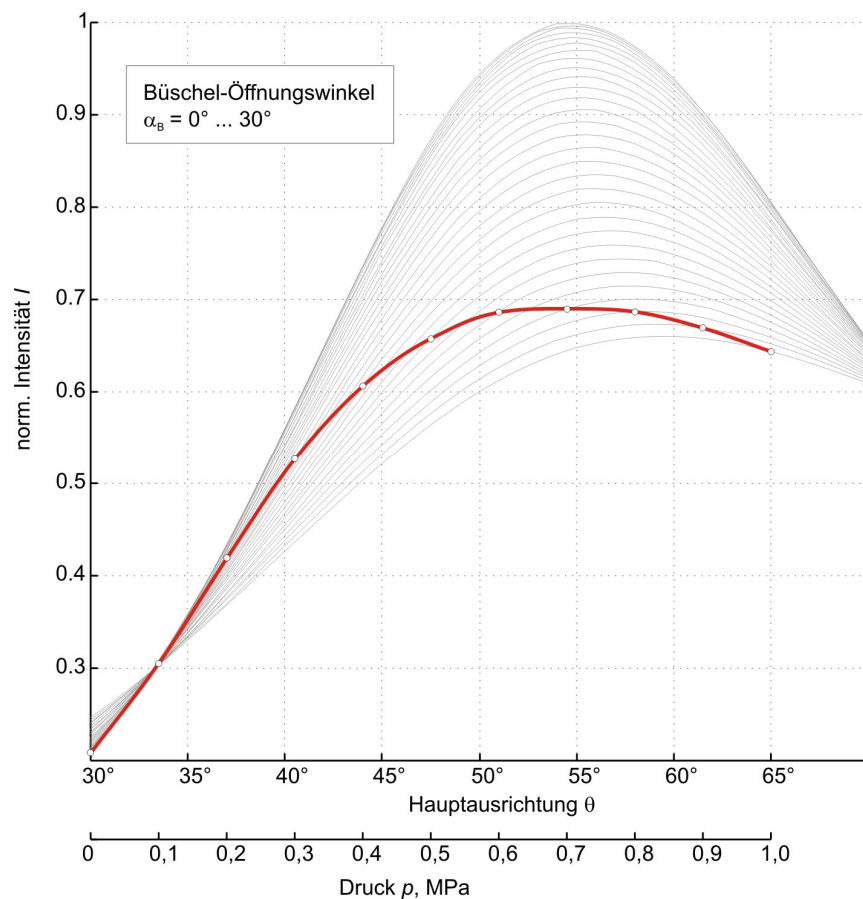


Abb. 6.44. Theoretische Abhängigkeit der MR-Intensität bei Berücksichtigung druckbedingter Neigung ($\theta = 0^\circ \dots 35^\circ$) und Kräuselung ($\alpha_B = 0 \dots 30^\circ$) der Kollagenfasern.

Die Form der auf diese Weise erhaltenen Intensitätsabhängigkeit findet eine gute Übereinstimmung mit der experimentell gemessenen Variation der Intensität bei den untersuchten Knorpelproben (Abb. 6.43 d). Diese Ähnlichkeit drückt sich insbesondere in einem relativ flachen Maximum und einem schwachen Abfall der Intensitätskurve aus. Aus der Auswertung der theoretischen und experimentellen Daten lässt sich ein Deformationsmodell ableiten, bei dem unter der Druckbelastung die Kollagenfasern in der tiefen radialen Zone in eine gemeinsame Richtung geneigt werden mit gleichzeitiger Entstehung einer leichten Kräuselung (Abb. 6.25).

6.3.6. Intensitätsänderung in der mittleren Region der Proben

Bislang wurden biomechanischen Parametern des Knorpels anhand der Auswertung der NMR-Experimente mit dem über die ganze Oberfläche identischem Druck ermittelt. Unter klinischen Bedingungen sind solche Versuche nicht realisierbar. Aus diesem Grund sollte überprüft werden, auf welche Weise bei den *ex vivo* Experimenten gewonnene Resultate in der Praxis umgesetzt werden können.

Es wurde bereits erwähnt, dass es möglich ist, unter *in vivo* Bedingungen eine Druckabhängigkeit der MR-Intensität bei Belastungsexperimenten in klinischen MRT-Scanner aufzunehmen (Kap. 5.4.2). Dies ist jedoch bei der parallel zu der Körperachse gerichteten Druckkraft nur an den Kontaktstellen zwischen Femur- und Tibiagelenkoberfläche möglich. Übertragen auf die in vorliegender Arbeit durchgeführten Experimente, wäre dies Intensitätsänderungen im mittleren Bereich der Knorpelprobe (mit der Koordinate $\beta = 0^\circ$). Charakteristisch für diesen Punkt ist auch die minimale Abweichung der Ausrichtung von Kollagenfasern von der Knorpelnormale (natürliche Neigung $\sigma_0 \approx 0^\circ$). Für die theoretischen Berechnungen bedeutet das, dass die Intensität in der tiefen radialen Zone ohne Belastung (und somit ohne druckbedingter Neigung) auf Grund der Ausgangsbedingung $\theta = 0^\circ$ einen Nullwert aufweist. Diese Bedingung, zusammen mit der Berücksichtigung des Maximalwertes aus dem Magischer-Winkel-Bereich, bilden die Grundlage für die verwendete einheitliche Normierung der Intensität. Die Druckabhängigkeit der Intensität in mittlerer Region der untersuchten Knorpelproben ist in Abb. 6.45 ($I(p)_{exp.}$) dargestellt.

Der Vergleich experimenteller Intensitätswerte $I(p)$ mit den nach (4.14) berechneten Daten ergab, unter der Annahme, dass die in den randnahen Regionen ermittelte Neigung der Kollagenfasern $\sigma(p)$ auch für die mittlere Region gilt, zum Teil erhebliche Differenzen (Abb. 6.45, $I(p)_{rechn.}$). Einer der Gründe dafür könnte in dem gewählten Normierungsverfahren liegen: die Intensität wurde auf die Maximumwerte (Relativwert von 1,0) geeicht. Wie oben festgestellt, führt die Druckeinwirkung jedoch nicht nur zu einer Faserneigung, sondern auch zu einer Faserkräuselung, die zur Auffächerung des Büschel-Öffnungswinkels α_B führt (Kap. 6.3.4). Dies führt zu einer Verminderung der Maximalwerte der Intensitätsverläufe für α_B von 0° bis 30° (Abb. 6.44). Anhand der in Kap. 6.3.4 ermittelten Auffächerung lassen sich die Intensitätswerte im Mittelpunkt der Knorpelproben korrigieren, unter der Annahme, dass die Kräuselung am Rand identisch

ist mit der in der Mitte der Proben. Ebenso werden auch die theoretischen Daten korrigiert (Abb. 6.46).

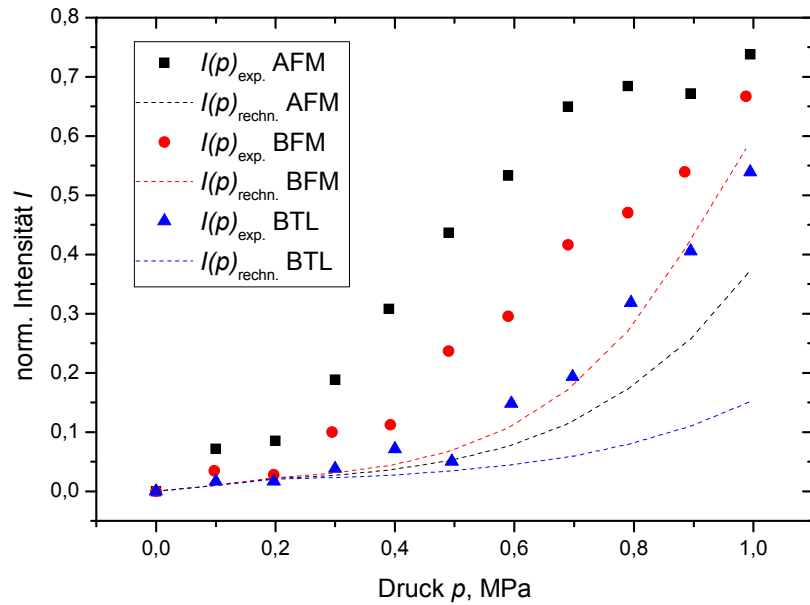


Abb. 6.45. Experimentelle und berechnete Druckabhängigkeiten der MR-Intensität in der tiefen radialen Zone in der Zentralregion der Knorpelproben (Schaf, 3 Jahre).

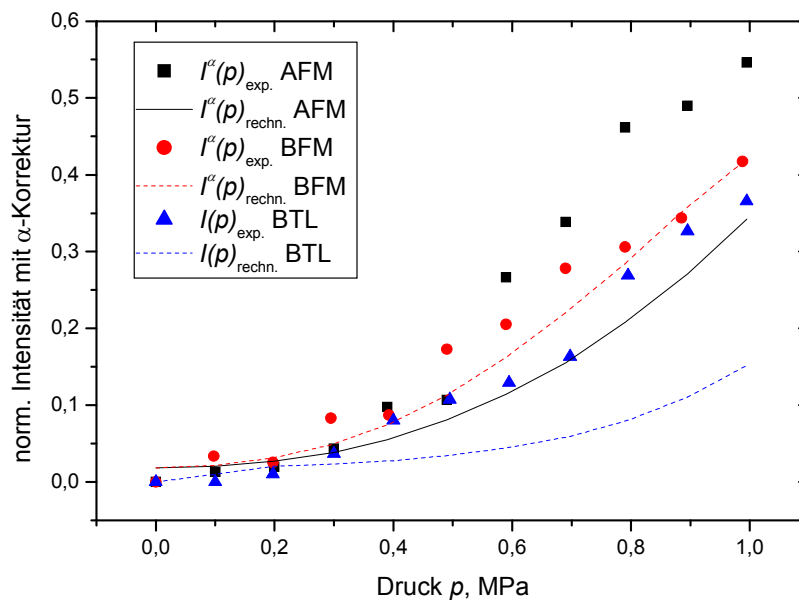


Abb. 6.46. Experimentell ermittelte und berechnete Druckabhängigkeiten der MR-Intensität in der tiefen radialen Zone in der Zentralregion der Knorpelproben unter Berücksichtigung einer Faserkräuselung (Schaf, 3 Jahre).

Da es nach der Ermittlung der druckbedingten Kräuselung der Kollagenfasern bei dem Tibiaknorpel (BTL) keine Auffächerung von α_B festgestellt wurde, bleiben die Daten bei dieser Probe zunächst unverändert. Bei den beiden Femurproben ändern sich die Verhältnisse nach der α_B -Korrektur. Im Fall von BFM entsteht eine – bis auf eine geringe Toleranz – Übereinstimmung der experimentellen mit den berechneten Intensitätsdaten. Dies bedeutet, dass diese Probe das gleiche Deformationsverhalten der Kollagenfasern unter dem Druck in den randnahen und zentralen Regionen zeigt.

