

Aus der Orthopädischen Praxis
in München
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Pförringer

„Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Thomas Baurmann

aus München

2007

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Pfürringer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. R. Putz

Mitbetreuung durch den
Promovierten Mitarbeiter:

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 29.11.2007

Für Inge und Rainer

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Osteogenese und Entstehung der Epiphysenfuge	5
2. Regionale Gliederung der Epiphysenfuge	7
3. Funktion der Epiphyse	8
4. Wachstum der knorpeligen Epiphyse und Bildung des Knochenkerns	9
5. Die Proliferationszonen: Hyaliner Epiphysenknorpel, Transformationszone, Säulenknorpel	15
6. Die hypertrophe Zone	31
7. Eröffnung und Ossifikation	45
8. Zusammenfassung	52
9. Literaturnachweis	54
10. Abbildungsnachweis	58
11. Abkürzungsverzeichnis	59
12. Lebenslauf	60
13. Selbständigkeitserklärung	62
14. Danksagung	63

Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge

1. Osteogenese und Entstehung der Epiphysenfuge

Der Prozess der Knochenentwicklung erfolgt auf zweierlei verschiedene Arten, stets über ein vorhandenes Binde- oder Stützgewebe. Bei den Knochen der Schädelkalotte, des Gesichtes und Abschnitten der Klavikula wird embryonales Bindegewebe direkt zu Knochen umgebaut (desmale Osteogenese). Im Gegensatz dazu entwickeln sich die meisten Knochen der Schädelbasis sowie von Rumpf und den Extremitäten über ein vorübergehendes Primordialskelett, das aus hyalinem Knorpel besteht (enchondrale Osteogenese).

Zeitgleich zur Bildung der perichondralen Knochenmanschette wird die enchondrale Knochenbildung eingeleitet. Die Knorpelzellen nehmen auf Kosten der Extrazellulärsubstanz an Größe zu, es kommt zur Mineralisation der interterritorialen Matrix der hypertrophen Zellen. Ein Gefäß wandert aus dem Periost durch die Knochenmanschette und bringt Bindegewebe in den verkalkten Bereich, aus dem sich Osteoblasten, Blutbildungszellen, sowie Chondroklasten und Osteoklasten differenzieren. Die extrazelluläre Matrix wird abgebaut, die Lakunen der hypertrophen Zellen werden eröffnet. Osteoblasten lagern sich an deren Rändern an und bilden Knochenmatrix; der zunächst primäre Knochenkern entsteht. Synchron zur Verlängerung der Knochenmanschette wird in Richtung der Epiphyse kontinuierlich Knorpel an- und Knochen abgebaut. An den Gelenken bleiben die Epiphysen zunächst rein knorpelig. Der Zwischenraum der Trabekeln des Geflechtknochens bildet den primären Markraum, der vom primären Knochenmark ausgefüllt wird.

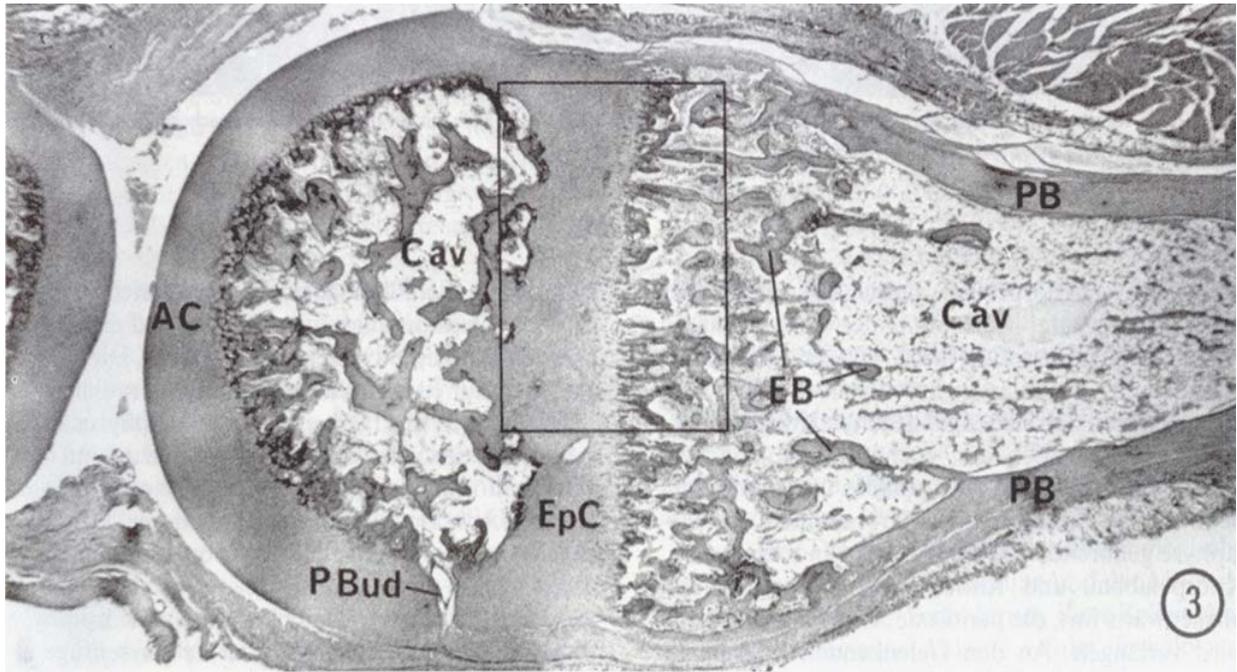


Abb. 1 Enchondrale Ossifikation. Entwicklung des epiphysären Knochenkerns (Affe, HE 16x) nach Invasion von Gefäßbindegewebe (PBud) vom Perichondrium. Der periostale Knochen (PB) erscheint kompakter. Am epiphysären Ende des Markraums (Cav) verknöchert der von der Epiphysenfuge (EpC) stammende Knorpel enchondral (EB); AC = Gelenkknorpel [Wasmer, 1987].

Nach der Geburt dringt - ähnlich wie bei der Entstehung des diaphysären Knochenkerns - Bindegewebe über ein Gefäß durch das Perichondrium in die knorpelige Epiphyse und bildet den sekundären Knochenkern. Durch radiäres Wachstum wird der Epiphysenknorpel bis auf einen gelenknahen und einen scheibenförmigen Teil zwischen Metaphyse und knöcherner Epiphyse, die Epiphysenfuge verdrängt (Abb. 1).

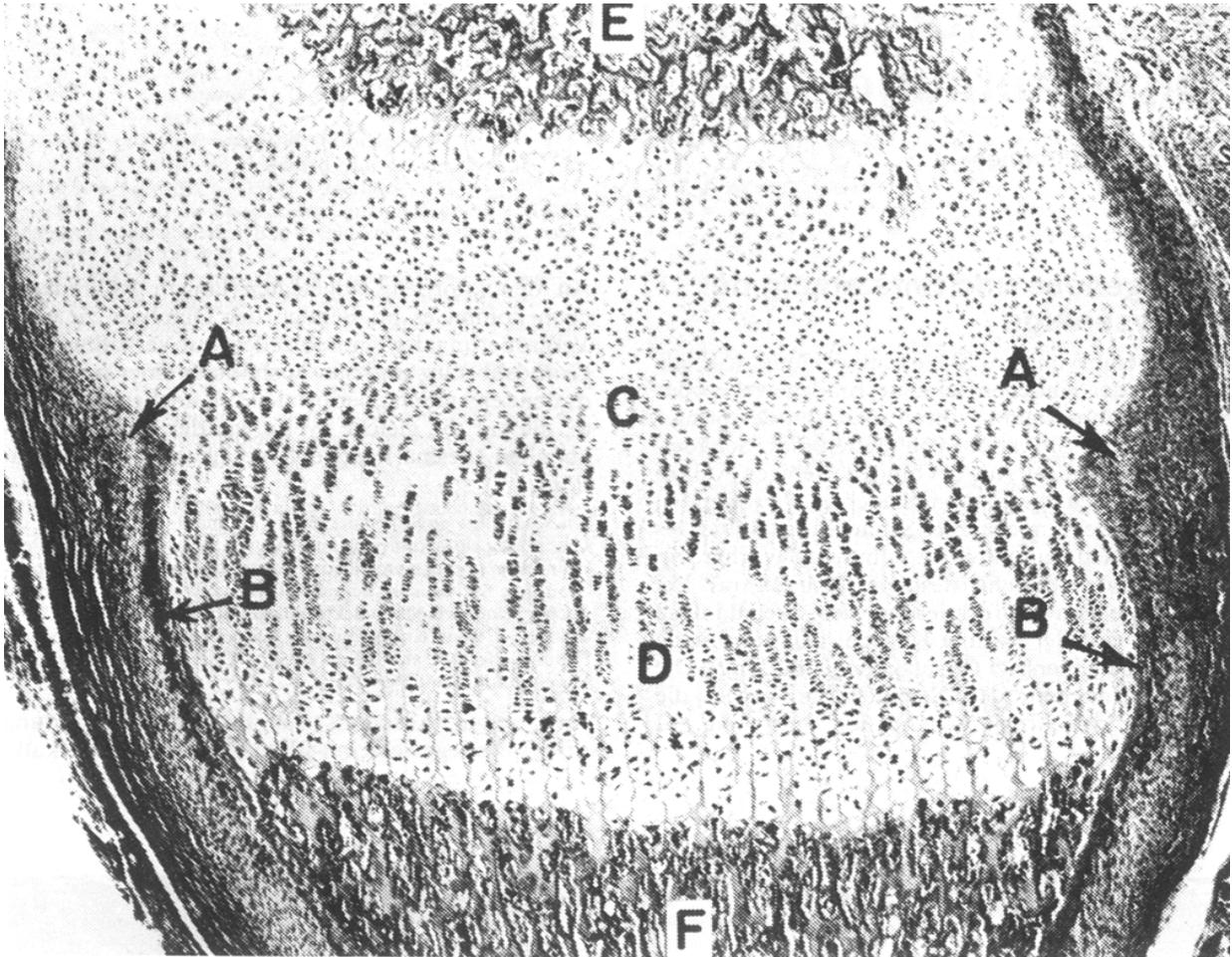


Abb. 2 Die Ranviersche „rainure circulaire“, distaler Metatarsus (unreife Ratte, HE 50 x). A = Einkerbung; B = Knochenlamelle (l'écorce); C, D = Knorpel der Epiphysenfuge; E = Knochenkern; F = Metaphyse [Wasmer, 1987]

Eine zirkumferente Einkerbung kennzeichnet den Übergang vom Perichondrium der Epiphyse zum Periost, deren Zellen in enger Verbindung mit einer Knochenlamelle stehen. Diesen Bereich sehen nach *Wasmer* viele Autoren als eigene „Wachstumszone“.

2. Regionale Gliederung der Epiphysenfuge

Eine einheitliche Einteilung ist aus historischen Gründen nicht zu erkennen. Gliederungen nach anatomischen und funktionellen Kriterien vermischen sich. Unter Berücksichtigung des mikroskopischen Bildes und der Modifikation, die die einzelnen Zonen im Laufe der Entwicklung durchlaufen, ergibt sich nach *Wasmer* folgende Einteilung:

Im gelenknächsten Abschnitt befindet sich die Zone des hyalinen Knorpels. [Andere Bezeichnungen sind Keimzone, Basalzone, Reservezone, (reserve zone) oder ruhender

Knorpel (resting cartilage)]. Wegen des zunächst vorherrschenden Wachstums wird nach *Wasmer* außerdem zwischen dem Begriff des wachsenden Knorpels, von dem des metamorphosierenden Knorpels bei der Bildung des Knochenkerns unterschieden.

Danach schließt nach einer sog. Übergangszone (Transformationszone) die eigentliche Wachstumszone an, die sich als Säulenknorpel darstellt [Milz, 2002]. Sie zeigt sich als ein Abschnitt mit flachen Zellen, die in charakteristischen Zellreihen angeordnet sind. Viele Autoren stellen die Proliferation in den Vordergrund und bezeichnen diese Zone deshalb auch als Proliferationszone [Tillmann, 2003; Netter, 1992] Im Wesentlichen jedoch findet sie wahrscheinlich nur in einem Teilbereich des Säulenknorpels statt [Wasmer, 1987].

Die Zone des hypertrophen Knorpels schließt sich als letzte Region der Epiphyse distal an und wird auch als Zone des reifenden Knorpels bezeichnet. Aufgrund der starken Zunahme des Zellvolumens wird gelegentlich vom Blasenknorpel gesprochen [Wasmer, 1987].

Die hypertrophe Zone wird nach *Wasmer* in 3 Unterregionen gegliedert:

In der 1. Region kommt es zur Produktion von Interzellulärsubstanz und die Zellen hypertrophieren, dieser Prozess erreicht sein Maximum im 2. Abschnitt. Die 3. Region ist durch die Mineralisation in den interkolumnären Längssepten charakterisiert und wird deshalb auch als Mineralisationszone bezeichnet.

Der Übergang zur Metaphyse wird von Gefäßen infiltriert, die in die Lakunen der hypertrophen Chondrozyten vordringen und die Knorpelhöhlen eröffnen. Diese brechen regelrecht auf. Die rundumliegende Matrix wird zunehmend mineralisiert, so dass man von einer Verkalkungszone spricht [Milz, 2002]. Der verkalkte Knorpel wird schließlich abgebaut und Bindegewebe dringt gegen den Knorpel vor. Die Längssepten bleiben teilweise unversehrt und werden von Osteoblasten besiedelt, die Osteoid ablagern. Die Ossifikationszone ist durch die primären Spongiosabälkchen gekennzeichnet, die bei der enchondralen Knochenbildung entstehen.

3. Funktion der Epiphyse

Neben der Modellierung der Gelenkflächen ist die Hauptfunktion der Epiphysenfuge das enchondrale Längenwachstum. Zur Zeit der Entstehung des Knochenkerns hat die

Epiphysefuge einen bipolaren Aufbau [Wasmer, 1987]. Es werden Zellen sowohl an der epiphysären wie auch an der metaphysären Seite bereitgestellt. Das Längenwachstum wird vorangetrieben, wobei der Hauptteil an der Metaphyse stattfindet. Außerdem wächst die Fuge in die Breite, wahrscheinlich in der Hauptsache im Bereich der Ranvierschen Furche, am Übergang von Epiphyse zu Metaphyse [Wasmer, 1987]. Sie kann auf äußere verändernde Einflüsse reagieren.

Die Ausbildung und Modellierung einer determinierten Form sowie die Geschwindigkeit des Wachstums setzen komplexe Regelmechanismen voraus, die im Einzelnen noch nicht bekannt sind. Die Gliederung erfolgt deshalb regional, nach Ausdehnung und Modifikation der Zonen sowie nach Veränderung der Zellen und der histochemischen Abläufe.

4. Wachstum der knorpeligen Epiphyse und Bildung des Knochenkerns

Vor Erscheinen des Epiphysenkerns ist der Knorpel als ein primitiver Typ des hyalinen Knorpels anzusehen. Die Mitoseebenen liegen in alle Richtungen des Raumes. Die Zellen sind klein, annähernd gleich groß und abgerundet [Wasmer, 1987], sie sind dicht aber "regellos" angeordnet [Putz, 1996]. Es bilden sich Zellsäulen aus Proliferations- und Blasenknorpelzellen, die sich radiär um den Knochenkern anordnen. Durch zentrifugales Wachstum dehnt sich die Epiphysefuge aus; dies erfolgt allerdings viel langsamer als in der Diaphyse. Die Mitoserate nimmt stark zu und die damit verbundene zunehmende Produktion extrazellulärer Matrix führt zu einem Auseinanderdrängen in der Transversalebene, während die Zellen in longitudinaler Richtung nahe beisammen bleiben [Milz, 2002]. Kollagenfasern richten sich radiär aus, gleichzeitig platten sich die Zellen ab. Außerdem besteht neben diesem interstitiellen Wachstum eine appositionelle Vergrößerung vom Perichondrium her [Wasmer, 1987]. Dabei gehen an der Grenze zum Perichondrium, Chondroblasten auch aus Fibroblasten hervor [Putz, 1996]. Die extrazelluläre Matrix nimmt sowohl gelenk- als auch diaphysenwärts an relativen Volumen ab [Dallek et al., 1989].

Perichondrium und die angrenzende Schicht des Appositionsknorpels bilden eine Einheit. Das Perichondrium ist durch unterschiedliche Abschnitte charakterisiert. Es enthält in seinen peripheren Anteilen fibroblastenähnliche Zellen mit einem großen, oft exzentrisch gelegenen Kern. In Höhe des Epiphysenknorpels sind sie Zellen rhombisch bis ovoid geformt und teilen sich vereinzelt; sie können als Prächondroblasten bezeichnet werden [Wasmer, 1987]. Der

Interzellularräum ist reich an kollagenen Fibrillen in unterschiedlicher Zahl, die z. T. auch gebündelt vorkommen. Im Bereich vor der Knorpelbildungsfront sind Kapillaren zu erkennen. Die Chondroblasten sind unregelmäßig gestaltet, knorpelnah schlank und lang gestreckt. Die Interzellularräume werden weiter, möglicherweise aufgrund der Produktion von Proteoglykanen durch die Zellen und enthalten einige Kollagenfibrillen (Abb. 3) [Wasmer, 1987].



Abb. 3 Perichondrium und Appositionsknorpel (Rinderfetus, 2200 x). a = Fibroblasten; b = Prächondroblasten; c = Mitose; d = Kapillare; e = quergestreifte Kollagenfibrillen, die in den Appositionsknorpel eintreten; f = Knorpelfibrillen, dazwischen MPS-Granula; g = schlanke Appositionszellen; h = Umwandlung zu hyalinen Knorpelzellen [Wasmer, 1987].