Im Falle der AFM-Probe besteht auch nach der durchgeführten Korrektur eine große Unstimmigkeit zwischen den experimentellen Daten und der errechneten Intensität. Vermutlich kann man bei diesem Experiment nicht davon ausgehen, dass die Neigung der Fasern unter dem Druck homogen über die ganze Probe erfolgte. Einen Anlass zu diesen Überlegungen liefert der bei den Elastizitätsmessungen festgestellte Unterschied zwischen den mechanischen Gewebeeigenschaften in den randnahen und zentralen Regionen (Abb. 6.30). Demnach wurde die Knorpelschicht in der Mitte wesentlich stärker zusammengedrückt als an der Peripherie. Dies könnte der Grund dafür sein, dass die Fasern in der Mitte der Probe etwas stärker geneigt worden sind als es bei der Neigungsmessung in den Randregionen festgestellt wurde. Um diese Hypothese zu überprüfen wurde der Neigungswinkel bei der bekannten experimentellen Intensität und gegebenem Bündel-Öffnungswinkel unter maximalem Druckwert ermittelt. Für die AFM-Probe ergab sich beim Maximaldruck von 1,0 MPa der Winkel θ von ca. 45° . Anhand dieses Wertes errechnete Druckabhängigkeit zeigt eine gute Übereinstimmung mit dem experimentellen Intensitätsverlauf (Abb. 6.47).

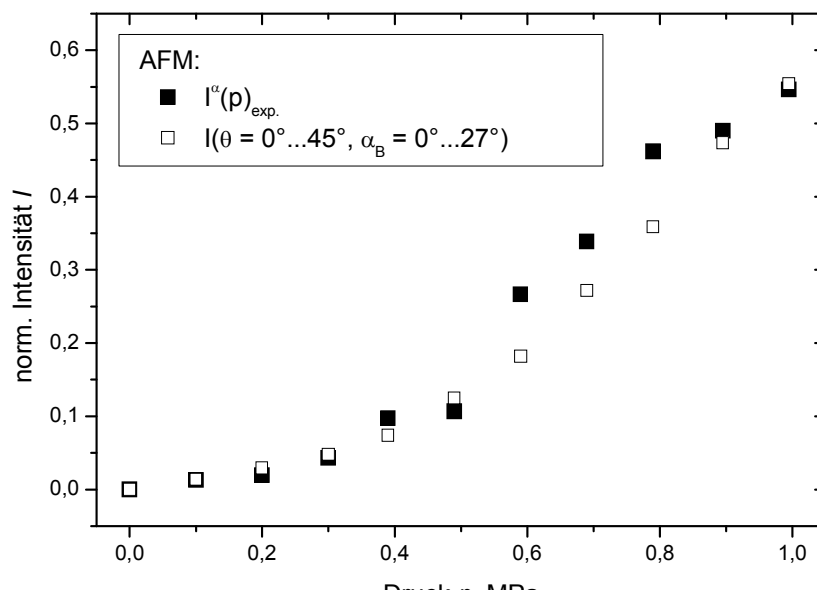


Abb. 6.47. Experimentell ermittelte Druckabhängigkeit der MR-Intensität in der tiefen radialen Zone in der Zentralregion der Knorpelprobe AFM (Schaf, 3 Jahre) mit der Berücksichtigung von Faserkräuselung (■) sowie theoretisch berechnete Intensität bei gegebenen Winkeln $\theta = 0^\circ \dots 45^\circ$ und $\alpha_B = 0^\circ \dots 27^\circ$ (□).

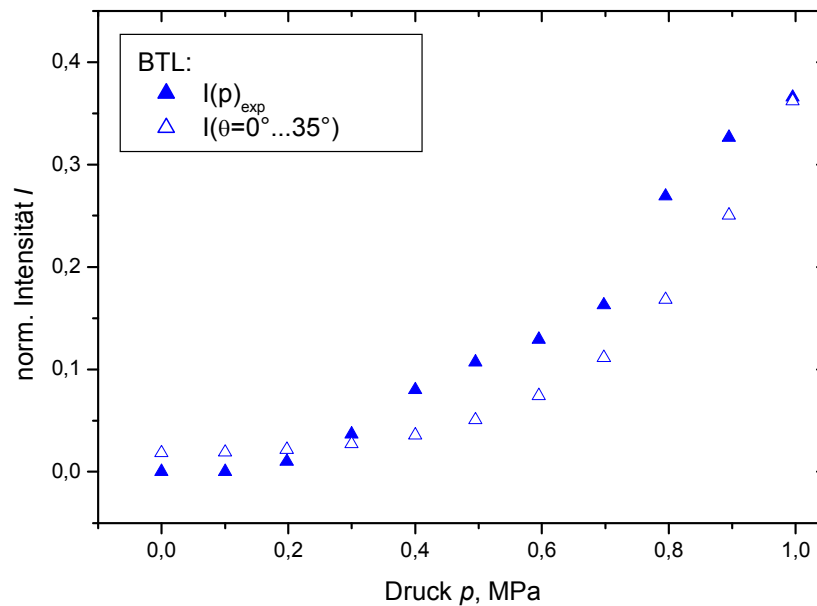


Abb. 6.48. Experimentell ermittelte Druckabhängigkeit der MR-Intensität in der tiefen radialen Zone in der Zentralregion der Knorpelprobe BTL (Schaf, 3 Jahre) (\blacktriangle) sowie berechnete Intensität bei gegebenen Winkeln $\theta = 0^\circ \dots 35^\circ$ (\triangle).

Analog wurde mit den Messergebnissen von der Tibiaprobe vorgegangen. Der berechnete Intensitätsverlauf bei $\theta = 0^\circ$ bis 35° zeigt jedoch wenig Übereinstimmung mit den experimentellen Daten (Abb. 6.48).

Bei der Tibiaprobe wurde von den Messungen des Bündel-Öffnungswinkels ausgegangen, bei denen zwar keine messbare Kräuselung der Fasern unter dem Druck festgestellt wurde (Kap. 6.3.4). Diese Berechnungen wurden jedoch an der Peripherie durchgeführt, welche – wie auch im Fall der AFM-Probe – von der Mitte abweichenden mechanischen Eigenschaften aufgewiesen haben und das Gewebe im Zentralpunkt stärker als an der Seite gestaucht wurde (Abb. 6.32). Bei gegebener Dickenänderung in der mittleren Region wurde für diese Probe nach den Berechnungen der druckbedingten Kräuselung eine Auffächerung des Bündel-Öffnungswinkels α_B um ca. 30° bei der Druckerhöhung auf 1,0 MPa ermittelt. Eine entsprechende Korrektur der experimentellen Daten sowie der berechneten Intensität ergibt eine annehmbare Übereinstimmung der Ergebnisse (Abb. 6.49).

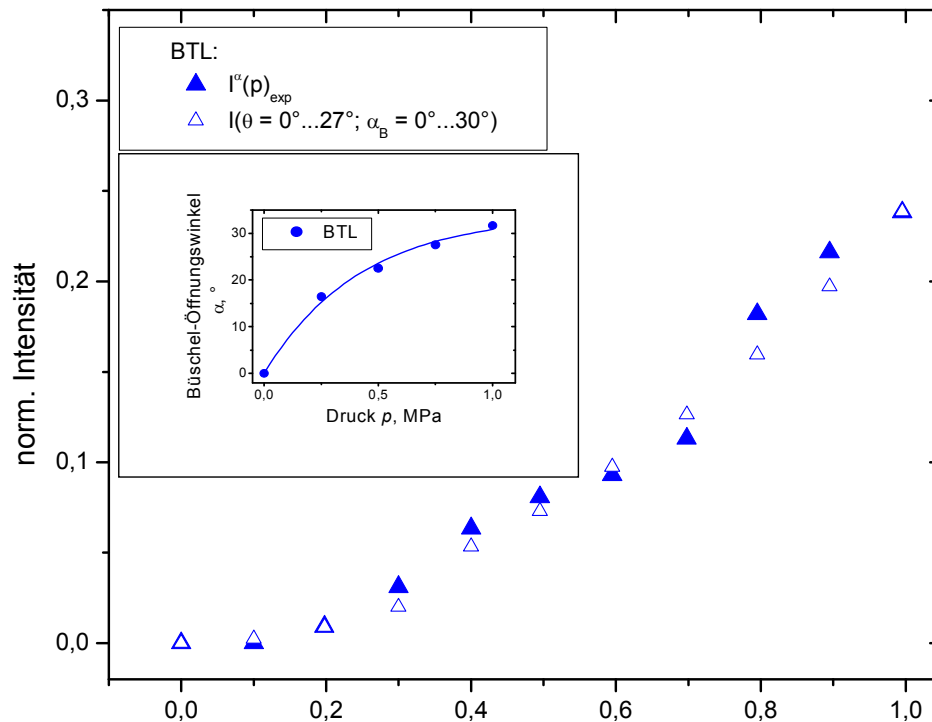


Abb. 6.49. Experimentell ermittelte Druckabhängigkeit der MR-Intensität in der tiefen radialen Zone in der Zentralregion der Knorpelprobe BTL (Schaf, 3 Jahre) (\blacktriangle) mit der Berücksichtigung von Faserkräuslung (\bullet) sowie theoretisch berechnete Intensität bei gegebenen Winkeln $\theta = 0^{\circ} \dots 27^{\circ}$ und $\alpha_B = 0^{\circ} \dots 30^{\circ}$ (\triangle).

Zusammenfassend hat die Auswertung der MR-Intensität in der mittleren Region der Knorpelproben bei den Druckexperimenten mit dem durch Acryl-Harz erreichten identischen Druck über die gesamte Probenoberfläche zu dem folgenden Ergebnis geführt: Die Intensitätsänderung ist bedingt auf die Transformation des Kollagenetzwerkes zurückzuführen. Dabei spielt bei der Auswertung der Intensitätswerten die Kenntnis über die druckbedingte Kräuslung der Fasern eine große Rolle. Diese ist in der vorliegenden Arbeit jedoch nur aus der Information über die Dickenänderung zusammen mit der Neigung gewinnbar gewesen. Aus der Betrachtung der Intensitätsvariation in der mittleren Region der Probe alleine ist das zunächst nicht möglich. Hypothetisch könnten die passenden Werte für den Neigungs- bzw. Öffnungswinkel jedoch anhand der theoretischen Berechnung der Intensität durch die Iterationen mit den zwei Variablen θ und α_B und den Abgleich mit den experimentellen Daten herausgefunden werden.