Am Übergang von Epiphysenzentrum zu Appositionsknorpel werden die Chondrozyten zunehmend aktiver. Im knochenkernnahen Bereich ist Glykogen-Synthase vorhanden um Glykogen zu fördern, das zur Produktion von Interzellulärsubstanz benötigt wird. Auch Enzyme der Glykolyse, des Zitratzyklus und der Atmungskette konnten nachgewiesen

werden. Da die Bildung des Knochenkerns durch eine hohe Zellaktivität charakterisiert ist, spricht *Wasmer* vom metamorphosierenden Knorpel.

Wasmer beschreibt morphologische Veränderungen an der Rattenepiphyse. Dabei runden sich die Zellen des metamorphosierenden Knorpels im Bereich des Knochenkerns ab. Gleichzeitig kommt es zu einer Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums und zur vermehrten Speicherung von Kohlenhydraten. Sie ordnen sich zirkulär um das Gebiet des Knochenkerns an, degenerieren, verlieren Kohlenhydrate, schrumpfen und zerfallen zu granulären Massen. Gleichzeitig desintegriert die zelluläre Substanz. Es bildet sich eine Höhle mit einem Gefäßkanal (vgl. Abb. 1). Die umgebenden Zellen hypertrophieren, die Knorpelhöhlen werden eröffnet. Es kommt zur Progression der Eröffnungsfront auf den sich ausbildenden Gelenkknorpel und die nun entstandene Epiphysenscheibe. Der Kern verknöchert von enchondral. Nach Auftreten der ersten Knochenbälkchen beginnt die allseitige Vergrößerung der Kugelform. In der zum Knochenkern gerichteten basalen Knorpelschicht bildet sich eine für die Epiphysenfuge charakteristische Zonierung aus.

Im Stadium der Verkalkung sind rundum dichte zirkuläre Bündel von kollagenen Fasern zu finden, die besonders auf Höhe der Epiphysenfuge die flächenhafte Querdehnung aufzunehmen haben [Dallek et al., 1989]. Mit dem Erreichen der Wachstumsfuge wird das appositionelle Wachstum nahe des Kontaktbereichs eingestellt, wodurch eine Abplattung entsteht. Die gelenknahe Kontur wird durch die korrespondierenden Gelenkpartner bestimmt [Putz, 1996]. Epiphysenscheibe und der Knochenkern mit Gelenkknorpel entwickeln sich bis zum Schluss der Fuge weitgehend unabhängig voneinander [Wasmer, 1987].

„Encoche d’ossification“ und transversales Wachstum der Fuge

Die „encoche d’ossification“ ist – als besondere „Wachstumszone“ - am Übergang von Perichondrium zu Periost zu finden. Die schräge Einstellung der peripheren Säulen des Fugenknorpels und die damit entstandene konische Anordnung wird der Encoche-Apposition zugeschrieben. Nach *Wasmer* ist die Encoche-Apposition als eigene Form der Chondrogenese neben der perichondralen anzusehen.

Schmale Chondrozyten werden unmittelbar zu Säulenknorpelzellen, im Schnitt sind sie kantig, oft dreieckig geformt (Abb. 4). Sie werden schließlich zu quergestellten

Säulenknorpelzellen umgestaltet. Das Stadium des hyalinen Knorpels und der Transformationszone wird übersprungen [Wasmer, 1987].

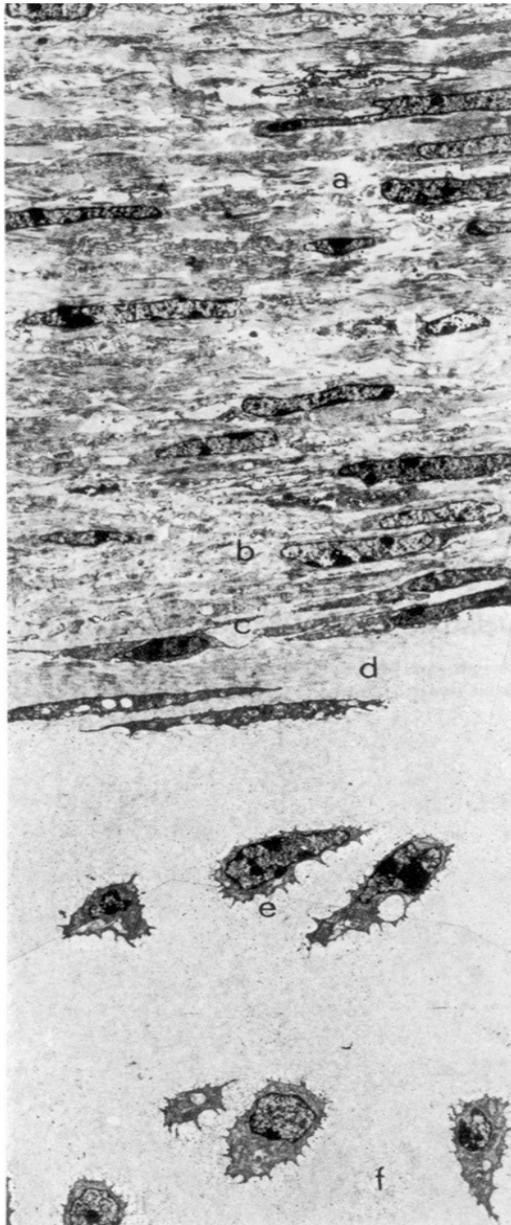


Abb. 4 Umgestaltung von schmalen Chondrozyten zu Säulenknorpelzellen in der encoche d'ossification (Rinderfetus 2400 x). a = Fibroblasten, dazwischen zahlreiche längs verlaufende Kollagenfibrillen; b = Prächondroblasten; c = schmale Chondrozyten; d = Einstrahlung quergestreifter Kollagenfibrillen in den Knorpel; e = Umwandlung der Zellgestalt von flacher Zelle zu Säulenknorpelzelle; f = Säulenknorpelzelle [Wasmer, 1987]

Auf Höhe des hypertrophen Knorpels und der Eröffnungszone wird das periphere Drittel des Epiphysendurchmessers von Abkömmlingen der Encoche-Apposition eingenommen. Die beiden zentralen Viertel entspringen dem hyalinen Epiphysenknorpel. Die Vermehrung der Chondrozyten treibt die Verlängerung der Säulen voran und führt so zum Längenwachstum. Die transversale Vergrößerung wird bei der perichondralen Apposition mit der Umordnung der Zellen zu Säulen wirkungslos. Mit der Encoche wird ein zweites Appositionszentrum aufgebaut, das sofort Säulen liefert [Wasmer, 1987].

Da die “Encoche“- Säulen “perichondral“ ergänzt und weitergebaut werden, wird nach *Wasmer* vermutet, dass auch eine Steuerung des diaphysären Dickenwachstums und der Einverleibung der Spongiosa als Trichter in die Diaphyse durch den osteogenen Teil der Encoche stattfindet. Entsprechend soll die Ranviersche l'écorce (*Lacroix*: “perichondrale Knochenrinde“; Abb.2) ein solches Steuerungselement darstellen.

Aus der Einschnürung stammende Osteoblasten lagern sich an der Außenseite der Knochenrinde an, während Osteoklasten nur an der inneren Oberfläche des distalen Endes konzentriert sind. Die Knochensynthese schreitet nach proximal und außen voran, gleichzeitig wird Knochen nach distal und innen resorbiert. Durch diesen Vorgang wird während des longitudinalen und horizontalen Knochenwachstums ein Trichter in der Metaphyse gebildet und eine mechanische Stütze der Wachstumsfuge (Abb. 5) gewährleistet.

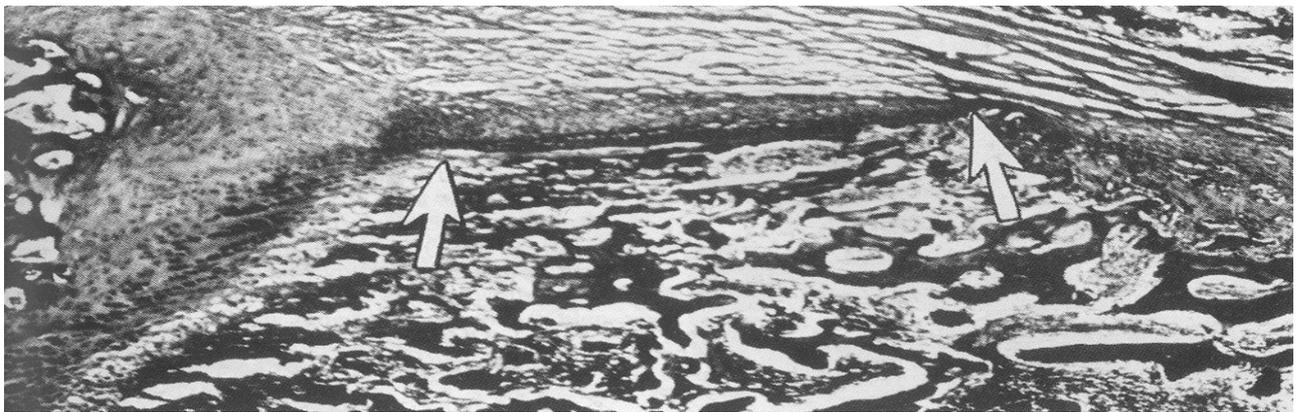


Abb. 5a

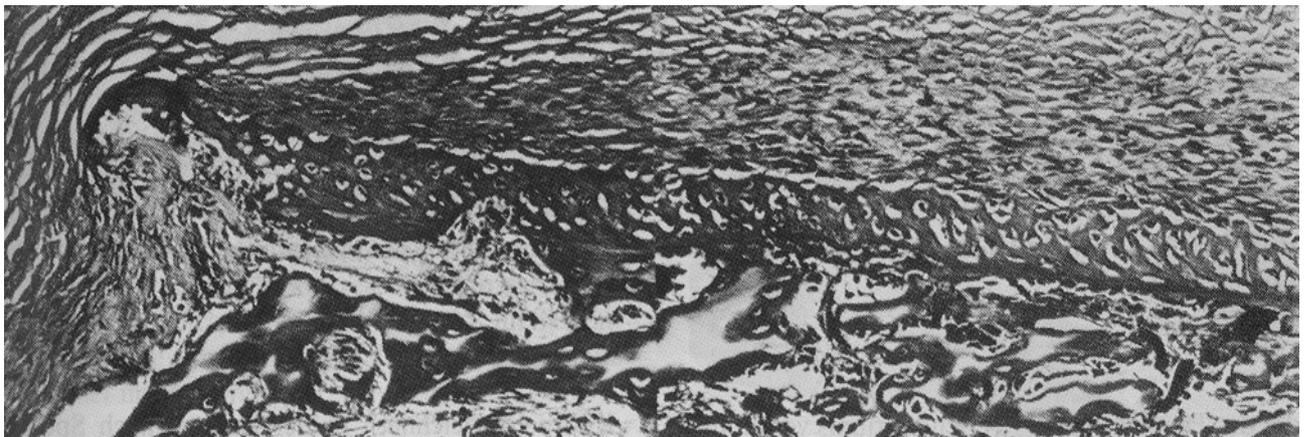


Abb. 5b

Abb. 5 Knochenanbau und -abbau an der Ranvierschen l'écorce [Wasmer, 1987]

a) Knochenlamelle (zwischen den Pfeilen) an der Ranvierschen Einschnürung (Kaninchen, HE, 50 x). Die Epiphysenfuge ist links, die Metaphyse rechts.

b) Stärkere Vergrößerungen der Knochenlamelle (HE, 100 x). Das epiphysäre Ende der Knochenlamelle liegt rechts (nicht abgebildet), das metaphysäre links. An der Außenseite der Knochenlamelle (oben) ist eine Schicht osteogenetischer, dicht gepackter Zellen erkennbar, die sich der Knochenrinde zunehmend nähert und an ihrem distalen Ende verschwindet. An diesem Ende und an der Innenseite der Lamelle findet ein zumindest teilweise durch Osteoklasten gesteuerter Abbau statt.

Nach *Wasmer* wird neben den dichtgepackten Zellen, zwei weitere morphologisch und funktionell verschiedene Abschnitte der Ranvierschen Einschnürung unterschieden.

Für die appositionelle Chondrogenese und das transversale Wachstum der Fuge wird eine Zone mit verstreuten, relativ undifferenzierten mesenchymalen Zellen verantwortlich gemacht, die als Vorläufer angesehen werden [vgl. Abb.4].

Die 3. Zone wird von einer äußeren Bindegewebsschicht gebildet, die aus Fibroblasten und Fibrozytenbündel besteht und mit der des Periosts und des Perichondrium verbunden ist (s. Abb. 6). Sie sorgt für einen festen Halt zwischen Periost und Knochen und gewährleistet zudem einen mechanischen Schutz der Fuge.

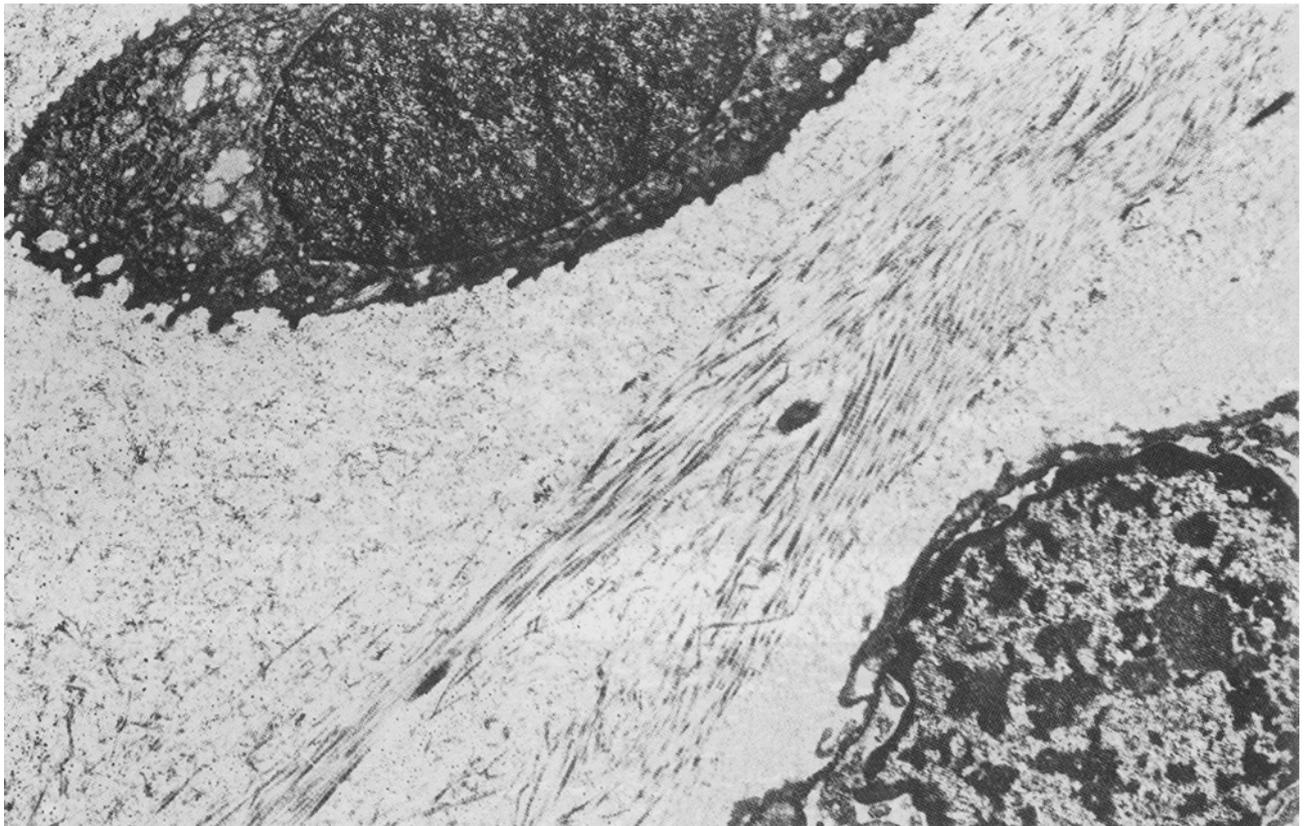


Abb. 6 Kollagene Faserbündel strahlen von der äußeren Bindegewebsschicht („fibrous roof“) in die Knorpelmatrix ein (Kaninchen 9000 x) [Wasmer, 1987]

Brighton beschreibt runde bis ovale Zellen, die von der Encoche in die Reservezone des Epiphysenknorpels einzufließen scheinen. Möglicherweise werden Knorpelzellen für den

Epiphysenknorpel bereitgestellt um das Wachstum in der Breite voranzutreiben. In elektronenmikroskopischen und autoradiographischen Untersuchungen wurden 3 unterschiedliche Gruppen von Zellen entdeckt: eine Gruppe von dicht aneinander liegenden Zellen, möglicherweise Progenitorzellen für Osteoblasten, die das knöcherne Band um die Encoche bilden, eine weitere Gruppe undifferenzierter Zellen und Fibroblasten, die ihren Teil zur appositionellen Chondrogenese beisteuern, und folglich zum Dickenwachstum beitragen und schließlich Fibroblasten inmitten von Kollagenschichten, die den Ring bedecken und eine feste Verbindung mit dem Perichondrium des hyalinen Knorpels über der Epiphysenfuge gewährleisten. Somit dient für *Brighton* die Encoche der Bereitstellung von Chondrozyten für die Wachstumsfuge und damit dem Dickenwachstum.

Der perichondrale Ring umgibt die Epiphysenfuge an der Knochen-Knorpel-Grenze als dichtes, fibröses Band. Seine Kollagenfasern verlaufen senkrecht, schräg und zirkumferent. Am einen Ende ist er mit den Fibroblasten und Kollagenfasern der Encoche, am anderen Ende mit dem Periost und dem subperiostalen Knochen der Metaphyse verbunden [Brighton, 1987]. *Langenskiöld* et al. hingegen fanden mRNA des knorpelspezifischen Typ II Kollagen in Zellen der inneren Schicht der Encoche und in der Kambiumschicht des angrenzenden Periost. Zellen scheinen von der Reservezone in die Peripherie zu wandern, wo einige die Vergrößerung der Zellsäulen innerhalb der Encoche vorantreiben [Langenskiöld et al., 1993]. *Langenskiöld* sieht darin einen Beweis für Ranviers Ansichten, dass diese Zellen dem Wachstumsknorpel entspringen. Andere Zellen ändern ihre Struktur, wandern in die innere Zellschicht und bilden weiter Typ II Kollagen mRNA. Die Reservezone hat für ihn somit eine wichtige Funktion, indem sie Zellen zur Verfügung stellt, die das Dickenwachstum der Fuge und des periostalen Knochen unterstützt.

5. Die Proliferationszonen:

Hyaliner Epiphysenknorpel, Transformationszone, Säulenknorpel

Der hyaline Epiphysenknorpel gliedert sich in zwei Bereiche. Im metamorphosierenden Knorpel wird durch Umgestaltung der Zellen und der Interzellulärsubstanz der Knochenkern gebildet. Daran grenzend, schließt sich der wachsende Knorpel an. Er kann je nach Spezies und Entwicklungsstand eine beträchtliche Schichtdicke erreichen, oft aber nur auf wenige Zellen minimiert sein. Die Morphologie der Chondrozyten im hyalinen Epiphysenknorpel ist von ihrer Lokalisation abhängig. Je nachdem ob sie an den Appositionsknorpel grenzen, im

Zentrum liegen oder der Transformationszone benachbart sind zeigen sie unterschiedliche Gestalt und Struktur; Form und Menge des endoplasmatischen Retikulums scheinen sich dabei nicht zu ändern. Sogar nebeneinander liegende Zellen können sich strukturell erheblich unterscheiden. Die Zellen des hyalinen Knorpels sind reich an Glykogen und sind neben der hypertrophen Zone bedeutend an der Glykogenspeicherung beteiligt.

Zellen sind verglichen mit anderen Zonen der Fuge in geringerer Anzahl zu finden und treten vereinzelt oder in Paaren auf. Das Verhältnis zur Interzellulärsubstanz ist weitaus größer als in anderen Zonen des Wachstumsknorpels.

Ihr Anteil an Lipiden und Vakuolen ist größer als anderer Zonen, das Vorkommen von Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, Laktatdehydrogenase, Glycerol-Phosphat-Dehydrogenase und Phosphoglucoisomerase ist geringer. Alkalische und saure Phosphatase, gesamtes und anorganisches Phosphat, Kalzium, Chlorid, Kalium und Magnesium sowie Lipide und Glykosaminoglykane kommen am geringsten vor [Brighton, 1987].

Matrixvesikel sind ebenfalls zu beobachten, allerdings in geringerer Anzahl als in den anderen Zonen. Die extrazelluläre Matrix besteht aus Chondroitin-4-Sulfat, Chondroitin-6-Sulfat, Keratansulfat und Cartilage Link Protein [Robertson, 1989] und zeigt eine positive histochemische Färbung für ein aggregiertes Proteoglykan [Brighton, 1987], das vermutlich dem Aggrekan entspricht. Typ II Kollagen verteilt sich unorganisiert im Raum [Robertson, 1990]. Mechanisch gesehen fördert die Zone ein Netz von Kollagenfibrillen das die proliferierenden Chondrozyten darunter bedeckt, und somit wie eine Plattform für die angrenzende Epiphyse anzusehen ist [Robertson, 1990].

Nach *Wasmer* sind sowohl die Zellen des hyalinen Epiphysenknorpels wie die der Transformationszone teilungsfähig. Es konnte gezeigt werden, dass alle Zellen im epiphysären Abschnitt der Wachstumszone (hyaliner Knorpel, Transformationszone, Säulenknorpel) vermehrungsfähig sind, nicht nur die einer Germinativzone, die auf die Spitze der Zellsäulen beschränkt ist. Im hyalinen Epiphysenknorpel findet allerdings nur eine träge Proliferation statt. In der Transformationszone ist die Proliferationsrate vermutlich nur wenig größer (die Zellzykluszeit dauert in der Transformationszone ca. 2-3mal länger als im Säulenknorpel). Die Produktion von Interzellulärsubstanz steht hier im Vordergrund [Wasmer, 1987].

Nach den Betrachtungen von *Brighton*, weist die Reservezone keine Zeichen einer Germinativzone auf, die „Mutter“-Knorpelzellen enthält, da Chondrozyten dieser Schicht nicht proliferieren oder das zumindest nur sporadisch tun. Er sieht die Reservezone als einen Vorratsbereich an Nährstoffen an, der für die angrenzenden Zonen bestimmt ist.

Im Gegenteil dazu geht *Hunziker* davon aus, dass die Zellen der Reservezone wie Stammzellen fungieren, die sich selten teilen und die darunter liegende Zone des Säulenknorpels mit Tochterzellen versorgen. Die angrenzenden Zellsäulen können somit als Produkt eines Zellklons der Reservezone betrachtet werden, die nicht nur eine funktionelle, sondern auch eine mechanische Einheit für das Längenwachstum bilden.

Schrier et al. konnten in tierexperimentellen Untersuchungen feststellen, dass sich die Proliferationsrate und die Anzahl der Knorpelzellen in dieser Zone mit zunehmendem Alter verringert.

In ihrer Arbeit an Hasen sprechen *Abad* et al. der Reservezone eine bedeutende Rolle der endochondralen Verknöcherung zu. Sie soll nicht nur stammzellenartige Zellen enthalten sondern auch einen Faktor hervorbringen, der die räumliche Anordnung der Knorpelzellen der Proliferationszone steuert (growth plate-orienting factor). Ein anderer, soll an reservezonennahen Chondrozyten der Proliferationszone die Differenzierung zu hypertrophen Chondrozyten unterdrücken und so verantwortlich für den zonalen Aufbau der Epiphysenfuge sein.

Zwischen Epiphysenknorpel und Säulenknorpel entwickelt sich die Transformationszone als besonderer Abschnitt. Das Aussehen der Zellen und die Begrenzung zu den Nachbarregionen sind vielfältig. Die Chondrozyten sind reich an Kohlenhydraten und nehmen ³⁵S auf. Die Produktion an Interzellulärsubstanz hat in diesem Bereich eine wesentliche Bedeutung und tritt als Perizellulärsubstanz in Erscheinung (Abb. 7). Diese Synthese erfolgt schneller als im hyalinen Epiphysenknorpel, jedoch langsamer als im Säulenknorpel [Wasmer, 1987]. Gleichzeitig ist eine Verringerung der Zellzahl pro Flächeneinheit zu erkennen.

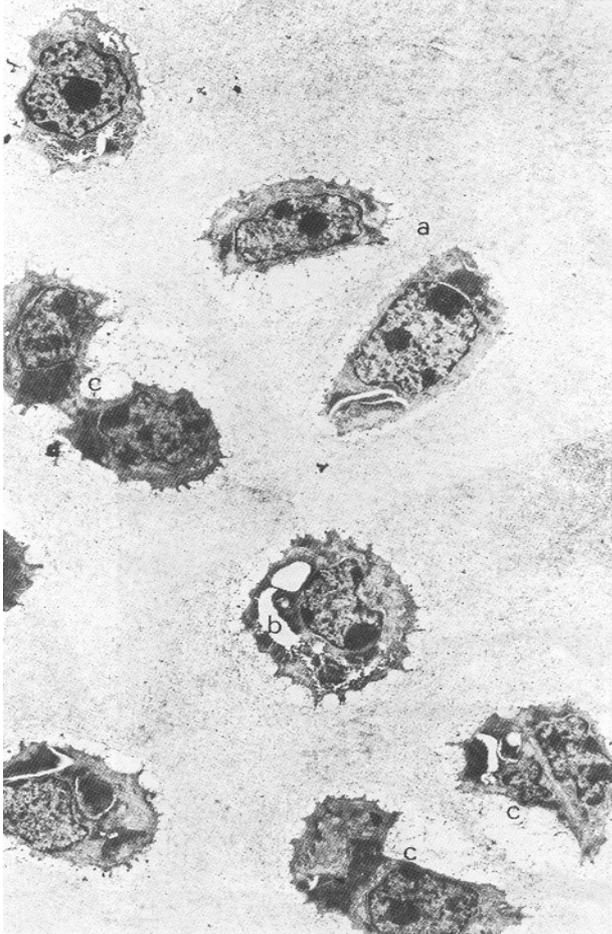


Abb. 7 Chondrozyten der Transformationszone (Rinderfetus, proximale Metatarsusepiphyse, 3500 x). Alle Zellen sind von Perizellulärsubstanz umgeben (Proteoglykansynthese). a = Zellen mit geringer Kohlenhydratspeicherung; b = Zellen mit starker Kohlenhydratspeicherung; c = zwei Zellen in einer Knorpelhöhle [Wasmer, 1987]

Lange Zeit galt der Säulenknorpel als Bereich, indem die Zellen sich ausschließlich vermehren. Die Produktion von Interzellularsubstanz wird in dieser Zone jedoch in großem Umfang fortgesetzt. Während der Zellteilungsphase wird die Matrixsynthese kurzzeitig unterbrochen. Charakteristisch ist die Anordnung zu Säulen der davor "regellos" gelagerten Zellen, wobei die Mitoseachse senkrecht zur Knochenlängsachse steht. Dabei ist die mitotische Aktivität wahrscheinlich nicht für die typische Anordnung verantwortlich.

Auf Grund der Verarmung der Zellen an Kohlenhydraten bei der Umwandlung zu Säulenknorpel vermutet man eine Veränderung des Extrusionsmodus der Interzellularsubstanzen. Diese werden vielleicht nicht mehr am ganzen Umfang der Zelle abgegeben, sondern nur noch in der Weise, dass Längsbalken entstehen [Wasmer, 1987].

Je nach Lokalisation und Alter kommen die Chondrozyten in unterschiedlicher Zahl und Form vor. Abb. 8 und 9. zeigen die flach geformten Zellen im proximalen Teil.

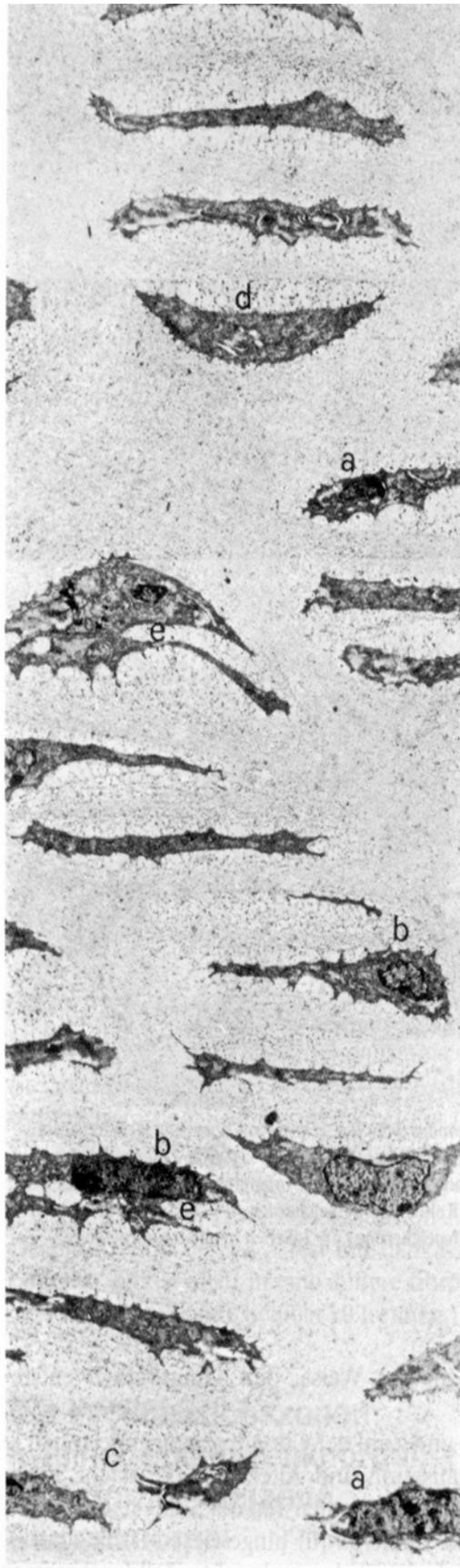


Abb. 8 Chondrozyten des Säulenknorpels (Rinderfetus, proximale Metatarsusepiphyse, 2300 x). Keilförmige Zellen mit unterschiedlicher Zellkernlage (a, b). Perizellulärsubstanz mit unterschiedlicher Größe der Proteoglykangranula (c, d) [Wasmer, 1987]

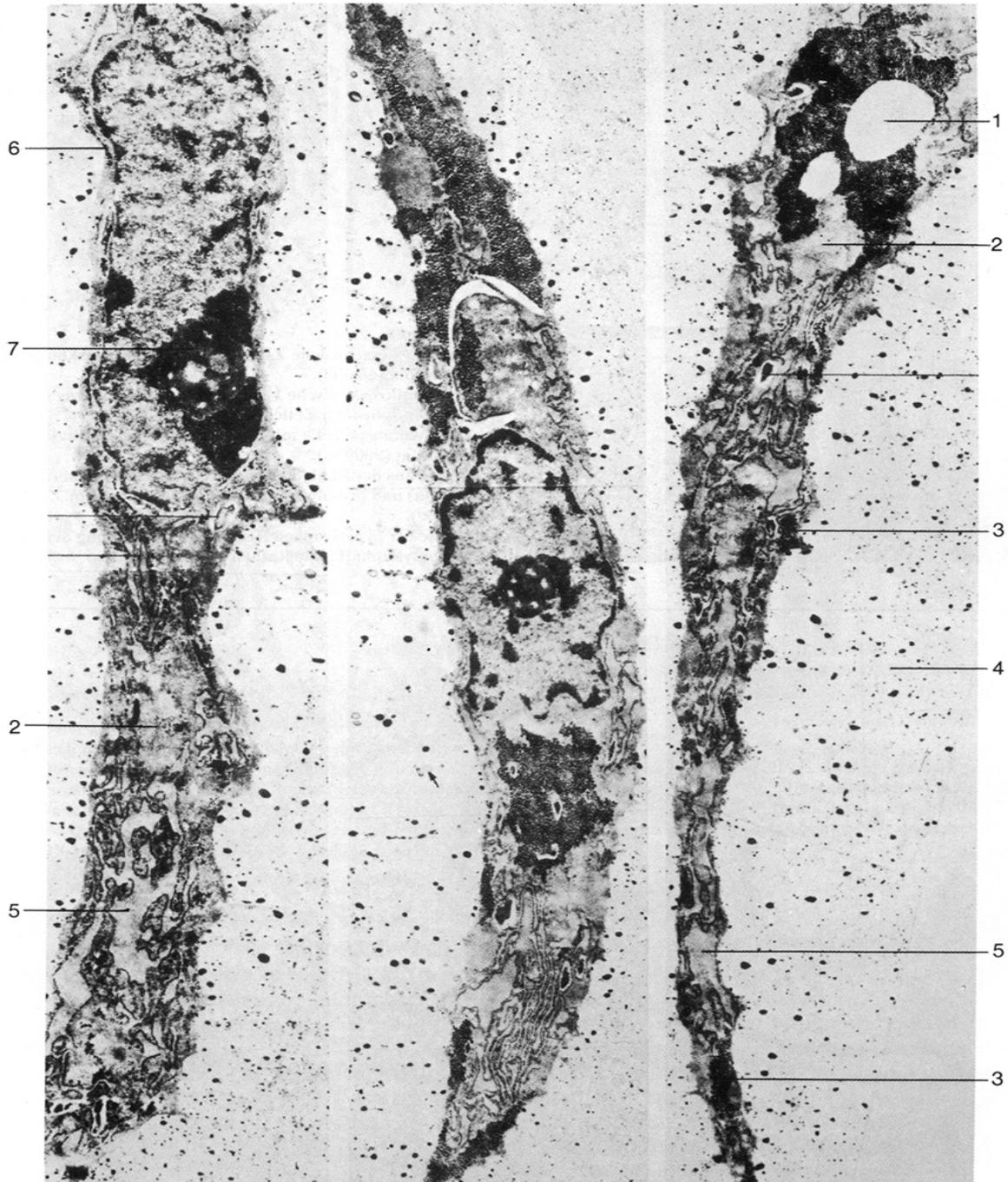


Abb. 9 3 Säulenknorpelzellen (Rinderfetus, 8400 x). 1 = Vakuole mit größerem Kohlenhydratdepot; 2 = kleines Golgi-Feld; 3 = Kohlenhydrate unter dem Plasmalemm; 4 = Vesikel der Interzellularsubstanz; 5 = lakunenartige Zisternen; 6 = Kohlenhydratgranulareihen zwischen Kern und Plasmalemm; 7 = Nukleolus [Wasmer, 1987]

Im distalen Abschnitt werden die Zellen zunehmend größer. Im höheren Alter steigt der Anteil an größeren vesikulären Zellen, der der flachen Zellen schwindet; die Säulen nehmen dabei an Länge ab (Abb. 10).