6.4. Genauigkeit und Reproduzierbarkeit

Ziel der vorliegenden wissenschaftlichen Arbeit lag in erster Linie in der näheren Untersuchung des Druckeinflusses auf den Gelenkknorpel mit Hilfe der winkelsensitiven MRT und weniger in der genaueren Bemessung der biomechanischen Eigenschaften des Gewebes. Damit sind die in Tab. 6.1 angegebenen Werte sowie die weiteren in dieser Arbeit ermittelten Größen nicht repräsentativ, da in diesem Fall keine statistisch relevante Anzahl an quantitativen Bestimmungen durchgeführt wurde. Vielmehr dienten die vorgeführten Messungen und Berechnungen zur Diskussion über die Möglichkeiten, welche die Auswertung von MRT-Aufnahmen des belasteten Gelenkknorpels anbietet.

Deswegen wurde bei der Ausführung der Experimente und Auswertung der Ergebnisse auf erhöhte (zeit- und arbeitsaufwändige) Präzision verzichtet. Es ist jedoch wichtig zu erwähnen, welche Fehlerquellen die Resultate möglich bewirken konnten. Das ist an erster Stelle die unüberschaubare Ungenauigkeit der morphologischen Struktur und mechanischer Eigenschaften des realen tierischen (und menschlichen) Versuchsmaterials. Um diese Disturbanzen – beispielweise die natürliche Faserneigung – zumindest teilweise zu berücksichtigen, wurden im Vorfeld zusätzliche NMR-Drehexperimente durchgeführt, welche dann anschließend mit Ergebnissen der PLM-Untersuchungen überprüft wurden. Damit konnten beträchtliche – bis zu 46% große – Fehler in der Bestimmung druckbedingter Neigung vermieden werden (Abb. 6.27 – 6.29).

Fehler

Bei der Durchführung der Rotationsexperimente (s. Kap. 5.2.1) bestand eine praktisch unüberwindbare Schwierigkeit daran, die Probe in dem rotierenden Aufsatz des Probekopfes so zu platzieren, dass die Drehebene exakt mit der Messebene übereinstimmte (Abb. 6.50). Diese Differenz lag im Bereich 2° – 4° und führte dazu, dass die nach jeder Drehbewegung entstandene MRT-Abbildung eine gering abweichende Knorpelschicht darstellte.

Bei der Auswertung der Rotationsexperimente (s. Kap. 5.2.2, Abb. 5.3) wurden die MRT-Bilder nach dem Setzen der Magischer-Winkel-Marke auf den jeweiligen Winkel zurückgedreht. Ungenauigkeit dieses Vorganges kann auf $\pm 1^{\circ}$ geschätzt werden. Hierzu kommt eine mögliche Abweichung der natürlichen Faserneigung in den jeweiligen Messebenen aufgrund der oben erwähnten Unstimmigkeit der Ebenen bei der Drehung der Proben. Diese beträgt schätzungsweise $\pm 2^{\circ}$. Schließlich wurde der Differenzwinkel zwischen der Knorpelnormale und der natürlichen Neigung berechnet. Die Richtung der Normale im jeweiligen Punkt der Knorpelschicht wurde dabei anhand des selbstentwickelten MATLAB-Tools (s. Abb. 5.11) ermittelt. Da das ROI-Profil manuell gelegt wird, kann eine Ungenauigkeit der Richtungsbestimmung von $\pm 2^{\circ}$ entstehen. Da diese Fehlerquellen voneinander unabhängig sind, ergibt sich für die natürliche Faserausrichtung die gesamte Messunsicherheit von $\pm 3^{\circ}$.

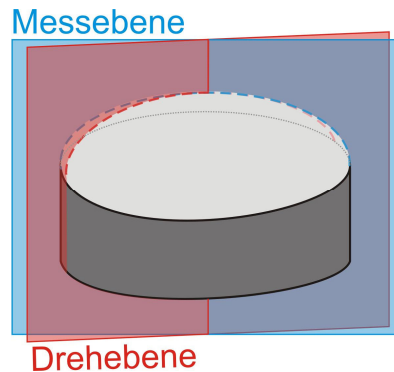


Abb. 6.50. Fehlerursachen: Ungenauigkeit der Übereinstimmung der Mess- und Drehebene bei den NMR-Rotationsexperimenten.

Die Untersuchung des räumlichen Aufbaus der Kollagenstruktur (Kap. 6.2) wurde anhand des Vergleichs der experimentell bei den NMR-Rotationsversuchen gemessenen Intensitätsdaten mit den modellbasierten theoretischen Intensitätsverläufen durchgeführt. Da diese Studie das Ziel die Existenz des *leaf-like*-Aufbaumodells des Knorpels zu bestätigen oder gegenzuargumentieren verfolgte, wurde unter anderem bei dem Ergebnis das Bestimmtheitsmaß R^2 bei der Anpassung der experimentellen Daten auf das theoretische Verhältnis berücksichtigt. Das Bestimmtheitsmaß R^2 wird häufig als Maß für die Güte der Regression verwendet. Dieser Parameter zeigt in welchem Maß die Streuung einer Variablen durch eine Abhängigkeit erklärt werden kann. Im Zuge der Analyse des Matrixaufbaus lag R^2 im Bereich 0,87 – 0,97 bei der Verwendung einer Intensitätsabhängigkeit für die säulenartige Struktur gegenüber 0,24 – 0,7 bei einer Annahme der Lamellenanordnung. Zudem wurden weitere Untersuchungen vorgenommen, deren Resultate im hohen Grade für die säulenartige Struktur des Knorpels sprachen (s. Kap. 6.2).

Die Analyse der Druckeinwirkung auf die Kollagenmatrix des Knorpels wurde mit Hilfe der Belastungsexperimente durchgeführt. Dafür wurde eine spezielle Druckapparatur verwendet (Abb. 5.5), welche jedoch eine exakte Kräfteübertragung von der Außen- auf die Innenspritze nicht gewährleisten konnte. Aus diesem Grund sind Druckverluste in verschiedenen Komponenten (flexibler PE-Schlauch, Gummikolben etc.) möglich. Die Ungenauigkeit des angelegten Druckes kann auf $\pm 0,03$ MPa geschätzt werden, welche auch einen Ablesefehler von $\pm 0,01$ MPa berücksichtigt.

Bei der Ermittlung der Koordinaten des Magischer-Winkel-Bereiches β^{ma} (s. Abb. 5.13) aus den Intensitätsprofilen der Knorpelproben können diese auf Grund der relativ breiten hyperintensiven Region nur mit einem Fehler von $\pm 2^\circ$ festgestellt werden. Zu der Berechnung der druckbedingten Neigung der Kollagenfasern wird zudem die natürliche Faserausrichtung mit der Messunsicherheit von $\pm 3^\circ$ berücksichtigt. Darüber hinaus konnte bei den Druckexperimenten nicht die exakte Position der bei den Rotationsexperimenten beobachteten Messebene wiedergefunden werden, was einen zusätzlichen Winkelmessfehler von $\pm 1^\circ$ verursachte. Im Endeffekt

summieren sich alle Fehler und ergeben für die Messunsicherheit des Neigungswinkels σ eine Größe von etwa $\pm 4^\circ$.

Reproduzierbarkeit

Um auf die Ergebnisse der NMR-Druckexperimente verlassen zu können, wurden Wiederholungstest vorgenommen, welche zu der Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Resultate bei mehrfachen Versuchen an einem Versuchstück erforderlich waren. Zu diesem Zweck wurden zwei Knorpelproben aus der Femur- sowie Tibiagelenkoberfläche eines adulten Schafes entnommen und zweimalig mit einer Pause von mindestens 30 Stunden unter der Druckbelastung untersucht (Kap. 5.5). Dabei wurde der Effekt der Verschiebung der Magischer-Winkel-Region auch bei den wiederholten Messungen beobachtet und bei der Auswertung ergab sich ebenfalls eine vergleichbare Druckabhängigkeit der Neigung vom Druck (Abb. 6.51, 6.52). Allerdings wurde bei dem Femur eine Abweichung in der Steigung der Geraden zwischen jeweiligen Wiederholungsmessungen von ca. 16% beobachtet, bei der Tibia etwa 12%. Diese Diskrepanz kann infolge der nicht exakt übereinstimmenden experimentellen Bedingungen (z.B. Messebene, Druckwerte), aufgrund der Ablese- und Messunsicherheiten, aber auch durch geringe Veränderung der Gewebeeigenschaften auftreten. Betrachtet man jedoch absolute Werte, befinden sich diese im Rahmen der oben ermittelten Messunsicherheit des Neigungswinkels von $\pm 4^\circ$.

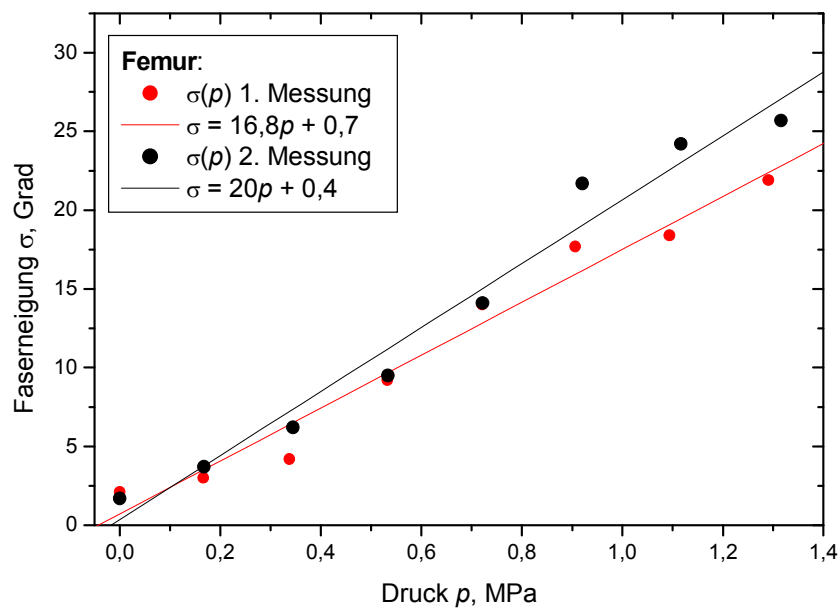


Abb. 6.51. Ergebnisse der Wiederholungstest für die NMR-Druckexperimenten (Schaf, 3 Jahre, AFM).