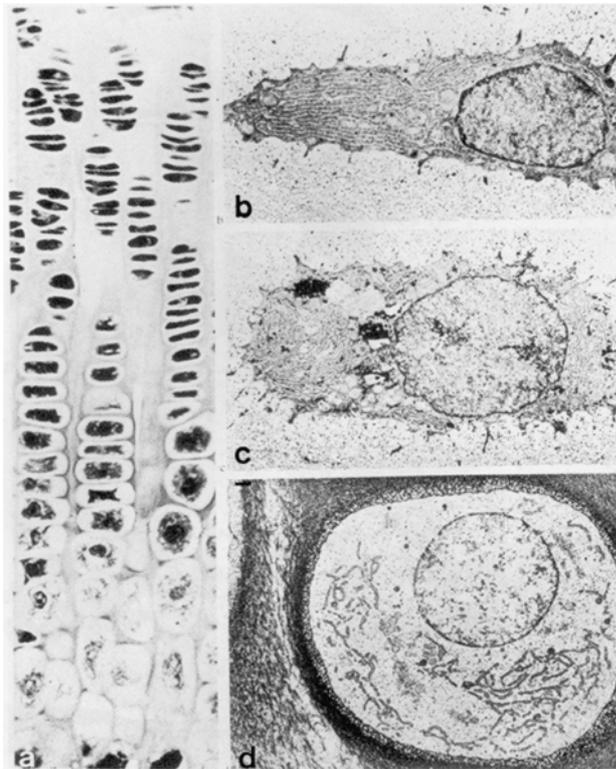


Abb. 10 Verschiedene Zelltypen im Wachstumsknorpel der Rattentibia [Wasmer, 1987]

a) Lichtmikroskopische Übersicht zur Orientierung über die Lage der nebenstehenden Zellen.

b) Säulenknorpelzelle mit dominanten endoplasmatischen Retikulum (9000 x).

c) Zelle aus der Säulenmitte mit Glykogenanreicherung (schwarze Granula) und prominentem Golgi-Feld (links vom Zellkern) (7500 x).

d) Zelle der hypertrophen Region. Kontrastierung der perilakunären Proteoglykanhülle mit Rutheniumrot (5000 x)

Es läuft ein Reifungsprozess ab. Der untere Abschnitt der Proliferationszone wird auch als Zone der reifenden proliferierenden Knorpelzellen (Reifungszone) bezeichnet. Charakteristisch für die Reifungszone ist die Abnahme der Mitoseaktivität bei konstanter Produktion von Extrazellulärmatrix [Tillmann, 2003].

Das endoplasmatische Retikulum spielt im Zusammenhang mit der Synthese von Kollagen und Proteinen der Proteoglykane in den Chondrozyten des Säulenknorpels eine bedeutende Rolle. Es ist in dieser Zone granuliert und stark entwickelt.

Ihr Anteil nimmt in dieser Zone von oben bis unten zu [Brighton, 1987].

Parallel verlaufende Membranen, zu Zisternen erweitert, sind gelegentlich sackartig aufgetrieben. Sie bilden ein zusammenhängendes System und charakterisieren das endoplasmatische Retikulum (Abb. 10, 11). Relativ kleine Mitochondrien besetzen die rundlichen Buchten. Der stark ausgeprägte Golgi-Apparat ist an der Glykosaminoglykanproduktion beteiligt, worauf nach Wasmer der Einbau von markierten Substanzen (^3H -Glukose, ^{35}S) hinweist.

Das Markierungsmaximum des radioaktiven Schwefels befindet sich deutlich in der Säulenmitte [Wasmer, 1987]. Besonders dort kommt es auch zu einer lebhaften

Proteoglykansynthese und einem vermehrten Glykogenabbau. Bei hormonell bedingten Störungen (z.B. durch Somatotropin) ist die Hypertrophie des Golgi-Apparates die Folge.

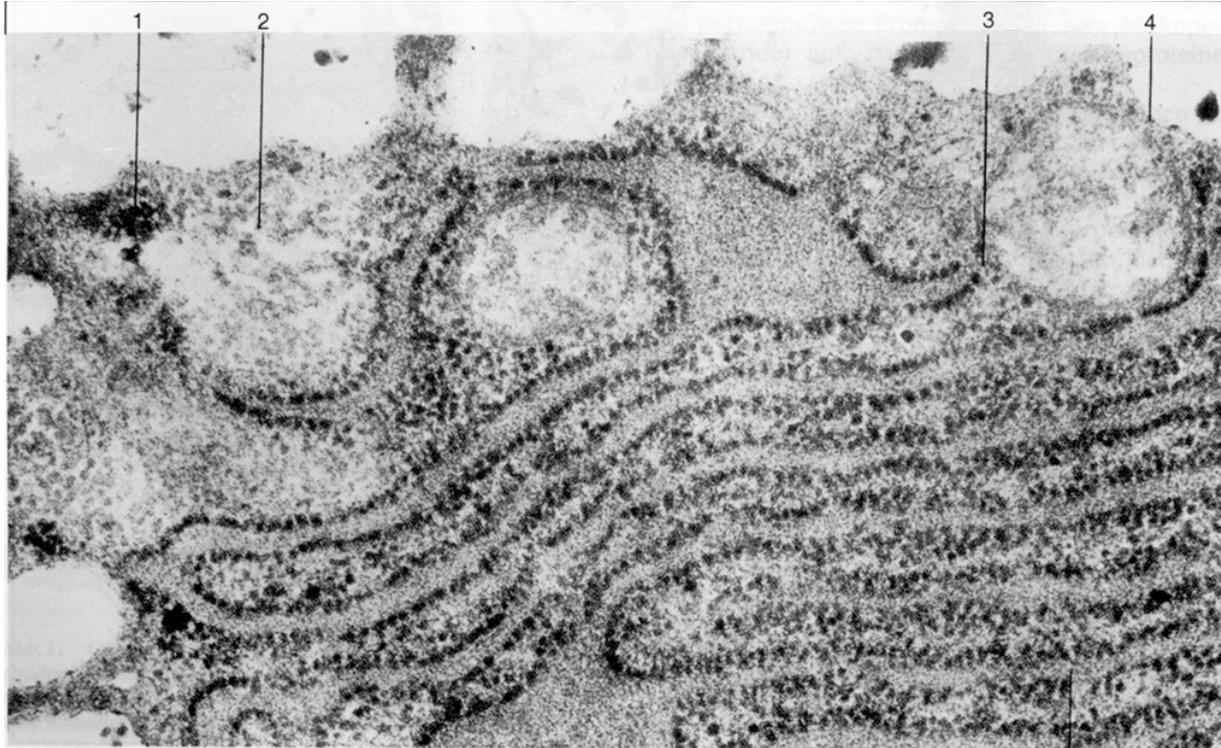


Abb. 11 Säulenknorpelzelle am Übergang zum Knochenkern (Ratte, 38 000 x) [Wasmer, 1987]. Auffallend ist, das parallel geordnete endoplasmatische Retikulum. Eine zisternenartige Erweiterung geht in einen doppelwandigen Vesikel über (3). Dieser hat eine Öffnung zum Plasmalemm (4). 1, 2 = unterschiedlich kontrastierte Kohlenhydratgranula.

Die Matrix enthält willkürlich im Raum verteilte Kollagenfibrillen, sowie Matrixvesikel, die auf die longitudinalen Septen begrenzt sind. *Brighton* folgert, dass Matrixsynthese und Zellproliferation die Funktion dieser Zone sind.

Biochemische Tests in diesem Teil der Epiphysenfuge weisen den größten Anteil an Hexosamin, inorganischen Phosphat, Natriumchlorid und Kalium auf, außerdem ist in dieser Zone der größte Anteil an ^{35}S und die größte Lysozym-Aktivität zu finden [Brighton, 1987]. Nach *Brighton* sind die Chondrozyten in der Zone des Säulenknorpels mit einigen wenigen Ausnahmen die einzigen Knorpelzellen, die sich teilen. Er schließt daraus, dass die oberste Zelle jeder Zellsäule die eigentliche "Mutterzelle" und die Zone des Säulenknorpels als ursprüngliche Germinativzone zu betrachten ist.

Die Matrixsyntheseleistung der Knorpelzellen ist nicht zu unterschätzen. In der interzellulären Matrix treten nach *Wasmer* als Makromoleküle im Wesentlichen Kollagen und polyanionische Proteoglykane auf, daneben Strukturproteine und Elastin*.

*Zur Nomenklatur vgl. *Deutzmann*: Der alten Bezeichnung „Mucopolysaccharide“ entspricht im physiologischen Milieu die der „Glykosaminoglykane“. Diese kommen in den Geweben im Wesentlichen nur kovalent an Proteine gebunden als Proteoglykane vor.

Nach *Hunziker* befinden sich im interfibrillären Raum hohe Konzentrationen an verschiedenen Proteoglykanen, wie Aggrekan, Biglykan, Dekorin, Fibromodulin und möglicherweise auch Lumikan, sowie Wasser und Elektrolyte. Auch nicht-kollagene Proteine, die ursprünglich in anderen Geweben nachgewiesen wurden sind vorhanden, wie Cartilage Matrix Protein, Thrombospondin, COMP, Fibronectin, Tenaskin, Osteonektin und Matrix Gla Protein (MGP), ein Inhibitor der Mineralisation, der bevorzugt in der Proliferations- und in der tiefen hypertrophen Zone vorkommt [Ballock, 2003].

Aggrekan ist das Hauptproteoglykan der Knorpelmatrix und sorgt für osmotischen Widerstand um Kompressionskräften entgegen zuwirken. Es verdankt seinen Namen der Eigenschaft, dass es fähig ist nicht kovalent mit Hyaluronsäure große Aggregate zu bilden. Das sog. Link-Protein dient dabei als Bindeglied, zwischen beiden Molekülen [Roughley, 1994]. Dekorin umgibt die Kollagenfibrillen und spielt eine Rolle in der Regulierung der Fibrillogenese. COMP ist ein kalziumbindendes Glykoprotein, das zur Thrombospondin-Familie gehört. Es besteht aus fünf flexiblen Armen, an dessen Enden sich jeweils eine große globuläre Domäne befindet [Ballock, 2003].

Ekman et al. untersuchten das Vorkommen von COMP in Schweineepiphysen und entdeckten ein erhöhtes Vorkommen in der Proliferationszone. Sie gehen davon aus, dass dieses Molekül als Marker für eine normale Differenzierung in proliferierende Chondrozyten darstellt. Mutationen führen beim Menschen zu Minderwuchs und chronischen Gelenkentzündungen (Osteoarthritis) [Drenckhahn, 2003].

Die umgebende Matrix beeinflusst das Wachstum und die Entwicklung der Knorpelzelle über Zelloberflächenproteine, besonders Integrine [Häusler et al., 2002]. Fibronectin ist dabei als Adhäsionsmolekül beteiligt [Drenckhahn, 2003].

Das Kollagen hat Faserstruktur, elektronenmikroskopisch ist es aus kleinen Untereinheiten, den Mikrofibrillen, aufgebaut (Abb. 12) [Wasmer, 1987].

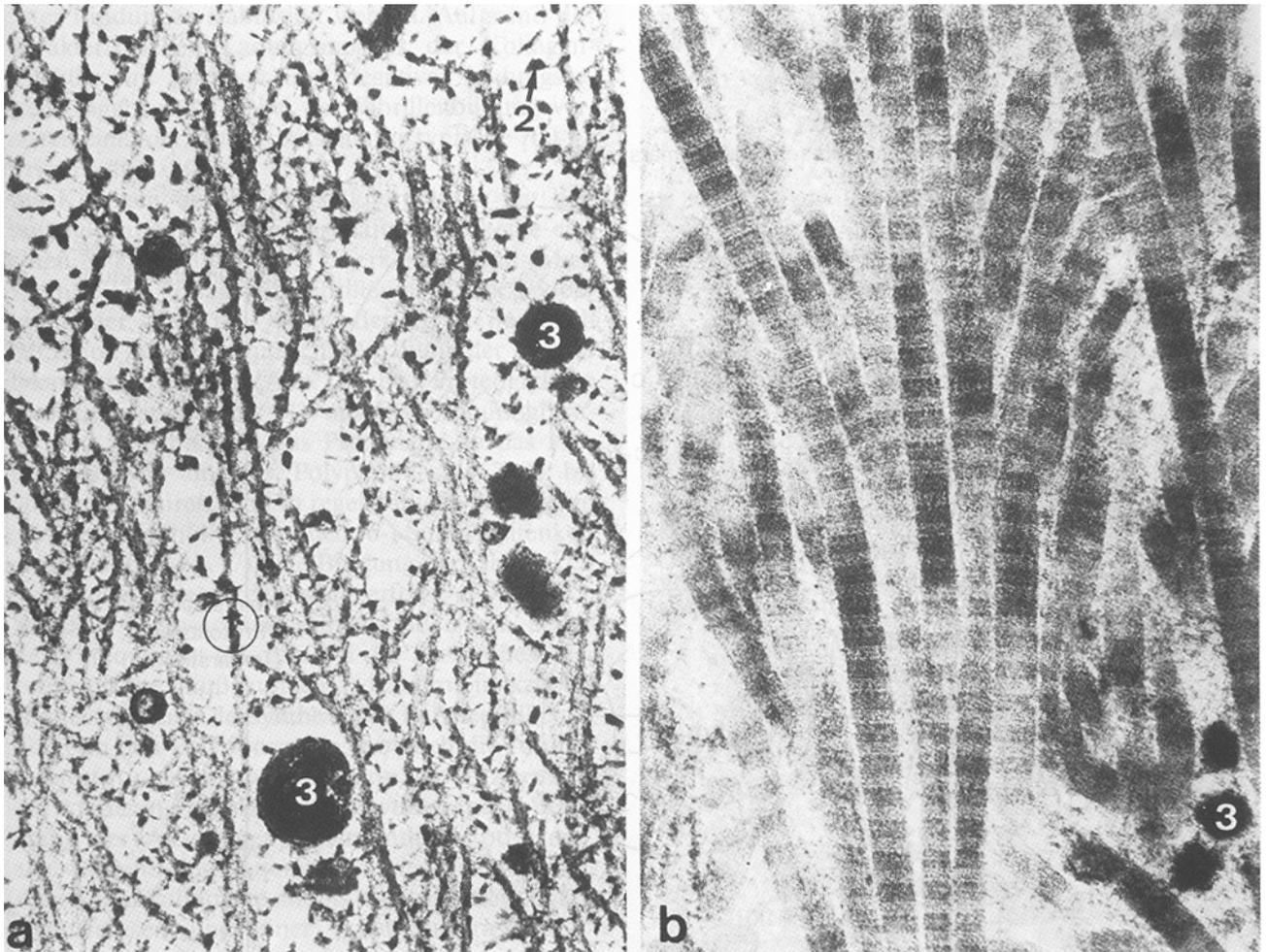


Abb. 12 Vergleich der knorpeligen und knöchernen Interzellularsubstanz (70 000 x) [Wasmer, 1987].
a) Knorpelige Matrix der Rattentibia. Feine kollagene Fibrillen (1) (Typ-II-Kollagen) ohne erkennbare Periodik. Sie sind teilweise mit Proteoglykanen assoziiert, die ein interfibrilläres Netzwerk bilden (2). Einzelne Matrixvesikel (3) (vgl. Mineralisation).
b) Osteoidsaum aus menschlicher Beckenkammbiopsie. Kräftige Typ-I-Kollagenfibrillen mit 64-nm-Periodik, wenig interfibrilläre Grundsubstanz. – Das Verhältnis zwischen Kollagen und Proteoglykan beträgt – bezogen auf das Trockengewicht der organischen Matrix – beim Knorpel 60 % zu 40 %, beim Knochen 95 % zu 5 %.

Betrachtet man Kollagenfasern unterschiedlicher Herkunft im Elektronenmikroskop, lässt sich in allen Fällen ein Aufbau aus quergestreift erscheinenden Mikrofibrillen mit einer Periodizität von 67 nm erkennen, jedoch ist die Anordnung und die Dicke der Mikrofibrillen in verschiedenen Geweben recht unterschiedlich [Deutzmann, 2003].

Ein Kollagenmolekül besteht aus 3 als Tropokollagene oder α -Ketten benannten Polypeptidketten, die in helikaler Form umeinander gewunden sind. Unterschiedliche $\alpha 1$ - und $\alpha 2$ -Ketten bestimmen dabei die Primärstruktur und damit den Kollagentyp.

Das Typ I Kollagen ist aus 2 gleichen $\alpha 1(I)$ - und 1 $\alpha 2(I)$ -Kette verzwirrt und Bestandteil von Haut, Sehnen, Knochen und Dentin. 3 identische $\alpha 1(II)$ -Ketten bilden das Typ II Kollagen des Knorpels. Typ III Kollagen entsteht aus 3 gleichen $\alpha 1(III)$ -Ketten und ist als retikuläre Faser

in Haut, Muskeln und Blutgefäßen zu finden. Basalmembrantypisch tritt das Typ IV Kollagen in Erscheinung; es wird aus 2 gleichen $\alpha 1(\text{IV})$ - und 1 $\alpha 2(\text{IV})$ -Kette zusammen gefügt [Doenecke, 2005].

Die linksgewundenen Polypeptidschrauben (Sekundärstruktur) der 3 α -Ketten sind wie bei einem Tau umeinandergedreht. Diese Verdrillung der rechtsgewundenen Dreierschrauben (Proteofibrillen) wird als Tripelhelix bezeichnet (Tertiärstruktur). Die Kollagenfibrillen (Quartärstruktur) entstehen durch Aggregation der Proteofibrillen [Wasmer, 1987] (Abb. 13).

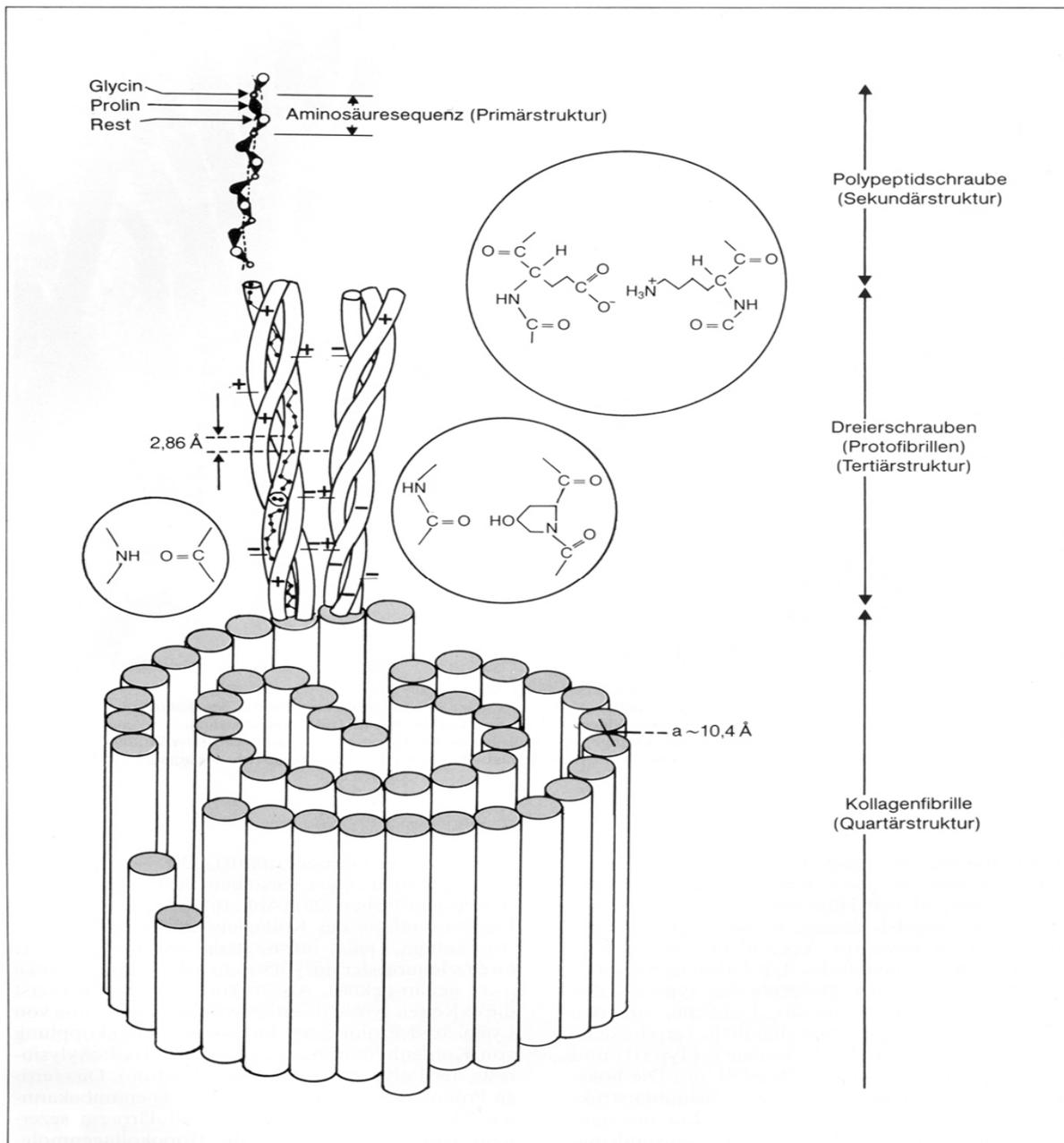


Abb. 13 Primär, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur des Kollagens [Wasmer, 1987].

Die Biosynthese des Kollagens findet teils intra-, teils extrazellulär statt.

Deutzmann beschreibt die Kollagenbiosynthese wie folgt:

Die Kollagenketten werden am rauen endoplasmatischen Retikulum (RER) gebildet und nach Abspaltung der Prä-Sequenz ins Lumen des RER transportiert. Dort erfolgt die Hydroxylierung von Lysin- und Prolinresten und es kommt größten Teils zur Anknüpfung von Disacchariden aus Galaktose und Glukose an einzelne Hydroxylysinreste der Polypeptidkette (Glykolysation). Zusätzlich werden intramolekulare Disulfidbrücken gebildet, am C-Propeptid zusätzlich N-glykosidisch gebundene Zucker angehängt und anschließend drei Polypeptidketten zum Prokollagenmolekül zusammen gefügt. Die anknüpfende Fibrillenbildung aus den fertigen Prokollagenen erfolgt im Extrazellulärraum, in extrazellulären Kompartimenten. Diese entstehen aus tiefen Zelleinbuchtungen. Sekretorische Vakuolen aus Prokollagenen lagern sich lateral aneinander, fusionieren miteinander und mit der Zellmembran, so dass lange, enge Kanäle entstehen, in denen die Fibrillenbildung abläuft. Im Extrazellulärraum werden die synthetisierten Fibrillen durch Ausbildung kovalenter Bindungen stabilisiert.

Typ II Kollagen [Tillmann, 2003; Häusler et al., 2002 Keene et al., Vornehm et al., 1996; 1995; Hunziker, 1994] und Typ IV Kollagen [Häusler et al., 2002] sind in allen Zonen des Epiphysenknorpels anzutreffen.

Typ X Kollagen dagegen ist ein charakteristisches Protein der hypertrophen Zone [Häusler et al., 2002] ist auf den unteren Teil begrenzt [Vornehm et al., 1996] und wird eng mit dem Mineralisationsprozess in Verbindung gebracht [Tillmann, 1996]. Das reichlich vorkommende Typ IX Kollagen vermittelt nach *Ballock und O'Keefe* die Interaktion zwischen Typ II Kollagen und Bestandteilen der extrazellulären Matrix. Es umgibt die Oberfläche von Typ II Kollagen, mit dem es kovalent gebunden ist [Ballock, 2003].

Die Kollagenfibrillen in der Wachstumsplatte sind innerhalb der interkolumnären Septen vorzugsweise longitudinal, in den interzellulären Septen und in der Zone des ruhenden Knorpels transversal ausgerichtet. Im Perichondrium ziehen die Fibrillen zirkulär und longitudinal [Tillmann, 2003].

Die Maskierung des Kollagens, bedingt durch die Proteoglykane, lässt keine einzelnen Mikrofibrillen mehr erkennen.

Die kollagenen Fibrillen sind hier bedeutend feiner und die Querbänderung ist nur nach Extraktion oder enzymatischer Abspaltung der Proteoglykane nachweisbar (Abb. 13) [Wasmer, 1987].

Proteoglykane sind durch kovalent mit dem Proteingerüst verknüpfte Glykosaminoglykan-Seitenketten definiert. Diese stellen nichtverzweigte Polymere aus repetitiven Disaccharideinheiten dar. Diese Glykosaminoglykan-Seitenketten, die im Golgi-Apparat angeheftet und modifiziert werden, können Größen von mehreren 10 kDa besitzen und so die Eigenschaften des Proteins bestimmen [Deutzmann, 2003].

Die Proteoglykane bestehen zu 80 bis 94 % aus Glykosaminoglykanen und zu 6 bis 20 % aus Proteinen. An das Proteingerüst, ein lineares Polypeptid aus 2000 bis 3000 Aminosäuren, sind in regelmäßigen Abständen je 2 Chondroitin-4- (oder auch -6-) Sulfat-Seitenketten geknüpft (Abb. 14). Die Bindung der Glykanketten an das Akzeptorprotein erfolgt glykosidisch über eine Oligosaccharidsequenz an einem Serin- oder Threoninrest [Wasmer, 1987].

Bei der Biosynthese der Proteoglykane muss zunächst der Proteinakzeptor gebildet werden. Die Synthese der Polypeptidketten erfolgt an den Polyribosomen, wo auch die Aminosäurereste (u. a. Threonin und Serin) modifiziert werden. An deren Hydroxylgruppe werden nach Beendigung der Akzeptorproteinsynthese (oder evtl. auch während des Kettenwachstums) die einzelnen Zucker- und Sulfatreste mittels 6 spezifischer Glykosyltransferasen und eine Sulfotransferase in 7 enzymatischen Schritten stufenweise gebunden (Abb. 15) [Wasmer, 1987].

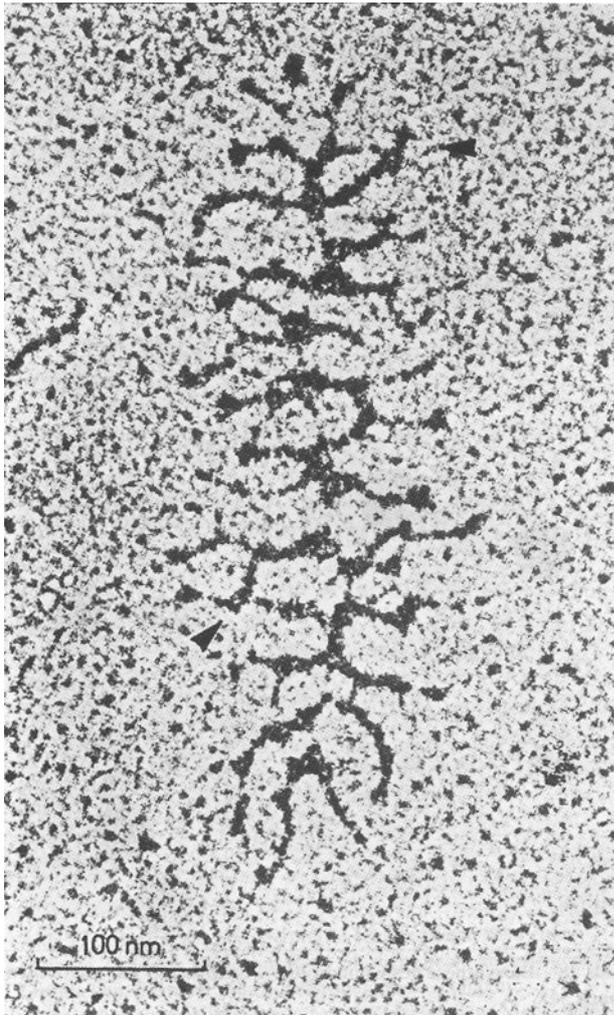


Abb. 14 Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Proteoglykans (Rinderknorpel 270 000 x). Das lineare Polypeptid bildet in der Längsachse des Moleküls das Proteingerüst. In regelmäßigen Abständen sind die Chondroitin-Sulfat-Seitenketten zu erkennen [[Wasmer, 1987]

Die Biosynthese findet im Golgi-Apparat, im endoplasmatischen Retikulum und im Hyaloplasma statt. Dazu werden aktiviertes Sulfat (als Vorstufe der Zucker), D-Glukose sowie Aminosäuren benötigt. Es scheint einen unmittelbaren Kontakt zwischen Ribosomen und Glykogengranula zu geben. Ihre Enzyme befinden sich in endoplasmatischen Retikulum und im Golgi-Apparat [Wasmer, 1987]. Im Golgi-Apparat werden auch die Glykosaminoglykanketten der Proteoglykane synthetisiert [Löffler, 2003].

Nach *Wasmer* wird vermutet, dass die Polymerisation und Sulfatierung der Proteoglykane in den Vakuolen des Golgi-Komplexes statt findet. Vesikel sollen Proteine vom endoplasmatischen Retikulum und anderen Orten zum Golgi-Feld transportieren und dort mit polysaccharidhaltigen Vakuolen verschmelzen. Nach Kettenverlängerung und Sulfatierung könnte dann eine Extrusion der Proteoglykane in den extrazellulären Raum stattfinden. Dieser Transportmechanismus wird aber auch in Frage gestellt. *Wasmer* spricht von einer Kernbildung, der Kombination von Protein und Polysaccharid, und dem Molekülwachstum. Der Molekülkern entsteht dabei in der sterischen Zuordnung von Ribosomen und

Glykogenpolymeren unter Mitwirkung der benachbarten Membranen und hyaloplasmatischen Bezirke. Nach der Extrusion erfolgt eine Aggregation der sog. Untereinheiten zum Makromolekül.

Die molekulare Beschaffenheit der Proteoglykane befähigt sie große Mengen an Wasser aufzunehmen und mit Hilfe ihrer Polyanionenstruktur Kationen (Na^+ , K^+ , Ca^{++}) zubinden.

Durch die Verzahnung dieser Makromoleküle und die Wechselwirkung mit den Kollagenfibrillen stellen sie eine Permeabilitätsbarriere dar und regulieren den extrazellulären Stofftransport [Löffler, 2003].

Im Interzellularräum bilden die Proteoglykanmoleküle ein dreidimensionales Netzwerk, das die Maschen des relativ groben Netzes der Kollagenfasern ausfüllt, wobei Schlingen von Polysaccharidketten die Fibrillen umfassen können [Wasmer, 1987].

Nach *Byers* et al. sind Chondroitin-4-Sulfat, Chondroitin-6-Sulfat und Keratan-Sulfat in allen Zonen des Epiphysenknorpels immunhistochemisch nachzuweisen.

Deutzmann beschreibt das Aggrekanmolekül als das Hauptproteoglykan des Knorpels: Das Core-Protein hat eine Größe von etwa 250 kDa. N- und C-Terminus werden von globulären Domänen gebildet, während der Mittelteil eine elongierte Struktur besitzt, die mit etwa 30 Keratansulfat- und ungefähr 100 Chondroitinsulfat-Seitenketten substituiert ist, so dass das komplette Protein eine Molekülmasse von etwa 3 MDa besitzt und natürlich eine hohe Konzentration an Ladungen aufweist. Es bildet im Knorpel riesige Aggregate mit Hyaluronsäure. Elektronenmikroskopisch erkennt man die Hyaluronsäure, als zentrales Molekül, an das in regelmäßigen Abständen Aggrekan-Moleküle gebunden sind, die mit ihren Kohlenhydratketten nach außen abstehen. Die nichtkovalente Bindung wird durch die N-terminale globuläre Domäne des Aggrekans vermittelt und durch ein kleines Protein, das so genannte Link Protein stabilisiert.

Neben der Produktion von Interzellulärschubstanz und Glykogen ist die Zellteilung lebhaft. Es bestehen Unterschiede in den Zellteilungsraten der Zellen innerhalb des Säulenknorpels.

Mehrere Autoren gehen davon aus, dass Säulenknorpelzellen in die hypertrophe Zone abwandern.

Es wurde jedoch nie eine Wanderung von Zellen durch die Epiphyse beobachtet, erst in der Eröffnungszone schlüpft der Chondrozyt aus seiner Höhle [Wasmer, 1987]. Es findet vielmehr eine Art Metamorphose statt. Indem eine Zelle die Gestalt der Zelle der nächsten Region annimmt resultiert eine Verschiebung der Regionengrenzen. Dieser

Wachstumsrichtung folgt die Eröffnungszone und gleitet über die Zellen, die in der Metaphyse eintreten, hinweg. Die Eröffnungszone entfernt sich schrittweise von der Diaphyse, die Tochterzellen werden durch die sich teilenden Zellen immer weiter gelenkwärts verschoben und das Längenwachstum wird durch das Auseinanderweichen der Epiphysen vorangetrieben. Es findet also keine Wanderung sondern eine Umwandlung, bzw. Metamorphose derjenigen Zellen statt, die die gleitenden Kompartimente charakterisieren.

Durch eine Veränderung der Relation von Mitose- und Umwandlungsgeschwindigkeit kommt es zu einer Umgestaltung der Regionen. Sind die Zellen mitotisch aktiv, verdickt sich die Epiphyse, verringert sich die Mitoserate (z.B. im Alter), werden die Säulen kleiner und der Epiphysenknorpel wird dünner. Nach *Wasmer* ändert sich die Zahl der proliferierenden Zellen während des Wachstumsschubs wahrscheinlich nicht. Die gesteigerte Wachstumsrate beruht eher auf einer schnellen Teilung der proliferierenden Zellen.

Nach *Wasmer* sind 3 Parameter für die Rate des Längenwachstums verantwortlich: die Dicke der Fuge, die Zellteilungsrate und der Umfang der Matrixsynthese während der Proliferation und Hypertrophierung. Das Wachstum der Epiphysenfuge ist mehr durch die Zellteilungsrate in der Proliferationszone, als durch die Zahl der proliferierenden Zellen beeinflusst.

Die Zellteilungsrate, die Auslösung der Reifung und die Einstellung der Teilungen setzen einen differenzierten Regulationsmechanismus voraus, der von verschiedenen Wachstumsfaktoren/ -hormonen, endokrin und parakrin/autokrin gesteuert wird [Sävendahl, 2005]. Das Wachstumshormon stimuliert die Zellproliferation und indirekt die Matrixsynthese der Chondrozyten (Sulfateinbau durch Somatomedine). Thyroxin wirkt ebenfalls wachstumsfördernd [Wasmer, 1987]. So kommt es bei Epiphysenknorpeln an hypothyreoten Ratten zu einer abnormalen Matrix, die reich an Heparansulfat ist. Es kann kein Typ X Kollagen gebildet werden und der Hypertrophierungsprozess der Knorpelzellen kommt zum stehen [Stevens et al., 2000]. ACTH und Kortikosteroide hemmen Zellproliferation und Matrixsynthese [Wasmer, 1987].

Schrier et al. entdeckten in tierexperimentellen Studien, dass Glucokortikoide die Alterung der Epiphysenfuge bremsen, in dem sie die Proliferation von Knorpelzellen in der Reservezone drosseln. Östrogene sollen das Gegenteil bewirken.

Androgene und Östrogene sind im Zusammenhang mit anderen Hormonen an der Steuerung des epiphysären Wachstums und an der späteren Verknöcherung der Epiphysenfuge beteiligt [Wasmer, 1987].

6. Die hypertrophe Zone

Wasmer teilt die hypertrophe Zone in 3 Bereiche ein: proximal die Zone der Hypertrophierung, eine mittlere Zone der vollen Hypertrophie und distal die Zone der Mineralisation*.