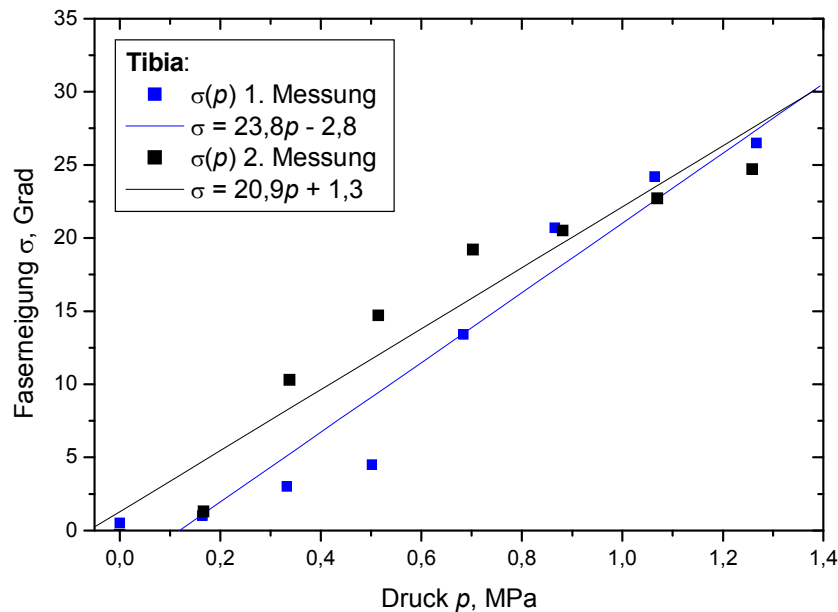


Abb. 6.52. Ergebnisse der Wiederholungstest für die NMR-Druckexperimenten (Schaf, 3 Jahre, ATL).

Insofern kann man auf Grund dieser Überlegungen zu einer Schlussfolgerung kommen, dass die vorgeführte NMR-Belastungsexperimente am adulten Schafsknorpel mit dem über die Probenoberfläche gleichverteilten Druck eine bedingt zuverlässige Methode zur Beobachtung des Druckverhaltens der kollagenen Knorpelmatrix darstellen.

6.5. Weiterführende Themen

Die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Experimente und anschließende Analyse der Ergebnisse offenbart eine Reihe von möglichen weiterführenden Untersuchungen auf gegebenem Themengebiet. Diese Themen können unter Anderem der Bestätigung oder Überprüfung der gewonnenen Resultate dienen, oder sich mit der Anwendung der methodischen Erkenntnisse in der klinischen Praxis beschäftigen.

Die in Kap. 6.2 ausgeführte Analyse des räumlichen Aufbaus der kollagenen Ultrastruktur resultierte in der Behauptung, dass eine anhand der SEM-Beobachtungen festgestellte lamellenartige Struktur mit den Untersuchungsergebnissen mit Hilfe der winkel-sensitiven MRT nicht bestätigt werden konnte. Als eine der Ursachen dafür wurden die Gewebeveränderungen auf Grund der Probenpräparation für die SEM angenommen. Zur Bestätigung dieses Fazits könnte eine Studie durchgeführt werden, welche die Einwirkung von solcher Präparation oder deren einzelnen Schritten (insbesondere tiefes Einfrieren) auf die Anisotropie der Knorpelstruktur untersucht.

Die Anwendung des Bündel-Modells bei der Betrachtung des zonalen Übergangs „Radial-Isotrop“ wurde in Kap. 6.3.1 dargestellt (Abb. 6.14). Es wurde erwähnt, dass es

theoretisch möglich ist, den Übergang der isotropen in die tangentielle Zone analog darzulegen. Für den adulten Knorpel ist es schwierig zu realisieren, da diese Übergangsstelle äußerst dünn ist. Allerdings ist die Situation mit dem juvenilen Knorpel etwas anders, da dieser eine zusätzliche tangentielle Schicht mit relativ breiten Übergangsstellen enthält (Abb. 2.10).

Die Ergebnisse der Druckexperimente lieferten neuartige Informationen zur Analyse der Druckeinwirkung auf die kollagene Ultrastruktur des Knorpels. Insbesondere die ermittelte Abhängigkeit der Neigung der Fasern vom Druck ist von großer Bedeutung. Andererseits wurden diese Ergebnisse nur auf Grund der Beobachtung mit Hilfe der WS-MRT gewonnen. Und obwohl diese Methode inzwischen anerkannt ist und eine gute Übereinstimmung mit anderen mikroskopischen Verfahren zeigt, würde eine zusätzliche Vergleichsanalyse mit den anderen Techniken (z.B. PLM, SEM, DICM), welche die druckbedingte Transformation der Knorpelstruktur auch optisch darstellen, zur Bestätigung der mittels MRT gewonnenen Ergebnisse sehr hilfreich sein. Allerdings sind solche Experimente nur eingeschränkt als Vergleichsmethode einsetzbar, da für die Bilddarstellung meist eine Probenpräparation erforderlich ist, welche die mechanischen Eigenschaften in hohem Maße beeinträchtigen können.

Ein wichtiger Aspekt bei der Betrachtung der gewonnenen Erkenntnisse ist deren Einsetzbarkeit bei *in vivo* Untersuchungen. Eines der Themen könnte nichtinvasive Betrachtung des zonalen Aufbaus des Knorpels sein, so wie es in dieser Arbeit in Kap. 6.3.1 behandelt wurde. Allerdings ist für die Darstellung mit ausreichender räumlichen Auflösung Einsatz von Hochfeld-MRT-Scanner (> 3T) notwendig.

Die MRT-Gelenkuntersuchungen unter Belastung besitzen ein großes Potenzial für die Diagnostik von frühen arthrotischen Knorpelveränderungen. Da die Ausübung von funktioneller Belastung auf das Kniegelenk im MRT-Umfeld schwer realisierbar ist, sind solche *in vivo* Studien selten. Aus diesem Grund ist die Entwicklung neuer Druckvorrichtungen notwendig, welche einerseits einen möglichst genau definierten Druck im Kniegelenk erzeugen und andererseits sicher und mit zumutbarem für den Patienten und den Untersucher Aufwand unter MRT-Bedingungen (auch bei Magnetfeldstärken von 3T und mehr) funktionieren.

Zusammenfassung

Degenerative Veränderungen des artikulären Knorpels sind die Ursache für die Entwicklung von Arthrose. Vor allem Hüft- und Kniegelenke sind von dieser Krankheit betroffen. Die Regenerationsfähigkeit des Knorpelgewebes ist nur sehr gering und die ersten Entwicklungsstadien der Arthrose verlaufen meist unbemerkt, so dass, bei Auftreten von stärkeren Gelenksbeschwerden diese Krankheit fast immer irreversibel ist. Deshalb können nur gezielte therapeutische Maßnahmen auf der Basis einer Diagnostik früher arthrotischen Veränderungen diese progressive pathologische Entwicklung behindern [Hesse 1990].

Gegenwärtig existieren jedoch keine etablierten nichtinvasiven Methoden zur Diagnostik früharthrotischer Veränderungen im Gelenkknorpel. Auf Grund der Möglichkeit der Magnetresonanztomographie (MRT), weiches Gewebe mit gutem Kontrast und hoher Auflösung nichtinvasiv darzustellen, besitzt diese Methode ein großes Potential für Früherkennung arthrotischer Knorpelveränderungen.

Bei der Untersuchung vom hyalinen Knorpel mit seiner organisierten, im Wesentlichen aus Proteoglykanen (PG), Kollagenfasern und Wasser bestehenden extrazellulären Matrix, bietet die winkel-sensitive MRT zusätzlich dadurch erweiterte Möglichkeiten, dass sich die relative Orientierung der an die PG gebundenen semi-freien Wassermoleküle in Bezug auf das äußere Magnetfeld B_0 des Kernspintomographen deren Relaxationseigenschaften beeinflusst. Auf der Grundlage dieser, auf der Dipol-Dipol-Wechselwirkung der Wasserstoffatome basierenden, Orientierungsabhängigkeit der T_2 -Relaxation kann die Auswertung der Signalintensität T_2 -gewichteter MR-Aufnahmen Information über die Anisotropie der chondralen Faserstruktur liefern [Gründer 1998(2)].

Für eine Zone mit vorwiegend senkrecht zur Knorpeloberfläche ausgerichteten Kollagenfasern, wie wir sie zum Beispiel als breite untere Zone im adulten Knorpel finden, kann die Abhängigkeit der Signalintensität I des Gelenkknorpels von der Orientierung θ der Knorpelnormale zum statischen Magnetfeld B_0 theoretisch beschrieben werden durch

$$I_{rad} = \infty e^{-\left(3\cos^2\theta - 1\right)^2}.$$

Entsprechend dieser Beziehung ändert sich die MR-Signalintensität der Radialzone von einem minimalen Wert (bei Ausrichtung der Knorpelnormale parallel zur Richtung des äußeren Magnetfeldes B_0) auf ein Maximum, bei θ von ca. 55° (Magischer Winkel). Umfangreiche, detaillierte Untersuchungen der Orientierungsabhängigkeit der MR-

Intensität von nativen Knorpelproben ergaben eine gute Übereinstimmung mit dem theoretischen Modell [Gründer 1998(2)].

Auf Grund der Möglichkeit der WS-MRT die Orientierungsänderungen der Kollagenfasern zu erfassen, wurde diese Methode für die Untersuchung der druckbedingter Transformation der Knorpelmatrix zugrunde gelegt. Diese Untersuchungen zur Deformationen der Knorpelmatrix unter der Druckbelastung bildeten den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit.

Neben dieser Thematik wurde auch das Problem der aktuell diskutierten Ansichten über die räumlichen Anordnung innerhalb der kollagenen Knorpelstruktur behandelt, da dies Einfluss auf die Schlussfolgerungen bei der Untersuchung von Deformationen der Knorpelmatrix unter der Druckbelastung haben könnte: Bezüglich des räumlichen Aufbaus der Faserstruktur des adulten Knorpels herrschen zurzeit zwei unterschiedliche Meinungen: Während die eine säulenartige Anordnung der kollagenen Fasern postuliert, geht die andere von einer lamellenartigen Struktur aus. Die säulenartige (engl. *columnar*) Struktur wird aus einer arkadenförmig gebündelten Anordnung der Kollagenfasern gebildet [Käab 1998(2)]. Die lamellenartige (engl. *leaf-like*) Struktur wird aus einzelnen, dicht beieinander liegenden Blätter aufgebaut, wobei innerhalb der einzelnen Lamellen die Kollagenfasern (auch in der tiefen radialen Zone) vollkommen ungeordnet sein sollen [Minns 1977, Jeffery 1991, Käab 1998(2), Goodwin 2000]. Diese zwei Strukturierungstypen wurden auf der Grundlage elektronenmikroskopischer (SEM) Untersuchungen, abhängig von der jeweiligen Spezies, unterschiedlich bestimmt. So soll die Ultrastruktur des adulten Kniegelenkknorpels von Menschen, Schweine und Hunde die lamellenartige, die von Kühen, Schafen, Kaninchen und Ratten die säulenartige Struktur aufweisen. Eine eindeutige Erklärung für den Grund der unterschiedlichen Strukturierung des kollagenen Netzwerks des Gelenkknorpels wurde jedoch bisher nicht gefunden [Käab 1998(2)].

Würde der Lammellenaufbau bestätigt werden, hätte dies eine Anisotropie des Transformationsverhaltens der Kollagenstruktur unter Druckeinwirkung zur Folge: Ähnlich einem Blätterstapel in einem Buch würden beim *leaf-like*-Aufbau die blätterartigen Strukturen in die Richtung senkrecht zur Lamellenebene bevorzugt einbiegen als parallel zu den Lamellen. Dies müsste bei der Beobachtung der druckbedingten Deformation zu Unterschieden zwischen den beobachteten Messebenen führen.

Die Behauptung, bei der *leaf-like* Struktur seien Kollagenfasern isotrop ausgerichtet, konnte mit der winkel-sensitiven MR-Bildgebung für den adulten Knorpel nicht verifiziert werden. Denn eine ungeordnete Orientierung der Fasern in der tiefen Zone würde eine fehlende Richtungsabhängigkeit der Signalintensität bei der Messung in der parallelen zu den Lamellen Ebene verursachen. Die in dieser Arbeit vorgeführte Untersuchung von adultem Menschen- sowie Schweinsknorpel hat ergeben, dass diese Orientierungsabhängigkeit in gleicher Form für die senkrechte und parallele zu den Lamellen Messebenen besteht, womit eine durch das Lamellenmodell geforderte isotrope Faserausrichtung in der Radialzone ausgeschlossen werden kann. Der Grund für die Diskrepanz zwischen den MR-Resultaten und den elektronenmikroskopischen Ergebnissen könnte in der aufwändigen Probenpräparation für die SEM-

Untersuchungen liegen, die möglicherweise zu strukturellen Veränderungen des Gewebes führen [Boyde 1977, Helminen 1985, Clark 1997, Gelber 2008].

Da bei den Untersuchungen zur Richtungsabhängigkeit der MR-Intensität des Gelenkknorpels eine sehr gute Übereinstimmung zwischen experimentellen Daten und theoretischer Erwartung gefunden wurde, kann dies umgekehrt dazu genutzt werden, um aus der Orientierungsabhängigkeit der Signalintensität des Gelenkknorpels Informationen über die kollagene Faserausrichtung abzuleiten. Weist somit eine Knorpelregion bei einem Rotationsexperiment die maximalen Intensitätswerte auf, so sind hier die Kollagenfasern überwiegend unter magischem Winkel ($\sim 55^\circ$) zum B_0 gerichtet. Auf Grund der natürlichen Wölbung der Knorpelproben befinden sich die Fasern innerhalb der gesamten Knorpelschicht unter unterschiedlichen Orientierungen zum äußeren Magnetfeld B_0 . Hinzu kommt eine unbekannte Abweichung der Haupttrichtung der Fasern von der Knorpelnormale. Durch eine schrittweise Veränderung der Orientierung des Gelenkknorpels Probe zum B_0 -Feld lassen sich somit die zonalen und regionalen mittleren Orientierungen der Kollagenfasern bestimmen und daraus ein Faserneigungsprofil der ganzen Probe erstellen. Diese Messungen haben ergeben, dass die Fasernrichtungen in den Hauptbelastungsregionen meist mit der Knorpelnormale übereinstimmen. Und je weiter eine Region von diesen Stellen entfernt ist, umso höher weicht die mittlere Faserausrichtung von der Normale ab. Dieses Erkenntnis stimmt mit den elektronenmikroskopischen Beobachtungen einzelnen Autoren überein [Clark 1990, Clark 1991, Gomez 2000, Goodwin 2004] und wurde in der aktuellen Arbeit durch die polarisationsmikroskopische Messungen bestätigt. Die gewonnenen Resultate wurden bei der quantitativen Bewertung der druckbedingter Neigung der Kollagenfasern berücksichtigt.

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung von Deformationen der Knorpelmatrix unter der Druckbelastung. Bis jetzt gab es zwar viele Studien, welche sich mit diesem Thema beschäftigt haben. Doch zum größten Teil wurde die druckbedingte Transformation der Kollagenstruktur auf der Basis von reinen *in vitro* Experimenten betrachtet – die Knorpelproben wurden nach der Druckausübung entweder chemisch fixiert oder tief gefroren [Nötzli 1997, Käab 1998(1), Käab 2000(1), Thambyah 2006, Thambyah 2007]. Die aktuellen Untersuchungen haben es erstmalig erlaubt, solche Transformation auf einem praktisch unbehandelten (*ex vivo*) Versuchsmaterial (indirekt) mit Hilfe von winkel-sensitiver MRT zu beobachten. Dafür wurden Knorpel-Knochen-Zylinder aus den Hauptbelastungsregionen des Kniegelenks eines adulten Schafs entnommen und im hochauflösenden NMR-Tomographen bei einer Magnetfeldstärke von 7 Tesla unter der Druckbelastung abgebildet. Derartige MRT-Druckbelastungsexperimente sind grundsätzlich nicht ganz neuartig [Gründer 2000, Seidel 2005(2)]. Bis jetzt konnte jedoch ausschließlich Dicken- sowie Intensitätsänderung betrachtet werden. In den neusten Versuchen wurde eine bedeutende Verfahrensmodifizierung vorgenommen, welche sich durch die Verteilung des Druckes auf die gesamte Probenoberfläche unter Anwendung vom schnell härtenden Acryl-Harz kennzeichnete [Gründer 2006, Garnov 2006,]. Dadurch konnten nicht nur

Informationen über elastomechanischen Eigenschaften des Gewebes gewonnen sowie Intensitätsvariation aufgenommen werden, sondern auch die druckbedingte Neigung von Kollagenfasern quantitativ erfasst werden.

Die ermittelte Faserneigung, zusammen mit der bekannten Dickenänderung und der allgemeinen Kenntnis über die Matrixdeformation unter dem Druck, wurden zur Basis einer Berechnung gelegt, die Erkenntnisse über die druckbedingte Kräuselung der Kollagenstränge lieferte. Somit wurde auch das Phänomen der Wellenbildung in der Faserform, welches von vielen Histologen beobachtet wurde, mit Hilfe der NMR-Druckexperimente bestätigt.

Darüber hinaus wurde über verschiedene mögliche Transformationsvorgänge der Knorpelmatrix diskutiert, welche unter Betrachtung der aktuellen Vorstellungen über die chondrale Ultrastruktur erarbeitet wurden. Auf Grundlage dieser Vorgänge wurde das theoretische Verhalten der Intensität simuliert und mit den experimentellen Ergebnissen der aktuellen Studie verglichen. Diese Vergleichsanalyse hat gezeigt, dass eine Art der Deformation, welche durch die Neigung σ der Kollagenfasern in eine gemeinsame Richtung mit gleichzeitiger geringfügiger (bis 30°) Auffächerung des Büschel-Öffnungswinkels α_B gekennzeichnet ist, am meisten mit den experimentellen Ergebnissen korreliert. Diese Beschreibung gilt jedoch lediglich für die in der tiefen radialen Zone befindlichen Kollagenfasern. Im Übrigen wurde die von Thambyah et al. [Thambyah 2007] festgestellte Chevron-artige Deformierung des Kollagennetzwerkes unter dem Druck zustimmend angenommen (Abb. Z.1).

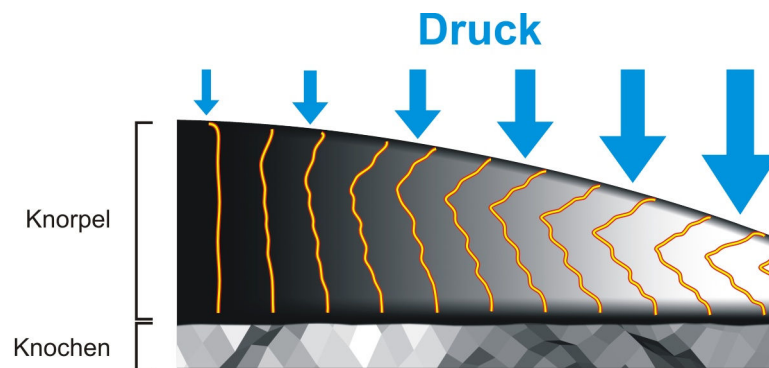


Abb. Z.1. Schematische Darstellung der Transformation adulter kollagener Knorpelmatrix unter der Druckbelastung.

Die vorgenommenen Experimente mit identischem Druck über die Knorpeloberfläche liefern zwar ein breites Spektrum an Informationen zur Betrachtung der druckbedingten Kollagennetzwerkdeformation. Für die klinische Praxis ist dieses Verfahren jedoch nicht realisierbar auf Grund der Notwendigkeit die Gelenkkapsel zu zerstören. Unter Annahme der *in vivo* Bedingungen lassen sich lediglich Schichtdicken- sowie Intensitätsänderung an der Kontaktstelle Femur-Tibia beobachten [Nag 2004,

Seidel 2004]. Aus diesem Grund wurde die Intensitätsvariation in dem Zentralpunkt der Knorpelproben separat interpretiert. Die Analyse der gegebenen Abhängigkeit der Intensität vom Druck ergab eine gute Übereinstimmung der nach dem Büschel-Modell errechneten Intensitäten bei gegebener Neigung der Fasern und der Auffächerung des Öffnungswinkels α_B mit den experimentell abgelesenen Daten. Dieses Resultat bietet die Zukunftsaussicht ein inverses Problem zu lösen: Die druckbedingte Matrixdeformation könnte allein aus der Betrachtung der Signalintensität bei einem MRT-Belastungstest aufgeklärt werden.

Dafür sind jedoch unbedingt weitere Untersuchungen notwendig. Insbesondere eine Vergleichsanalyse der anhand der MRT-Druckexperimente erhaltenen Resultate mit direkten optisch- bzw. elektronenmikroskopischen Abbildungen hätte zur Evaluierung der Wirksamkeit von MRT-Datenanalyse beitragen können.