* Die Nomenklatur der morphologischen und funktionellen Äquivalente dieser Zone ist vielfältig. Für die hypertrophen Zellen werden auch die Termini Riesenzellen, grobblasiger Knorpel und Blasenknorpel sowie ödematöse Zelle gebraucht. In der Literatur finden sich die Begriffe der Reifung und der Degeneration. Die distale Zone der Mineralisation oder der provisorischen Verkalkung wird vielfach als eigene Zone unterschieden; auch die Grenzziehung zwischen epiphysärem und metaphysärem Abschnitt der Epiphysenfuge ist nicht einheitlich [Wasmer, 1987].

Ab der Proliferationszone steigt der Durchmesser der flachen Chondrozyten zunehmend. Die Knorpelzellen beginnen sich auszudehnen und leiten die Hypertrophie ein: Der Zelllängsdurchmesser erreicht den queren und übersteigt ihn sogar.

Das Zellvolumen wächst auf das fünf bis zwölfwache, ihre gesamte territoriale extrazelluläre Matrix erreicht das Dreifache. Die zuvor dicht beieinander liegenden Zellorganellen erfahren eine Auflockerung (Abb. 16), ihre Menge nimmt im Vergleich zum Zellvolumen ab [Wasmer, 1987].

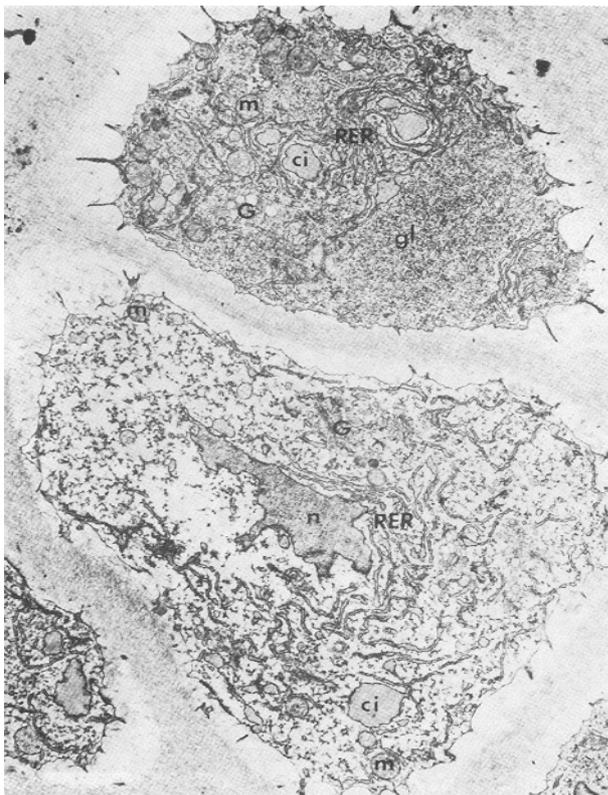


Abb. 15 Beginn der Hypertrophie: Oben erkennt man eine typische Zelle des Säulenknorpels mit dicht beieinander liegenden Organellen, darunter eine hypertrophierende Zelle mit aufgelockerten, voneinander getrennten Organellen (Maus, 4800 x) [Wasmer, 1987]. RER = raues endoplasmatisches Retikulum; n = Nukleus; ci = erweiterte Zisterne; G = Golgi-Feld; gl = Glykogen; m = Mitochondrium.

Dabei ist man sich noch nicht einig ob die Volumenzunahme auf einer Zunahme an „Material“ oder ausschließlich auf einer Flüssigkeitszunahme beruht.

Robertson und *Ballock/O`Keefe* sprechen von einer steigenden Anzahl an Zellorganellen, vor allem die Menge an Mitochondrien und endoplasmatisches Retikulum nehmen zu. *Hunziker* berichtet, dass die hypertrophe Transformation durchaus aktiv vollzogen wird, wobei die Zellen intensiv Wasser und Elektrolyte aufnehmen. Die Anzahl ihrer Zellorganellen übersteigt das der Proliferationszone um einiges. Einzig und allein die Anzahl an Lipid- und Glykogenpartikel vermindert sich.

Ribosomen erscheinen in Form von Feldern oder sind frei im Hyaloplasma zu beobachten. Häufiger sind sie in Verbindung mit den Membranen des endoplasmatischen Retikulums zu finden.

Nach *Ballock* und *O`Keefe* spielt die Vergrößerung der Chondrozyten eine wichtige Rolle im Längenwachstum des Skeletts. Für sie ist die Höhenzunahme der hypertrophen Chondrozyten für 44%-59% der Knochenverlängerung verantwortlich und spielt damit eine wichtige Rolle im Längenwachstum des Skeletts. Auch für *Noonan* et al. spielt beim Längenwachstum der Knochen die Zellvergrößerung im Gegensatz zur Matrixvermehrung eine größere Rolle. Auch der perizelluläre Matrixzuwachs ist entscheidender daran beteiligt als der interterritoriale.

Aus seinen Beobachtungen folgert *Brighton*, dass die hypertrophe Zone die Matrix für die bevorstehende Mineralisation vorbereitet.

Nach *Wasmer* werden in der hypertrophen Region 2 Zelltypen unterschieden: Zellen mit sackartig erweiterten Zisternen und solche mit lakunenartigen Erweiterungen. Beim ersten Zelltyp vergrößern sich die sackartigen Zisternen des endoplasmatischen Retikulums mit fortschreitender Hypertrophie und verdrängen in der Zone der beginnenden Mineralisation das Zytoplasma gelegentlich auf inselartige Bezirke (Abb. 17). Die Hypertrophie dieser Zellform ist mit einer steigenden Kohlenhydratspeicherung verbunden. Der zweite Zelltyp tritt vermehrt vor der Eröffnungszone auf. Diese Zellen mit lakunenartigen Zisternenerweiterungen produzieren vermutlich proteinreiche Polysaccharide, sog. Glykoproteine, die an der Kalzifikation beteiligt sein sollen (Abb. 18, 19) [Wasmer, 1987].

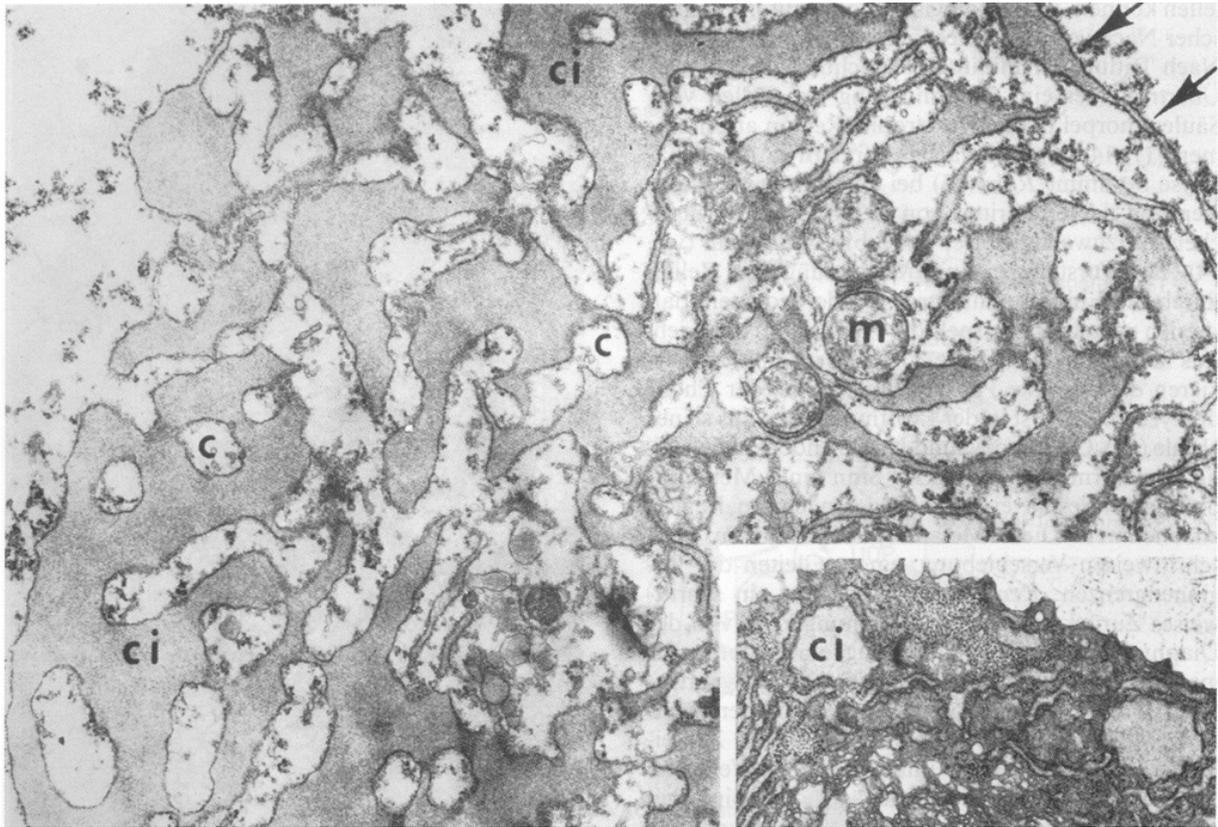


Abb. 16 Raues endoplasmatisches Retikulum während der frühen Hypertrophie (Maus 9400 x) [Wasmer, 1987]. Die Zisternen sind aufgefüllt. Viele erweiterte Zisternen (ci) sind verschmolzen und formen große Zisternen mit eingelagerten Inseln des Grundzytoplasmas (c). Die Elektronendichte des Zisterneninhalts entspricht der der Säulenknorpelzellen (vgl. Inlay).

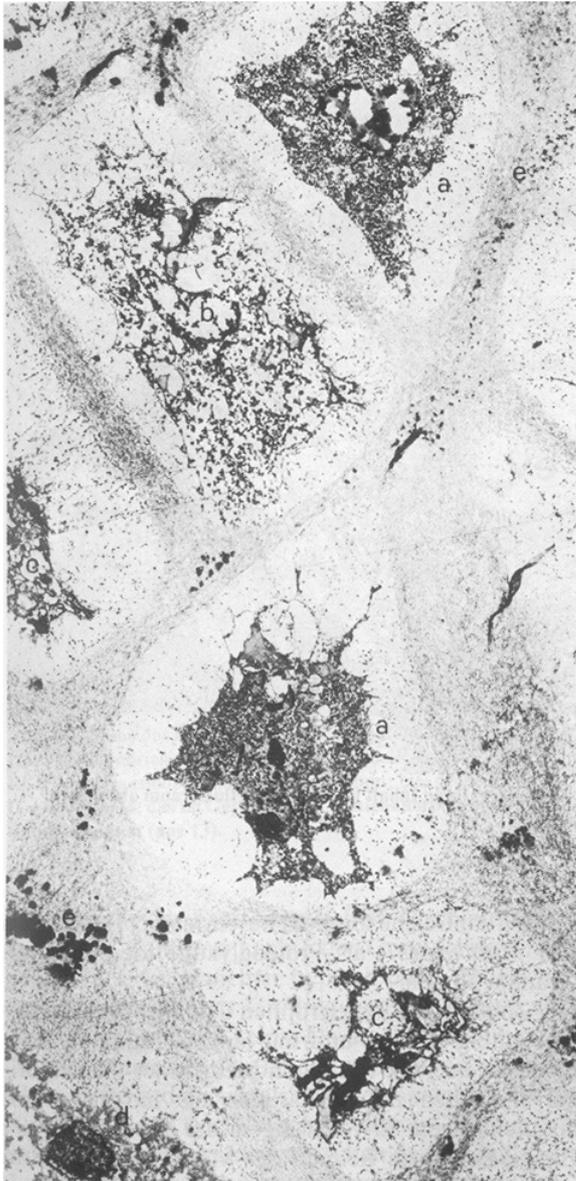


Abb. 17 Distale Hypertrophe Region (Rinderfetus 7800 x). Übergang zur Eröffnungszone [Wasmer, 1987]. a = Kohlenhydratreiche Zellen mit blasigen Zisternenerweiterungen; b = kohlenhydratarme Zelle (Fixierungsverlust); c = lakunenartige Erweiterung der Zisternen in Zellen unmittelbar vor der Eröffnung; d = Eröffnungsfront; e = Mineralien.

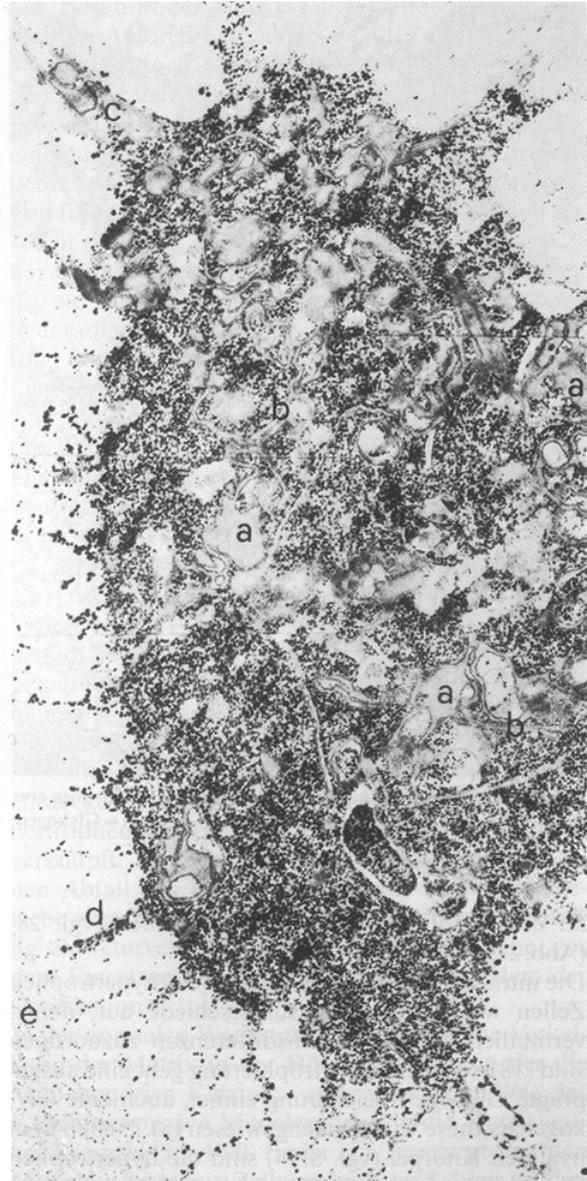


Abb. 18 Hypertrophe Zellen mit umfangreicher Kohlenhydrateinlagerung (Rinderfetus, 10 100 x) [Wasmer, 1987]. a = Sackförmige Zisternenerweiterung; b = Retikulumanteil; c = Zellfortsatz mit Retikulumteilen; d = Zellfortsatz, begleitet von Perizellulärsubstanz; e = Zellfuß

Die intrazellulären Kohlenhydrate der hypertrophen Zellen weisen Verteilungsunterschiede auf, denen vermutlich auch Funktionsdifferenzen zuzuordnen sind [Wasmer, 1987]. Die Hypertrophierung ist mit einer ausgeprägten Glykogenspeicherung vergesellschaftet. Die hypertrophen Chondrozyten speichern neben dem hyalinen Knorpel am meisten Glykogen, dabei ist Glykogen reichlich in der oberen Hälfte der Zone vorhanden, vermindert sich in der Mitte bis es schließlich am Ende der Zone verschwunden ist [Brighton, 1987]. Man nimmt an, dass in der Mitte des hypertrophen Knorpels neben Glykogen vermutlich niedermolekulare Proteoglykanvorstufen vorhanden sind. Sie enthalten vermutlich eine Art Glykoprotein [Wasmer, 1987].

Die hypertrophe Zone besitzt von allen Zonen den größten Anteil an alkalischer Phosphatase, saurer Phosphatase, Glucose-6-Dehydrogenase, Laktatdehydrogenase, Glycerol-Phosphat-Dehydrogenase und Phosphoglucoisomerase, sowie gesamtes Phosphat, inorganisches Phosphat, Kalzium, Magnesium und Lipide. Sie enthält den geringsten Anteil an Hydroxyprolin und Hexosamin [Brighton, 1987].

Im Vergleich zur Proliferationszone ist der Golgi-Apparat in den hypertrophen Zellen geringer ausgeprägt. Es sind Membranen und mehrere kleine Vesikel zu sehen. Von den dicht aneinander geordneten Vakuolen, sind einige erweitert und scheinen ihren Inhalt nach extrazellulär zu entleeren (Abb. 20), wo auch zahlreiche Granula erkennbar sind. Ein unregelmäßig gelappter Zellkern mit langen plumpen Ausläufern charakterisiert die hypertrophen Knorpelzellen.

Mitochondrien findet man häufiger in Zellen mit sackartiger als in denen mit lakunenartigen Erweiterungen der Zisternen. Einige Zellen im Bereich der Matrixmineralisation enthalten Mitochondrien, die elektronendichte Granula (50 bis 100 nm Durchmesser) akkumulieren (Abb. 24) [Wasmer, 1987].