Literaturverzeichnis

1. T. Aigner. In situ Hybridization Studies on the Expression of Type X Collagen in Fetal Human cartilage. Diss. Universität Erlangen, 1993.
2. S. Akizuki, V. Mow, F. Muller, J. Pita, D. Howell, D. Manicourt. Tensile properties of human knee joint cartilage: I. Influence of ionic conditions, weight bearing, and fibrillation on the tensile modulus, *J. Orthop Res*, 4(4): 379-92, 1986.
3. L. Alexopoulos, G. Williams, M. Upton, L. Setton, F. Guilak. Osteoarthritic changes in the biphasic mechanical properties of the chondrocyte pericellular matrix in articular cartilage. *J Biomech*, 38:509–517, 2005.
4. (1) H. Alhadlaq, Y. Xia, J. Moody, J. Matyas. Detecting structural changes in early experimental osteoarthritis of tibial cartilage by microscopic magnetic resonance imaging and polarized light microscopy. *Ann Rheum Dis*, 63:709-717, 2004.
5. (2) H. Alhadlaq, Y. Xia. The structural adaptations in compressed articular cartilage by microscopic MRI (microMRI) T(2) anisotropy. *Osteoarthritis Cartilage*, 12(11):887-94, 2004.
6. R. Altman, J. Tenenbaum, L. Latta, W. Riskin, L. Blanco, D. Howell. Biomechanical and biochemical properties of dog cartilage in experimentally induced osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 43(1):83-90, 1984.
7. M. Anefeld. Der Chondrozyt, das lebende Element des Gelenkknorpels. In H.G.Fassbender, Hrsg., *Gelenkknorpel und Arthrose*. Verlag Hans Huber, Stuttgart, 1983.
8. R. Appleyard, P. Ghosh, M. Swain. Biomechanical, histological and immunohistological studies of patellar cartilage in an ovine model of osteoarthritis induced by lateral meniscectomy. *Osteoarthritis Cartilage*, 7(3):281-94, 1999.
9. R. Appleyard, D. Burkhardt, P. Ghosh, R. Read, M. Cake, M. V. Swain, G. Murrell. Topographical analysis of the structural, biochemical and dynamic biomechanical properties of cartilage in an ovine model of osteoarthritis. *Osteoarthritis cartilage*, 11:65–77, 2003.

10. J. Arokoski, J. Jurvelin, I. Kiviranta, M. Tammi, H. Helminen. Softening of the lateral condyle articular cartilage in the canine knee joint after long distance (up to 40 km/day) running training lasting one year. *Int J Sports Med*, 15(5):254-60, 1994.
11. G. Ateshian, H. Wang. A theoretical solution for the frictionless rolling contact of cylindrical biphasic articular cartilage layers, *J. Biomech*, 28: 1341-55, 1995.
12. D. Bader, G. Kempson. The short term compressive properties of adult human articular cartilage. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 4:245-256, 1994.
13. S. Below, S. Arnoczky, J. Dodds, C. Kooima, N. Walter. The split-line pattern of the distal femur: A consideration in the orientation of autologous cartilage grafts. *Arthroscopy*, 18(6): 613-7, 2002.
14. A. Benninghoff. Der funktionelle Aufbau des Hyalinknorpels. *Ergeb. Anat. Entwicklungsgesch.*, 26:1-54, 1925.
15. A. Boyde, E. Bailey, S. Jones, A. Tamarin. Dimensional changes during specimen preparation for scanning electron microscopy. In: *Proceedings of the 10th Annual Scanning Electron Microscopy Symposium, Chicago*, in *Scanning Electron Microscopy/1977/I, IIT Res. Inst., Chicago*, pp. 507-518. 1977.
16. J. Bradley, J. Goodfellow, J. O'Connor. A radiographic study of bearing movement in unicompartmental Oxford knee replacements. *J. Bone Joint Surg. Br*, 69:598-601, 1987.
17. (1) N. Broom, D. Myers. Fibrous waveforms or crimp in surface and subsurface layers of hyaline cartilage maintained in its wet functional condition. *Connect Tissue Res*, 7(3): 165-75, 1980.
18. (2) N. Broom, D. Myers. A study of the structural response of wet hyaline cartilage to various loading situations. *Connect Tissue Res*, 7(4):227-37, 1980.
19. S. Buchholz. Vergleichende NMR- und polarisationsmikroskopische Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der kollagenen Netzwerkstruktur im artikulären Knorpel. *Diss. Universität Leipzig*, 2004.
20. J. Buckwalter. Articular cartilage. In *Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 32: 349-370, 1983.
21. J. Buckwalter, L. Rosenberg, E. Hunziker. *Articular cartilage: composition, structure, response to injury, and methods of facilitating repair*. Raven Press, New York, 1990.
22. A. Caplan. Knorpel. *Spektrum Wissenschaft, Dez.*, 106-115, 1984.

23. J. Clark. The Organization of Collagen in Cryofractured Rabbit Articular Cartilage: A Scanning Electron Microscopic Study. *J Orthop Res*, 3:17-29, 1985.
24. J. Clark. The organisation of collagen fibrils in the superficial zones of articular cartilage. *J Anat*, 171:117-30, 1990.
25. J. Clark. Variation of Collagen Fiber Alignment in a Joint Surface: A Scanning Electron Microscope Study of the Tibial Plateau in Dog, Rabbit, and Man. *J Orthop Res*, 9:246–257, 1991.
26. J. Clark, P. Simonian. Scanning electron microscopy of "fibrillated" and "malacic" human articular cartilage: technical considerations. *Microsc Res Tech*, 37(4): 299-313, 1997.
27. I. Clarke. Articular cartilage: a review and scanning electron microscope study. I. The Interterritorial Fibrillar Architecture. *J Bone Joint Surg Br*, 53(4): 732-50, 1971.
28. M. Cremer, E. Rosloniec, A. Kang. The cartilage collagens: a review of their structure, organization, and role in the pathogenesis of experimental arthritis in animals and in a human rheumatic disease. *J Mol Med*, 76: 275–288, 1998.
29. L. de Bont, R. Liem, P. Havinga, G. Boering, J. van der Korst. Collageneous network in cartilage of human femoral condyles. A light microscopic and scanning electron microscopic study. *Acta Anat (Basel)*, 126(1): 41-7, 1986.
30. F. Eckstein, M. Müller-Gerbl., R. Putz. Distribution of subchondral bone density and cartilage thickness in the human patella. *J Anat*, 180: 425-33, 1992.
31. F. Eckstein, T. Stammberger, K.-H. Englmeier, R. Putz. Anatomische und biomechanische Aspekte des Gelenkknorpels. In A. Imhoff und A. Burkhart, Hrsg., *Knieinstabilität–Knorpelschaden*. Steinkopf Verlag, Darmstadt, 1998.
32. S. Erickson, R. Prost, M. Timins. The “magic angle” effect: background Physics and clinical relevance. *Radiology*, 188:23-25, 1993.
33. T. Fukubayashi, H. Kurosawa. The contact area and pressure distribution pattern of the knee. A study of normal and osteoarthrotic knee joints. *Acta Orthop Scand*, 51: 871-879, 1980.
34. N. Garnov, W. Gründer. MR-Assessment of Load-Influenced Collagen Fiber Orientation of Articular Cartilage. In *Proceedings ISMRM 16th Annual Scientific Meeting*, Toronto, 3-9 May 2008

35. P.E. Gelber PE, G. Gonzalez, J.L. Lloreta, F. Reina, E. Caceres, J.C. Monllau. Freezing causes changes in the meniscus collagen net: a new ultrastructural meniscus disarray scale. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 16(4): 353-9, 2008.
36. C. Glaser, R. Putz. Functional anatomy of articular cartilage under compressive loading Quantitative aspects of global, local and zonal reactions of the collagenous network with respect to the surface integrity. *Osteoarthritis Cartilage*, 10(2): 83-99, 2002.
37. K. Glückert. Veränderungen der Proteoglykane des Gelenkknorpels bei frühen arthrotischen Prozessen: experimentelle und klinische Untersuchungen. Dissertation, Erlangen, 1985.
38. K. Glückert, A.Blank-Schäl, G. Hoffmann, B. Kladny, P. Wirtz. Möglichkeiten der frühfassung von Arthrosen durch bildgebende Verfahren. *Orthopäde*, 19(1):50-7, 1990.
39. G. Gold, T. Besier, C. Draper, D. Asakawa, S. Delp, G. Beaupre. Weight-bearing of patellofemoral joint cartilage contact area. *J Magn Reson Imaging*, 20:526-530, 2004.
40. S. Gomez, R. Toffanin, S. Bernstorff, M. Romanello, H. Amenitsch, M. Rappolt, R. Rizzo, F Vittur. Collagen Fibrils Are Differently Organized in Weight-Bearing and Not-Weight-Bearing Regions of Pig Articular Cartilage. *J Exp Zool*, 287: 346–352, 2000.
41. D. Goodwin, H. Zhu, J. Dunn. In Vitro MR Imaging of Hyaline Cartilage: Correlation with Scanning Electron Microscopy. *AJR*, 174: 405–409; 2000.
42. D. Goodwin, Y. Wadghiri, H. Zhu, C. Vinton, E. Smith, J. Dunn. Macroscopic Structure of Articular Cartilage of the Tibial Plateau: Influence of a Characteristic Matrix Architecture on MRI Appearance. *AJR*, 182:311–318, 2004.
43. J. Grimm, F. Schmitt. MR-Tomographie (MRT) bei 7 Tesla. *Medical Solutions*, März 2006.
44. (1) W. Gründer, M. Kanowski. Druckapparaturen für NMR-mikroskopische Untersuchungen zum Belastungsverfahren von Gelenkknorpel. *Biomed Tech*, 43: 287-292, 1998.
45. (2) W. Gründer, M. Wagner, A. Werner. MR-microscopic visualization of anisotropic internal cartilage structures using the magic angle technique. *Magn Reson Med*, 39:376–382, 1998.

46. W. Gründer, M. Kanowski, M. Wagner, A. Werner. Visualization of pressure distribution within loaded joint cartilage by application of angle-sensitive NMR-microscopy. *Magn Reson Med*, 43: 884–891, 2000.
47. W. Gründer, P. Seidel. Verfahren zur zonal aufgelösten Bestimmung des Ordnungsparameters des kollagenen Netzwerkes von artikulärem Knorpel an einer MRT-Einzelaufnahme. Patent DE 103 12 711.9, 2003.
48. W. Gründer, P. Seidel. Determination of elastic properties of articular cartilage. In *Proceedings of 13th International Society of Magnetic Resonance in Medicine*, Miami Beach, FL. 207, 2005.
49. W. Gründer. MRI assessment of cartilage ultrastructure. *NMR Biomed*, 19: 855-876, 2006.
50. F. Guilak, A. Ratcliffe, N. Lane, M. Rosenwasser, V. Mow. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis. *J Orthop Res*, 12(4):474-84, 1994.
51. E. Hagen, G. Herrmann, F. Keller, G. Leutert, K. Schippel, W. Schmidt. *Histologie*. 2. überarb. Aufl. Zwickau: Wiss. Scripten, 1995.
52. G. Hanke, U. Reibetanz, W. Gründer. Determination of stress distribution in articular cartilage by means of intensity shifts under load. *Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB*, Glasgow, 21.-27. April 2001.
53. P. Hardy, P. Nammalwar, S. Kuo. Measuring the thickness of articular cartilage from MR images. *J Magn Reson Imaging*, 13:120-126, 2001.
54. W. Hayes, L. Mockros. Viscoelastic properties of human articular cartilage. *J Appl. Physiol.* 31 (4), 562-568, 1971.
55. H. Hehne. *Das Femoropatellargelenk*. Enke, Stuttgart, 1983.
56. H. Hehne. Biomechanics of the patellofemoral joint and its clinical relevance. *Clin Orthop*, 258: 73-85, 1990.
57. H. Helminen, J. Jurvelin, M. Tammi, A. Pelttari, C. Svartbäck, I. Kiviranta, A. Säämänen, K. Paukkonen. Prolonged ethanol replacement by CO₂ increases splits on articular cartilage surface after critical point drying. *J Microsc*, 137(Pt 3):305-12, 1985.
58. I. Hesse, W. Mohr, W. Hesse. Morphologische Veränderungen in frühen Stadien der Arthrose, *Orthopäde*, 19: 16-27, 1990.
59. E. Hille, K. Schulitz, C. Henrichs, T. Schneider. Pressure and contact-surface measurements within the femoropatellar joint and their variations following lateral release. *Arch Orthop Trauma Surg*, 104: 275-82, 1985.

60. S. Hinterwimmer, M. Gotthardt, R. von Eisenhart-Rothe, S. Sauerland, M. Siebert, T. Vogl, F. Eckstein, E. Graichen. In vivo contact areas of the knee in patients with patellar subluxation. *J Biomech*, 38(10):2095-101, 2005.
61. H. Huberti, W. Hayes, J. Stone, G. Shybut. Force ratios in the quadriceps tendon and ligamentum patellae. *J Orthop Res*, 2:49-54, 1984.
62. W. Hultkrantz. Über die Spaltrichtungen der Gelenkknorpel. *Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft*, Kiel, 248, 1898.
63. E. Hunziker, M. Michel, D. Studer. Ultrastructure of adult human articular cartilage matrix after cryotechnical processing. *Microsc Res Tech*, 37(4): 271-84, 1997.
64. H. Inaba. Biomechanical study on contact pressure in the femoro-tibial joint. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*, 61:1073-1080, 1987.
65. A. Jeffery, G. Blunn, C. Archer, G. Bentley. Three-Dimensional Collagen Architecture in Bovine Articular Cartilage. *J Bone Joint Surg*, 73-B: 795-801, 1991.
66. (1) M. Kääh, K. Ito, J. Clark, H. Nötzli. Deformation of articular cartilage collagen structure under static and cyclic loading. *J Orthop Res*, 16: 743-751, 1998.
67. (2) M. Kääh, I. Ap Gwynn, H. Nötzli. Collagen fibre arrangement in the tibial plateau articular cartilage of man and other mammalian species. *J Anat*, 193, 23-34, 1998.
68. (1) M. Kääh, K. Ito, J. Clark, H. Nötzli. The acute structural changes of loaded articular cartilage following meniscectomy or ACL-transection. *Osteoarthritis Cartilage*, 8 (6): 464-473, 2000.
69. (2) M. Kääh, K. Ito, B. Rahn, J. Clark, H. Nötzli. Effect of mechanical load on articular cartilage collagen structure: a scanning electron-microscopic study. *Cells Tissues Organs*, 167(2-3): 106-20, 2000.
70. G. Kempson, M. Freeman, S. Swanson. Tensile properties of articular cartilage. *Nature*. 220:1127-8, 1968.
71. A. Kerin, P. Patwaria, K. Kuettnerb, A. Coleb, A. Grodzinskya. Molecular basis of osteoarthritis: biomechanical aspects. *Cell Mol Life Sci*, 59:27-35, 2002.
72. S. Knecht, B. Vanwanseele, E. Stüssi. A review on the mechanical quality of articular cartilage – Implications for the diagnosis of osteoarthritis. *Clin Biomech*, 21:999-1012, 2006.
73. J. Lane, E. Chisena, J. Black. Experimental knee instability: early mechanical property changes in articular cartilage in a rabbit model. *Clin Orthop Relat Res*, 140: 262-265, 1979.

74. H. Leonardt. Histologie, Zytologie, Mikroanatomie des Menschen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1990.
75. D. Loeuille, P. Olivier, D. Mainard, P. Gillet, P. Netter, A. Blum. Magnetic resonance imaging of normal and osteoarthritic cartilage. *Arthritis Rheum*, 41(6):963-75, 1998.
76. H. Lorenz, W. Richter. Osteoarthritis: Cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Prog Histochem Cytochem*, 40(3):135-63, 2006.
77. H. Mankin, H. Dorfman, L. Lippiello, A. Zarins. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg Am*, 53(3):523-37, 1971.
78. A. Maroudas. Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage. *Nature* 260:808-809, 1976.
79. A. Maroudas. Physicochemical properties of articular cartilage. In: *Adult Articular Cartilage* ed. Freeman, London: Pitman Medical, 215-290, 1979.
80. D. Michel. Grundlagen und Methoden der kernmagnetischen Resonanz. Berlin, Akademie-Verlag, 1981.
81. R. Minns, F. Steven. The collagen fibril organization in human articular cartilage. *J Anat*, 123 (Pt 2): 437-457, 1977.
82. J. Mollenhauer, N. Müller, E. Thonar. Neue Ansätze zur Labordiagnostik der Osteoarthrose. *Orthopäde*, 19: 28-35, 1990.
83. V. Mow, W. Lai. Recent developments in synovial joint biomechanics. *SIAM Rev*, 22: 275-317, 1980.
84. M. Müller-Gerbl, E. Schulte, R. Putz. The thickness of the calcified layer of articular cartilage: a function of the load supported? *J Anat*, 154: 103-11, 1987.
85. D. Nag, G. Liney, P. Gillespie, K. Sherman. Quantification of T2 relaxation changes in articular cartilage with in situ mechanical loading of the knee. *J Magn Reson Imaging*, 19:317-322, 2004.
86. M. Nieminen, J. Rieppo, J. Töyräs, J. Hakumäki, J. Silvennoinen, M. Hyttinen, H. Helminen, J. Jurvelin. T2 relaxation reveals spatial collagen architecture in articular cartilage: A comparative quantitative MRI and polarized light microscopic study. *Magn Reson Med*, 46:487-493, 2001.
87. T. Nishij, K. Kuroda, Y. Matsuoka, T. Sahara, H. Yoshikawa. Change in knee cartilage T2 in response to mechanical loading. *J Magn Reson Imaging*, 28(1):175-80; 2008.

88. H. Nötzli, J. Clark. Deformation of Loaded Articular Cartilage Prepared for Scanning Electron Microscopy with Rapid Freezing and Freeze-Substitution Fixation. *J Orthop Res*, 15: 76-86, 1997.
89. S. Nürnberger, W. Klepal, V. Vécsei, S. Marlovits. Ultrastructural insights into the world of cartilage: electron microscopy of articular cartilage. *Osteo Trauma Care*, 14:168–180, 2006.
90. S. Pakin, C. Cavalcanti, R. La Rocca, M. Schweitzer, R. Regatte. Ultra-high-field MRI of knee joint at 7.0T: preliminary experience. *Acad Radiol*, 13(9):1135-42, 2006.
91. H. Pfeiffer. Nuclear magnetic resonance and relaxation of molecules adsorbed on solids. *NMR-Basic Principles and Progress*, Vol. 7, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1972.
92. R. Regatte, M. Schweitzer. Ultra-high-field MRI of the musculoskeletal system at 7.0T. *J Magn Reson Imaging*, 25(2): 262-9, 2007.
93. (1) U. Reibetanz, U. Altersabhängige Entwicklung der kollagenen Netzwerkstruktur im artikulären Knorpel. Diss. Universität Leipzig, 2002.
94. (2) U.Reibetanz, S. Buchholz, G. Hanke, D. Dartsch, S. Löster, W. Gründer. Age-dependent collageneous network structures of articular cartilage. In *Proceedings of 10th International Society of Magnetic Resonance in Medicine*, Hawaii, 2002.
95. (1) T. Reinert. Ionenstrahluntersuchungen am Gelenkknorpel. Dissertation, Universität Leipzig, 2001.
96. (2) T. Reinert, U. Reibetanz, J. Vogt, T. Butz, A. Werner, W. Gründer. Visualisation of collagen fibrils in joint cartilage using STIM. *Nucl Instr Meth Phys Res*, B 181: 511–515, 2001.
97. T. Reinert, U. Reibetanz, M. Schwertner, J. Vogt, T. Butz, A. Sakellariou. The architecture of cartilage: Elemental map and scanning transmission ion microscopy/tomography. *Nucl Instr Meth Phys Res*, B 188:1–8, 2002.
98. P. Rivers, M. Rosenwasser, V. Mow, R. Pawluk, R. Strauch, M. Sugalski, G. Ateshian. Osteoarthritic Changes in the biochemical composition of thumb carpometacarpal joint cartilage and correlation with biomechanical properties. *J Hand Surg*, 25A:889–898, 2000.
99. B. Romeis. *Mikroskopische Technik*. Urban und Schwarzenberg, München, 1989.
100. J. Rubenstein, J. Kim, M. Henkelman. Effects of compression and recovery on bovine articular cartilage: appearance on MR Images. *Radiology*, 201: 843-850, 1996.

101. R. Sah, A. Yang, A. Chen, J. Hant, R. Halili, M. Yoshioka, D. Amiel, R. Coutts. Physical properties of rabbit articular cartilage after transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res*, 15(2):197-203, 1997.
102. Y. Sakakibara, T. Miura, H. Iwata, T. Kikuchi, T. Yamaguchi, T. Yoshimi et al. Effect of high-molecularweight sodium hyaluronate on immobilized rabbit knee. *Clin Orthop*, (299):282-92, 1994.
103. J. Samosky, D. Burstein, W. Eric Grimson, R. Howe, S. Martin, M. Gray. Spatially-localized correlation of dGEMRIC-measured GAG distribution and mechanical stiffness in the human tibial plateau. *J Orthop Res*, 23:93-101, 2005.
104. S. Schneider, G. Schmitt, H. Mau, H. Schmitt, D. Sabo, W. Richter. Prävalenz und Korrelate der Osteoarthritis in der BRD. *Orthopäde*, 34:782-790, 2005.
105. L. Setton, V. Mow, F. Muller, J. Pita, D. Howell. Mechanical properties of canine articular cartilage are significantly altered following transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res*, 12(4):451-63, 1994.
106. P. Seidel. Untersuchungen zum Ordnungsparameter der kollagenen Fasern in artikulärem Knorpel in Abhängigkeit von seinem biologischen Alter und der mechanischen Belastung mit Hilfe der Magnet-Resonanz-Tomographie. Diss. Universität Leipzig, 2004.
107. (1) P. Seidel, W. Gründer. Collagen order of articular cartilage by clinical magnetic resonance images and its age dependency. *Z Med Phys*, 15:45-51, 2005.
108. (2) P. Seidel, G. Hanke, W. Gründer. Load distribution of articular cartilage from MR-images by neural nets. *Z Med Phys*, 15:101-106, 2005.
109. M. Soltz, G. Ateshian. Experimental verification and theoretical prediction of cartilage interstitial fluid pressurization at an impermeable contact interface in confined compression, *J Biomech*, 31(10): 927-34, 1998.
110. R. Stockwell, I. Scott. Distributions of acid glycosaminoglycans in human articular cartilage. *Nature*, 215: 1376-8, 1967.
111. L. Stryer. *Biochemie*. Spektrum-der-Wissenschaft-Verlagsgesellschaft, Heidelberg, 1990.
112. A. Thambyah, N. Broom. Micro-anatomical response of cartilage-on-bone to compression: mechanisms of deformation within and beyond the directly loaded matrix. *J Anat*, 209(5): 611-22, 2006.
113. A. Thambyah, N. Broom. On how degeneration influences load-bearing in the cartilage-bone system: a microstructural and micromechanical study. *Osteoarthritis Cartilage*, 15(12), 1410-1423, 2007.