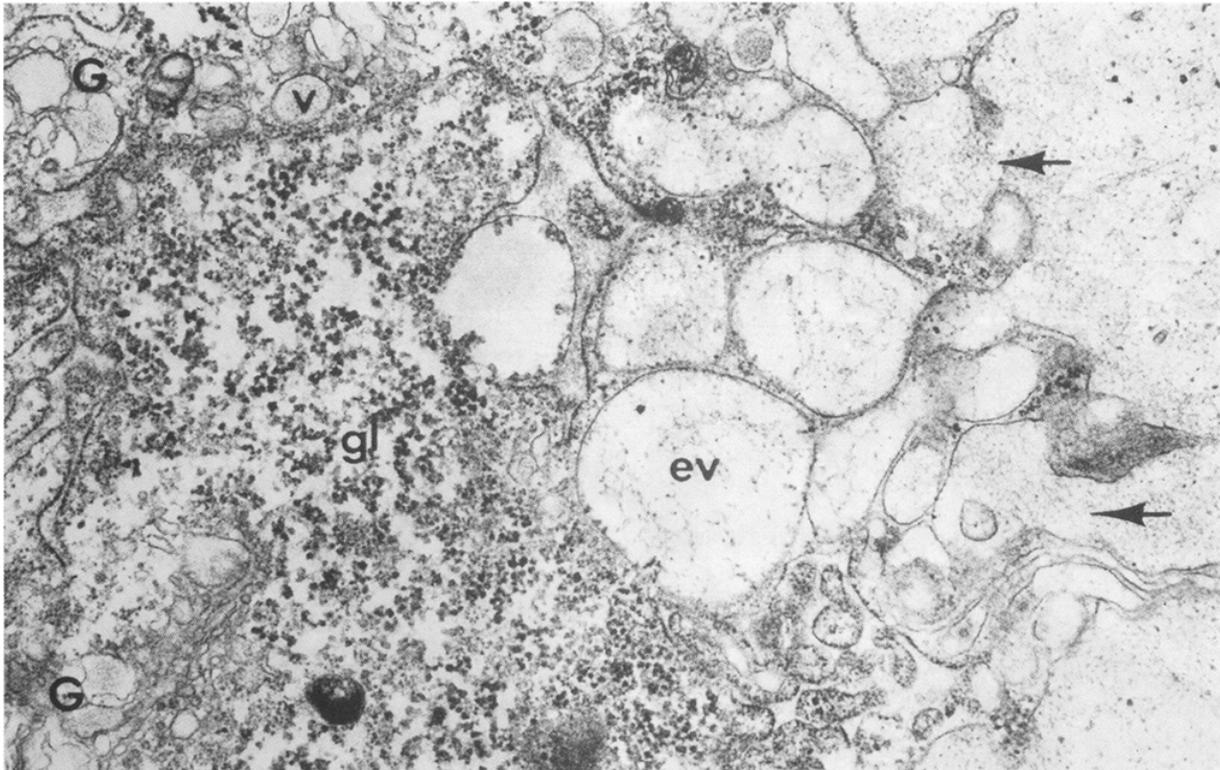


Abb. 19 Im Bereich der beginnenden Mineralisation scheinen erweiterte Vakuolen (ev) ihren Inhalt in der Extrazellulärraum abzugeben (Pfeile) (Maus, 18 500 x) [Wasmer, 1987]. G = Golgi-Feld; gl = Glykogen; v = Vakuole.

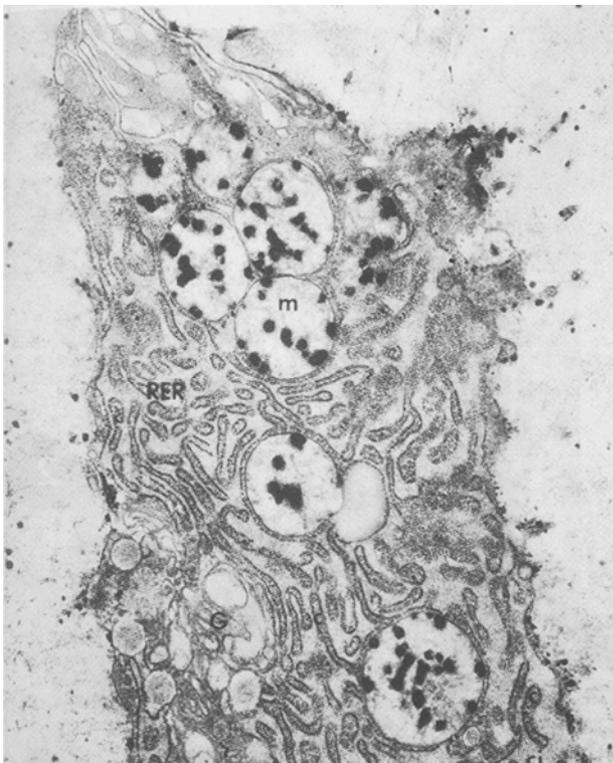


Abb. 20 Zone der beginnenden Mineralisation (Maus, 20 000 x) [Wasmer, 1987]. Die Mitochondrien (m) enthalten elektronendichte Granula. RER = raues endoplasmatisches Retikulum; ci = große Zisterne; G = Golgi-Feld, das im Gegensatz zur Säulenknorpelzelle nur wenig Raum einnimmt.

Ihre Anzahl und Größe nimmt in der Mineralisationszone ab. Sie enthalten Kalzium und Phosphat und sind wahrscheinlich den - von vielen Autoren beschriebenen - Matrixvesikel gleichzusetzen, die die Mineralisation einleiten.

Nach *Brighton* verlieren die Mitochondrien Kalzium gegen Mitte der Zone, am Ende ist kein Kalzium mehr in Mitochondrien und Zellmembran zu finden. Er geht davon aus, dass Mitochondrien der Epiphysenfuge für den Kalziumtransport spezialisiert sind. Ein weiterer interessanter Aspekt ist, dass in den Chondrozyten keine zytoplasmatische Glycerol-Phosphat-Dehydrogenase vorkommt. Ein Enzym das den Glycerol-Phosphat-Shuttle aufrechterhält um letztendlich über NADH, Äquivalente zu reduzieren, die die intramitochondriale Atmungskette vorantreiben. Er teilt den Mitochondrien eine besondere Funktion zu und schließt daraus, dass diese Umstände möglicherweise mit der Mineralisation zu tun haben.

Nach *Wasmer* wurden garnulahlartige Mitochondrien jedoch auch über die ganze hypertrophe Zone verteilt gefunden, wovon viele auch in den letzten hypertrophen Zellen der Mineralisationszone vorkommen, deren Knorpelhöhlen kurz vor der Eröffnung stehen. Ein Unterschied an Größe, Zahl und Dichte der Granula wird nicht beobachtet. Sie könnten zusätzlich mit der Mineralisation in der Metaphyse zusammenhängen.

Der Mineralisationsprozess ist durch die Anwesenheit verschiedener Moleküle gekennzeichnet. Das Auftreten von Matrixvesikel (Anderson 1995), den Glykoproteinen, Chondrocalcin und Osteopontin [McKee et al., 1992] und auch die Produktion von Kollagen Typ X sowie die Disaggregation von Proteoglykanen [Hunziker, 1994], stehen in engem Zusammenhang mit der Mineralisation.

Die 100 bis 150 nm großen Matrixvesikel sind von einer einschichtigen Membranbilayer umgeben, die den Vesikelinhalt einschließt. Sie sind hauptsächlich in der hypertrophen Zone zu finden [Brighton, 1987] und enthalten von Chondrozyten abstammende Zellmoleküle, die eine bemerkenswerte Mineralisierungstendenz aufweisen. Dazu gehören: kalziumbindende Phospholipide und Proteine, Annexine, die als Kalziumkanäle fungieren, Matrixvesikelphosphatasen, von denen der Prototyp die alkalische Phosphatase ist, die durch Hydrolyse von Phosphatester, Orthophosphat hervorbringt um die Mineralisation zu fördern. Carboanhydrase, zur Aufrechterhaltung des lokalen pH, Proteasen und Membranphospholipasen, die für den Untergang der Matrixvesikel verantwortlich sein sollen [Anderson, 1995], sowie Metalloproteinasen [Ballock, 2003].

In der Mitte der Zone, auf gleicher Höhe, wo die Mitochondrien beginnen Kalzium zu verlieren beginnt eine Anreicherung in den Matrixvesikeln [Brighton, 1987].

Die Mineralisation wird nicht nur mit dem Auftreten von Matrixvesikeln beschrieben.

Nach *Brighton* gibt es einen Zusammenhang zwischen Kollagenstruktur und Apatitausfällung. Es wurden rosettenartige Proteoglykane in den longitudinalen Septen der unteren Region identifiziert. Laut *Brighton* ist ihre Rolle während der Mineralisation jedoch nicht klar. Möglicherweise könnten sie dem Proteoglykan Aggrekan entsprechen.

Chondrocalcin, ein kalziumbindendes Protein, wurde in den longitudinalen Septen entdeckt, das exakt die Gegend besetzte, wo amorphe Kristalle zu finden waren. Da Chondrocalcin eine starke Affinität zu Hydroxylapatit besitzt, geht man davon aus, dass dieses Molekül möglicherweise einen weiteren Initiator der Mineralisation darstellt [Brighton, 1987]. Osteocalcin ist ein Inhibitor der Mineralisation und wird in Anwesenheit von Calcitriol vermehrt gebildet. Matrix-Gla-Protein (MGP) besitzt ähnliche Eigenschaften und wird vermehrt vom hypertrophen Knorpel exprimiert [Drenckhahn, 2003].

Nach *Newman* et al. werden koordinierte MGP-Levels für die Knorpelzelldifferenzierung und die Matrixmineralisation benötigt. Ein Überschuss an MGP führt zu einer verminderten Mineralisierung [Newman et al., 2001].

Auch das Auftreten von Proteoglykanen könnte mit der Mineralisation zusammenhängen. Es wird diskutiert, dass große Proteoglykan-Aggregate, mit eng bestückten Untereinheiten möglicherweise die Mineralisation verhindern, wohingegen kleinere Aggregate mit größerem Abstand zwischen den Untereinheiten am Boden der hypertrophen Zone dies weniger effektiv tun können. Lysozym, lysosomale Enzyme und neurale Protease könnten eine Rolle in der Zerlegung der großen Proteoglykan Aggregate spielen. Es scheint offensichtlich, dass eine Zerlegung statt finden muss bevor die Mineralisierung beginnt [Brighton, 1987].

Buckwalter und *Rosenberg* gehen davon aus, dass aggregierte Proteoglykane die Mineralisation unterdrücken, sodass vor Beginn der Mineralisation eine Trennung der Aggregate vollzogen werden muss. Es kommt zu einem Abfall der aggregierten und zu einer erhöhten Anzahl Proteoglykan-Monomere, und zwar soll nur noch ein viertel der aggregierten Proteoglykane in der hypertrophen Zone vorhanden sein.

Auch ihre Größe verändert sich, sie sollen nur noch halb so groß sein wie die der Proliferationszone. Es kommt zu einer Verkürzung der aggregierten Proteoglykane und zu einer verminderten Anzahl an Aggregat-Untereinheiten in der Matrix, wobei sich der Abstand zwischen den Untereinheiten gleichzeitig vergrößert [Brighton, 1987].

Bevor die Knorpelmatrix in der hypertrophen Zone mineralisiert, werden die Proteoglykanaggregate kleiner und der Anteil an aggregierten Monomeren sinkt [Buckwalter et al., 1987].

Entgegen der ursprünglichen Meinung der Anteil der aggregierten Proteoglykane würde in der hypertrophen Zone sinken, behaupten *Ballock* und *O'Keefe*, dass zu Beginn der Mineralisation eine Vermehrung aggregierter Proteoglykane zu beobachten ist. Es scheint jedoch, dass es während der Reifung zu Änderungen im Gehalt der Proteoglykanmonomere, ihrem Sulfatanteil und ihrer Größe kommt.

Bei Untersuchungen an der Vogel-Epiphysenfuge konnten *Farquharson* et al. in der frühen Phase der Knorpelzellenreifung bei unveränderter Glykosaminoglykan-Konzentration, einen Abfall der sulfatierten Glykosaminoglykanen feststellen. Auch *Byers* et al. entdeckten ein unterschiedliches Auftreten des Sulfatierungs-Musters der Chondroitin Sulfat Seitenketten des Aggregatmoleküls in der Hypertrophen Zone an Vogelepiphysen. Die nicht-sulfatierten Ketten sind dabei vermehrt vertreten und könnten möglicherweise eine Rolle im Beginn der Mineralisation kennzeichnen.

Ebenso konnte die mRNA und das Protein des Proteoglykans, Biglykan nur in den hypertrophen Chondrozyten und ihrer umgebenden Matrix aber nicht in anderen Regionen der Epiphysenfuge identifiziert werden, was auf einen Zusammenhang zwischen diesem Molekül und dem Mineralisationsprozess hinweisen könnte [Ballock, 2003]. *Alini* et al. konnten an ihren Untersuchungen an Rinderfeten einen Anstieg aggregierter Proteoglykane in der hypertrophen Zone feststellen, der zu Beginn der Mineralisation ein Maximum erreicht.

Nach *Ballock* und *O'Keefe* erfolgt die Mineralisation hauptsächlich zwischen den Säulen, innerhalb der longitudinalen Septen, der hypertrophen Chondrozyten und wird durch das Auftreten von Matrixvesikel eingeleitet, dabei scheint das Zusammenkommen der Vesikel von einer Gruppe von Kalzium-Kanälen, den Annexinen, abhängig zu sein. Typ II- und Typ X Kollagen verbinden sich mit den Matrixvesikel und fördern die Aktivität der Annexin-V Kalzium-Kanäle. Folglich könnte eine Aufgabe des Typ X Kollagen sein, die Kalziumablagerung in der hypertrophen Zone zu erleichtern. Die Anreicherung von Typ X Kollagen in der hypertrophen Zone konnte von mehreren Autoren bestätigt werden [Shen, 2005; Kirsch et al., 1992; Reichenberger et al., 1991]. Auch *Kirsch* et al. entdeckten ein erhöhtes Vorkommen an Typ X Kollagen in der hypertrophen Zone bevor die Mineralisation

stattfindet. *Kirsch* et al. konnten beweisen, dass Typ X Kollagen Kalzium dosisabhängig bindet.

Nach *Anderson* erfolgt die Entstehung der Matrixvesikel durch Vesikelabtrennung und „Budding“ von bestimmten Stellen der äußeren Plasmamembran der Chondrozyten (Abb. 22).

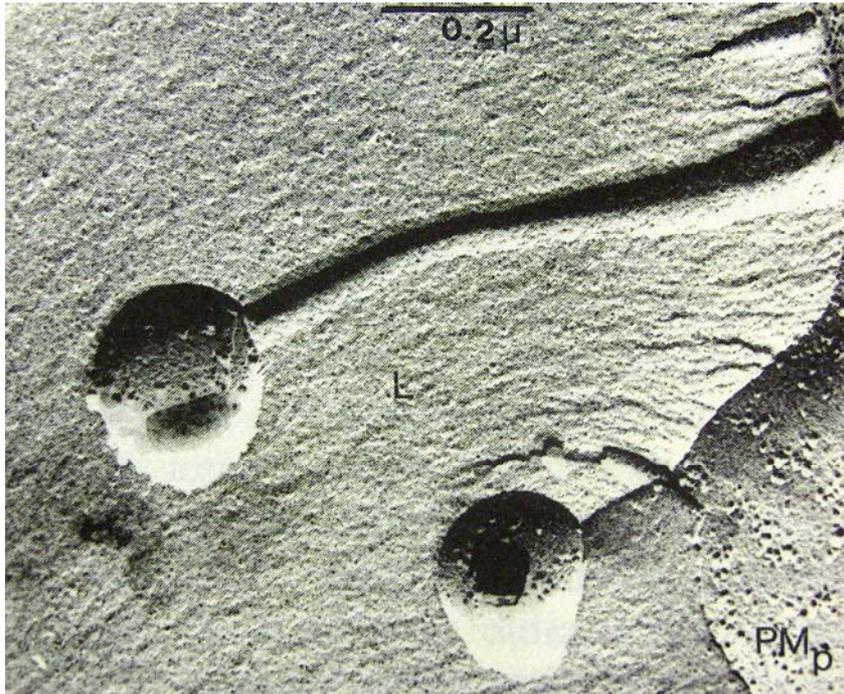


Abb. 21 Vesikel entstehen durch „Budding“ aus der Plasmamembran der hypertrophen Chondrozyten [Anderson, 1995].

Dort gehen sie eine Bindung mit Kollagen X und II ein [Shen, 2005]. Während ihrer Abtrennung enthalten sie noch keine Mineralkristalle. Diese treten erst einige Zeit danach als nadelartige Strukturen in Erscheinung und perforieren die Vesikelmembran [Anderson, 1995]. Mit Einsetzen der Mineralisation kommt es zur Apatit ausfällung nahe der Vesikeln. Die Kristalle weisen eine nadelartige Struktur auf und bestehen aus Hydroxylapatit (Abb. 23).