114. M. Vahlensieck, F. Dombrowski, C. Leutner, U. Wagner, M. Reiser. Magnetization transfer contrast (MTC) and MTC-subtraction: enhancement of cartilage lesions and intracartilaginous degeneration in vitro. *Skeletal Radiol*, 23(7):535-9, 1994.
115. K. von der Mark, K. Glückert. Biochemische und molekularbiologische Aspekte zur Früherfassung humaner Arthrose. *Orthopäde*, 19: 2-15, 1990.
116. F. von Müller, O. Seifert. Taschenbuch der medizinisch-klinischen Diagnostik. Verlag von J.F.Bergmann, Wiesbaden, 1913.
117. M. Wagner. Verbesserung der Frühdiagnostik von Gelenkknorpelveränderungen mittels hochauflösender NMR-Tomographie. Diss. Universität Leipzig, 1995.
118. A. Wheaton, G. Dodge, D. Elliott, S. Nicoll, R. Reddy. Quantification of cartilage biomechanical and biochemical properties via $T_{1\rho}$ magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med*, 54:1087–1093, 2005.
119. S. Woo, V. Mow, W. Lai. Biomechanical properties of articular cartilage. In: *Handbook of bioengineering*. McGraw-Hill, New York: 4.1-4.44, 1987.
120. Y. Xia, T. Farquhar, N. Burton-Wurster, G. Lust. Origin of cartilage laminae in MRI. *J Magn Reson Imaging*, 7887-894, 1997.
121. Y. Xia. Relaxation anisotropy in cartilage by NMR microscopy (μ MRI) at 14- μ m resolution. *Magn Reson Med*, 39: 941–949, 1998.
122. Y. Xia, Heterogeneity of cartilage laminae in MR imaging. *Osteoarthritis Cartilage*, 9:393-406, 2000.
123. Y. Xia, J. Moody, N. Burton-Wurster, G. Lust. Quantitative in situ correlation between microscopic MRI and polarized light microscopy studies of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*, 9:393-406, 2001.
124. W. Yuh, G. Christoforidis, R. Koch, S. Sammet, P. Schmalbrock, M. Yang, M. Knopp. Clinical magnetic resonance imaging of brain tumors at ultrahigh field: a state-of-the-art review. *Top Magn Reson Imaging*, 17(2):53-61, 2006.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Professor Wilfried Gründer bedanken. Nicht nur für die Überlassung des sehr spannenden und anspruchsvollen Forschungsthemas und seine professionelle Unterstützung bei der Planung der Experimente, Auswertung der Ergebnisse sowie Erstellung der Dissertation. Vielmehr bin ich ihm dankbar für das wertvolle Wissen, welches ich von ihm in all den Jahren unserer Zusammenarbeit erworben habe.

Ich bedanke mich aufrichtig beim ehemaligen Direktor des Instituts für Medizinische Physik und Biophysik der Universität Leipzig Herrn Professor Klaus Arnold für die Möglichkeit in dieser Forschungseinrichtung arbeiten zu dürfen und bei allen Mitarbeiter des Instituts für ein sehr freundliches und angenehmes Arbeitsklima und vielseitige Hilfsbereitschaft.

Ich möchte meinen großen Dank Herrn Professor Andreas Keller aussprechen für die freundliche Bereitschaft, meine Arbeit an der Technischen Universität Ilmenau zu betreuen — welche für mich die Promotion erst möglich gemacht hat — sowie für seine hochwertigen Ratschläge, Kommentare und Empfehlungen.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Herrn Professor Thomas Kahn für die gegebene Möglichkeit bedanken, meine Dissertation in der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie des Universitätsklinikums Leipzig fertig stellen zu dürfen.

Vielen Dank an zahlreiche Mitarbeiter der Universität Leipzig für die zur Verfügung gestellten experimentellen Materialien sowie für die medizinisch-technische Unterstützung: Herrn Dr. Hanno Steinke, Herrn Dr. Jörg Aschenbach, Herrn Reiko Rackwitz, Herrn Dr. Bastian Marquaß, Frau Isabelle Hanisch und allen Anderen.

Ich möchte mich auch vom ganzen Herzen bei meiner Frau Inken für ihre Geduld und Verständnis, geistige Unterstützung und ständige Motivation an allen Etappen meiner Arbeit an dieser Dissertation bedanken.

Ihr
Nikita Garnov

Thesen

zur Dissertationsschrift

„Winkel-sensitive MRT zur nichtinvasiven Analyse belasteter Knorpelstruktur“

1. Degenerative Veränderungen des Gelenkknorpels sind die Hauptursache der Arthrose. Diese Prozesse verlaufen zunächst meist unbemerkt, sind in späteren Stadien irreversibel und führen zu progressiven Bewegungseinschränkungen mit der Konsequenz eines Gelenkersatzes.
2. Frühe arthrotische Veränderungen zu erkennen könnte die therapeutischen Möglichkeiten entscheidend verbessern.
3. Zurzeit existieren keine etablierten nichtinvasiven Methoden zur Diagnostik früharthrotischer Veränderungen im Gelenkknorpel.
4. Die Magnetresonanztomographie (MRT) besitzt auf Grund ihres hohen Weichteilkontrastes und ihrer hohen räumlichen Auflösung ein großes Potential für die Früherkennung der Arthrose. Bedingt durch technische Grenzen ist die konventionelle, klinische MRT gegenwärtig jedoch kaum zum Nachweis früharthrotischer Veränderungen geeignet.
5. Eine Winkel-sensitive MRT (WS-MRT) eröffnet die Möglichkeit, Informationen über die Struktur des kollagenen Netzwerks des Gelenkknorpels zu erhalten. Diese Methode basiert auf der Orientierungsabhängigkeit der T_2 -Relaxation. Diese wird im Gelenkknorpel wesentlich von der dipolaren Wechselwirkung der durch die kollagene Knorpelstruktur beeinflussten Wasserstoffatome bestimmt.
6. Degenerative Prozesse ändern die biomechanischen Eigenschaften des Gelenkknorpels. Diese Änderung ist ein empfindlicher Indikator für frühe degenerative Veränderungen.
7. Ziel der vorliegenden Arbeit: Mit Hilfe der WS-MRT die Orientierungsänderungen der Kollagenfasern unter Belastung zu erfassen und die Eignung dieser Methode zur Analyse der druckbedingten Transformation der Knorpelmatrix zu evaluieren.
8. Für die Berechnung der Signalintensität bei der WS-MRT wurde die analytische Lösung als Funktion von der Hauptfaserausrichtung θ und dem Büschelöffnungswinkel α_B ausgearbeitet, auf deren Basis alle Simulationen durchgeführt worden sind.

9. Es wurden ausgestanzte Knorpelproben mit dem Durchmesser von ca. 15 mm aus den Hauptbelastungsregionen der Kniegelenkflächen des adulten Schafes untersucht. Die hochauflösenden T_2 -gewichteten MR-Bilder wurden an einem Hochfeld-NMR-Spektrometer bei einer Magnetfeldstärke von 7 Tesla (Raumtemperaturbohrung 89 mm) aufgenommen.
10. Die natürliche Ausrichtung der Kollagenfasern in der radialen Zone des adulten Knorpels weicht um bis zu 22° von der Richtung der Oberflächennormale ab und muss bei der quantitativen Auswertung der druckbedingten Deformation der Kollagenmatrix berücksichtigt werden.
11. Der in der mittleren Region der Proben experimentell bestimmte Elastizitätsmodul betrug bei dem femoralen Knorpel 1,9-2,0 MPa, bei der Tibia 3,9 MPa und war um 17% (Femur) bis 28% (Tibia) niedriger als in den Randregionen.
12. Die quantitative Auswertung der druckbedingten Änderungen der (mittleren) Orientierung des Kollagenfasernetzwerks ergab eine Neigung σ von $35-40^\circ/\text{MPa}$ für den Femur bzw. $27^\circ/\text{MPa}$ für die Tibia.
13. Aus den erhaltenen Daten über die Faserneigung und Dickenänderung in den mittleren Probenregionen wurde die druckbedingte Kräuselung der Kollagenfaser ermittelt, welche eine Erhöhung des Büschelöffnungswinkels α_B von $27^\circ/\text{MPa}$ bis $33^\circ/\text{MPa}$ in dem Femurknorpel verursacht. Bei der Tibia wurde keine Kräuselung festgestellt.
14. Es wurden verschiedene mögliche Ansätze für Transformationsvorgänge der Knorpelmatrix unter Druckbelastung durch entsprechende theoretische Intensitätsverhalten simuliert und mit den experimentellen Signalverhalten verglichen. Im Ergebnis wurde die beste Übereinstimmung für ein Modell gefunden, bei dem die Deformation durch eine Neigung sowie eine gleichzeitige geringfügige Kräuselung ($\alpha_B \approx 30^\circ/\text{MPa}$) der Kollagenfasern beschrieben wird.
15. Das ermittelte Deformationsverhalten der Kollagenmatrix wurde für die Berechnung der theoretischen Signalintensität in dem Zentralpunkt der Knorpelproben verwendet. Die Vergleichsanalyse ergab eine gute Übereinstimmung mit den in diesem Punkt experimentell abgelesenen Intensitätswerten.
16. Wesentliches Ergebnis der Arbeit: Mit Hilfe der hochauflösenden WS-MRT können aus der Auswertung der Signalintensitätsänderungen potenziell auf nichtinvasive Weise druckbedingte Matrixdeformationen des Gelenkknorpels abgeleitet werden. Dies könnte eine sehr empfindliche Methode zum Nachweis früher arthrotischen Veränderungen werden.
17. Als ein bedeutender Nebenaspekt wurde in der Arbeit die dreidimensionale Architektur des kollagenen Netzwerks im Gelenkknorpel des Knies untersucht. Die beiden derzeit herrschenden Meinungen über den Strukturaufbau – lamellen- und säulenartige – wurden erörtert und aus der Sicht der WS-MRT analysiert. Nicht bestätigt werden konnte der lamellenartige Aufbau für den experimentell untersuchten adulten Menschen- und Schweineknorpel.