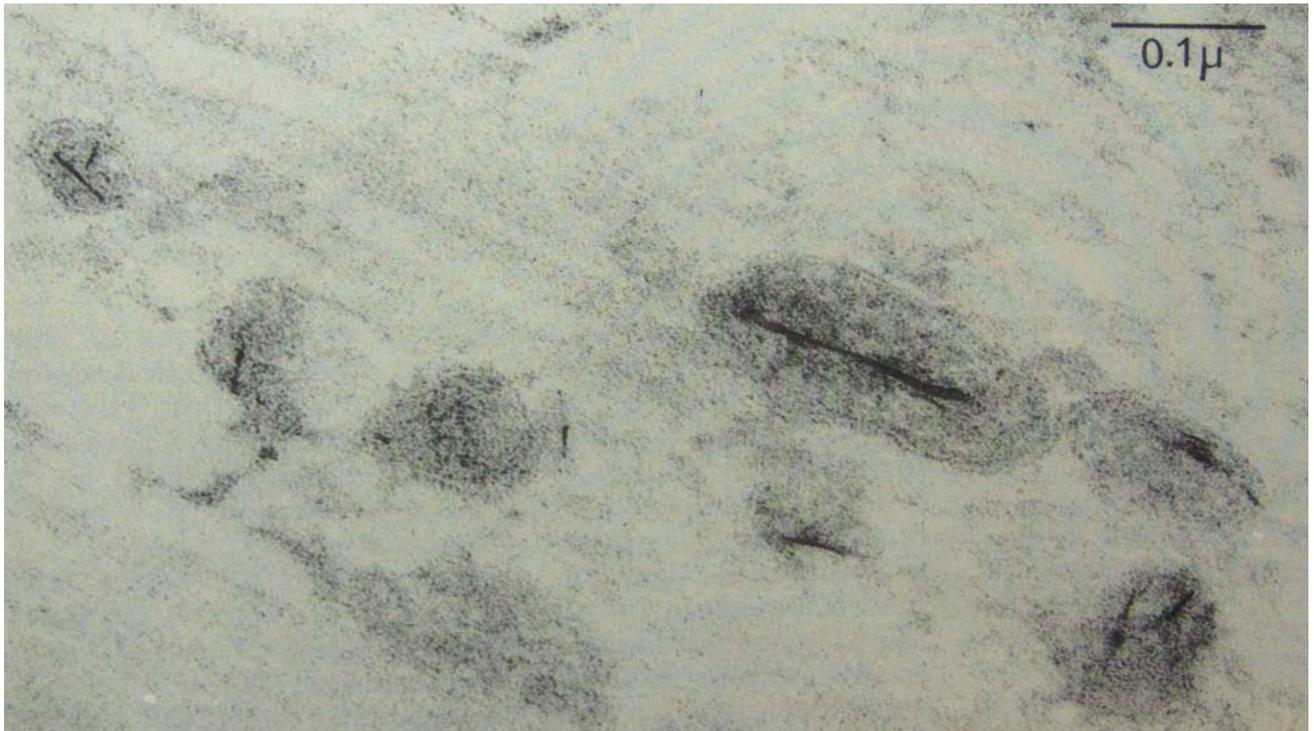


Abb. 22 Matrixvesikel mit einem nadelförmigen Apatitkristall in der Knochenmatrix eines 7-Tage alten Hühnerfemurs. Zu sehen sind der trilamelläre Aufbau, sowie die charakteristischen elektronendichten Bestandteile der Matrixvesikel [Anderson, 1989].

In der Peripherie sind sie radiär, im Zentrum sind regellos eingestellt. Das Wachstum schreitet konzentrisch fort ohne dass es wie beim Knochen zu einer Verbindung zwischen Kollagenfibrillen und Kristallen kommt.

Die am distalen Ende der hypertrophen Zone beginnende Mineralablagerung (Abb. 24) findet ganz überwiegend in den interkolumnären Längssepten statt [Tillmann, 2003, Anderson 1995], die queren Transversalsepten bleiben weitgehend bzw. ganz unverkalkt, ebenso die perilakunäre Matrix (Abb. 29) [Wasmer, 1987]. Die Höhe des mineralisierten Teils der hypertrophen Zone wird mit 1 bis 4 Zellen angegeben [Wasmer, 1987].

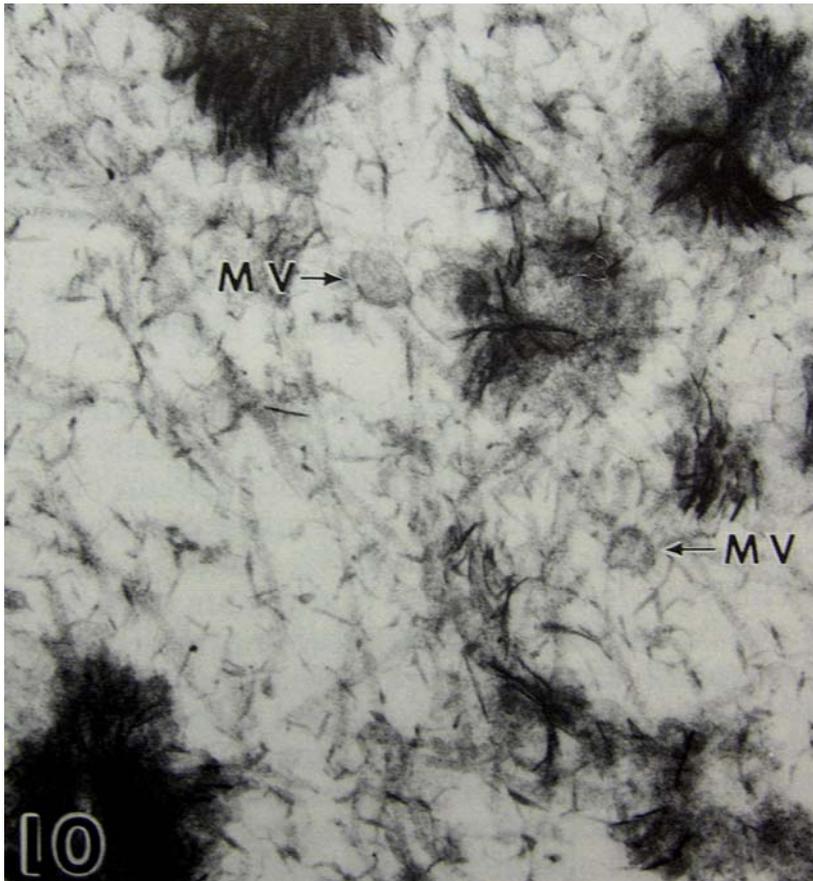


Abb. 23 Abgelagerte Mineralkristalle in der unteren hypertrophen Zone. (MV) = Matrixvesikel [Mitchel, 1990]

Nach *Tillmann* liegt die Bedeutung der Mineralisierung des Knorpelgewebes in der Bereitstellung einer „Leitlinie“ für die einsprossenden Gefäße sowie in deren Schutz vor mechanischen Einwirkungen. Die mineralisierten Septen der Extrazellulärmatrix dienen ferner dem neu gebildeten Knochen als Gerüst. Sie bilden den Kern der primären Spongiosabälkchen [Tillmann, 2003].

Der Weg des Kalziums von den Mitochondrien in die Matrixvesikel ist ungeklärt. Evtl. findet ein Transport von den Mitochondrien zur Zellmembran und dann zu den Vesikeln statt [Wasmer, 1987].

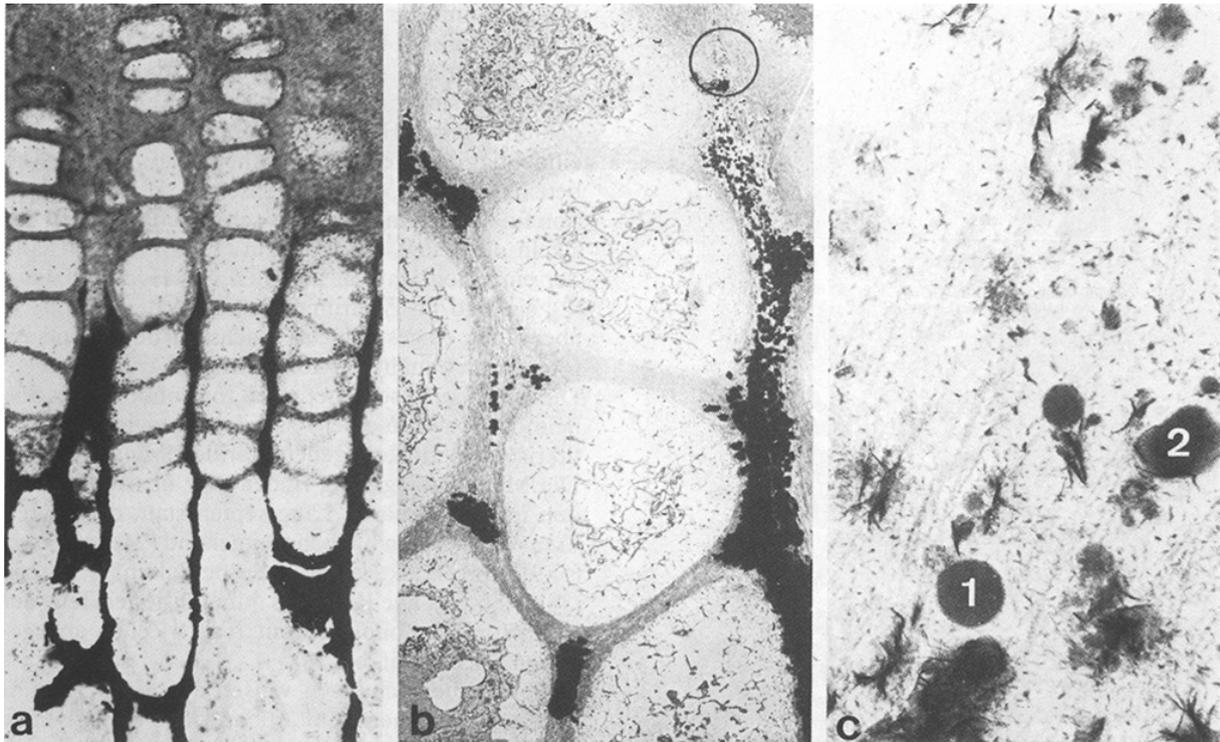


Abb. 24 Die Knorpelmineralisation [Wasmer, 1987].

a) Die Mineralisation ist auf die interkolumnären, longitudinalen Septen konzentriert (Von-Kossa-Reaktion) (500 x).

b) Elektronenmikroskopische Vergrößerung (1200 x) der Mineralisationszone.

c) Beginn der Verkalkungszone mit Matrixvesikel (1), an deren Membranhülle sich die ersten Apatitkristalle befinden (2) (3800 x).

In der Höhe, in der die Mitochondrien Kalzium verlieren, beginnt die Verkalkung. Als möglichen Mechanismus zur Freisetzung des Kalziums aus den Mitochondrien wird nach *Wasmer* die verminderte Sauerstoffspannung in der hypertrophen Zone aufgrund fehlender Blutversorgung vermutet. Zur Energiegewinnung wird deshalb das zuvor gespeicherte Glykogen anaerob abgebaut. Nachdem am Beginn der Mineralisationszone das Glykogen aufgebraucht ist, verlieren die Mitochondrien die energieabhängige Fähigkeit zur Speicherung und Retention und geben Kalzium an die Matrix ab.

Nach *Wasmer* besteht in der hypertrophen Zone der niedrigste Diffusionskoeffizient aller Zonen der Epiphyse. Es wurde ein direkter Zusammenhang mit der Kalzifikation der Knorpelmatrix hergestellt, wobei die Diffusion von Nährstoffen zu den Chondrozyten signifikant gehemmt wird. In der Abnahme der Diffusion mit zunehmender Mineralisierung der Matrix wird eine mögliche Ursache für den Tod der hypertrophen Chondrozyten in der Zone der Kalzifikation gesehen.

Nach *Brighton* kommt es zu einer umfangreichen Vakuolenbildung innerhalb der Chondrozyten je näher man zum Ende der hypertrophen Zone kommt, wobei er die Vakuolen mit „Löchern“ gleichsetzt, die gegen Ende über 85 % des gesamten zytoplasmatischen Raums, bis schließlich die Zellen nicht mehr lebensfähig zu sein scheinen. An der unteren Grenze jeder Zellsäule der hypertrophen Zone erscheinen die Lakunen leer und frei jeglicher zellulärer Bestandteile. Die letzte Zelle an der Basis jeder Zellsäule ist deutlich lebensunfähig und zeigt einen umfangreichen Zerfall der Zell- und Kernmembran, sowie einen Verlust aller zellulären Bestandteile mit Ausnahme einer weniger Mitochondrien und zerstreuter Überreste des endoplasmatischen Retikulums [Brighton, 1987].

Das Schicksal des hypertrophen Chondrozyten ist weitgehend ungeklärt. Die meisten Autoren gehen davon aus, dass die Zellen durch Apoptose zugrunde gehen. Kalzium- und Phosphationen spielen dabei als potente Apoptogene eine Rolle [Adams, 2002], wobei das aktuelle Reifungsstadium ausschlaggebend sein soll. Differenzierte Knorpelzellen reagieren sensibler auf steigende Phosphatlevels als undifferenzierte [Ballock, 2003].

Nach *Newman* et al. führt ein Überangebot an MGP in reifenden Chondrozyten zur Zellapoptose.

Andere vertreten die Meinung, es komme zu einer Umwandlung der Chondrozyten zu osteoblastenartigen Zellen, und zwar nur bei diesen Zellen, die sich an der Grenze zu Gewebe befinden, das von Knochen ausgeht [Bianco, 1998]. Nach seinen Betrachtungen über das Schicksal des hypertrophen Chondrozyten geht *Shapiro* sogar davon aus, dass hypertrophe Zellen durch Autophagie zugrunde gehen. Lokale Umstände sollen die Chondrozyten in ihrer Umgebung dazu bringen einen „überlebenden Phänotypen“ zu bilden indem sie ihre eigenen Strukturmoleküle oxidieren um ATP zu gewinnen. Im Verlauf zeigen die Zellen ultramikroskopische Merkmale, die denen autophagierender Zellen ähneln, wie Autophagosomen (autophagierende Vakuolen mit Doppelmembran) und Organellen, die für den Eigenabbau nötig sind (Abb. 26).

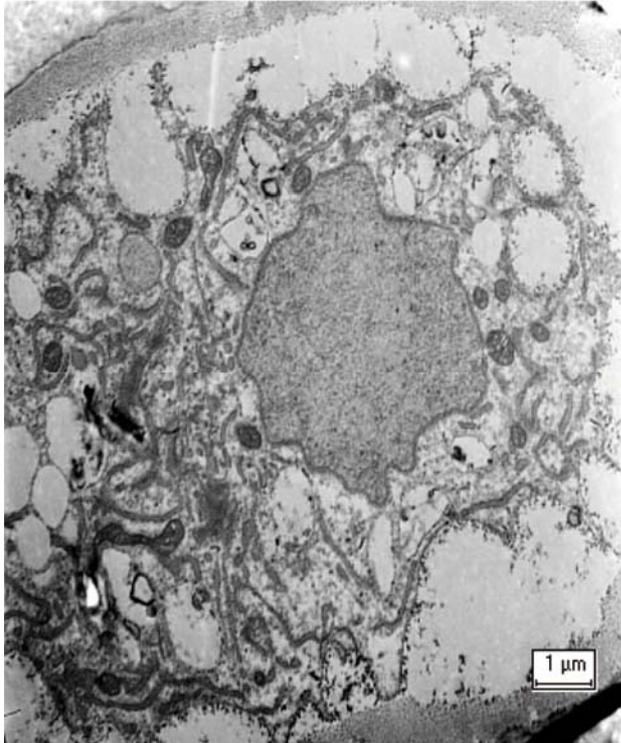


Abb. 25 Mikroskopischer Blick auf einen differenzierten Chondrozyten eines 6-Wochen alten proximalen Wachstumsknorpels aus dem Hühnerfemur. Zu sehen sind Vakuolen, eine verminderte Anzahl an Organellen, sowie Membranbruchstücke [Shapiro, 2005].

Ballock und *O'Keefe* behaupten, dass der Untergang der Knorpelzellen nicht wie ursprünglich gedacht, durch eine Verminderung an Nährstoffen und Sauerstoffkonzentration bedingt, passiv abläuft, sondern ein aktiver und regulierter Prozess ist. Der Apoptosevorgang soll dabei durch die Enzymfamilie der Caspasen ausgelöst werden, was dazu führt, dass die Zellen morphologische Merkmale einer Kondensation des Kernchromatins, der Zellschrumpfung und des „Plasmamembranblebbing“ aufweisen.

7. Eröffnung und Ossifikation

Nach *Tillmann* wird ein beträchtlicher Anteil der interterritorialen Extrazellulärmatrix von mehrkernigen Riesenzellen, den Chondroklasten abgebaut. Sie gehören wie die Osteoklasten zum monozytär-phagozytischen System. Durch ihre Tätigkeit wird die Anzahl der mineralisierten longitudinalen Septen auf etwa die Hälfte reduziert. Es wird Raum für den neu zu bildenden Knochen und das Gefäßnetz geschaffen. Der Abbau erfolgt synchron über die gesamte Breite der Epiphysenplatte.

Mit Eröffnung der Knorpelhöhlen entsteht die Eröffnungszone und die Metaphyse beginnt. Proliferierende Kapillarsprossen treten direkt unterhalb der letzten Reihe der hypertrophen Chondrozyten [Ballock, 2003] an die transversalen, nicht verkalkten Septen aus der Metaphyse heran (Abb. 27, 28). Sie sind an der Auflösung der Quersepten durch vermutlich lysosomale Enzyme [Brighton, 1987] und damit an der Eröffnung aktiv beteiligt sind. Die Kapillarkanäle ordnen sich entlang der longitudinalen Knochenachse und bestehen aus einem heranführenden und wegführenden Kapillarsystem [Ballock, 2003].

Langgestreckte Endothelzellen der Gefäßwand mit Fortsätzen, die in direktem Kontakt mit der organischen Interzellulärsubstanz der Querbalken stehen, oder aus dem Endothelverband gelöste Zellen scheinen die Knorpelhöhlen zu eröffnen und die knorpelige Interzellulärsubstanz zu durchbrechen [Wasmer, 1987]. Laut *Ballock* und *O'Keefe* gibt es Hinweise dafür, dass Endothelzellen möglicherweise auch die Differenzierung der hypertrophen Chondrozyten beeinflussen.

Nach *Wasmer* sind im Eröffnungsgebiet verschiedenartige Zellformen zu erkennen. Neben Zellen, die sich den Knorpellängsspannen anlegen, existieren 2 Formen „isolierter“ Zellen: Zellen als Glied einer morphologischen Reihe, beginnend mit den Zellen des mineralisierten Knorpels und endend mit denen der enchondralen Osteoblasten, und graue Zellen, die sich in den eröffneten Knorpelhöhlen den hypertrophen Chondrozyten anlagern und meist perivaskulär auftreten.

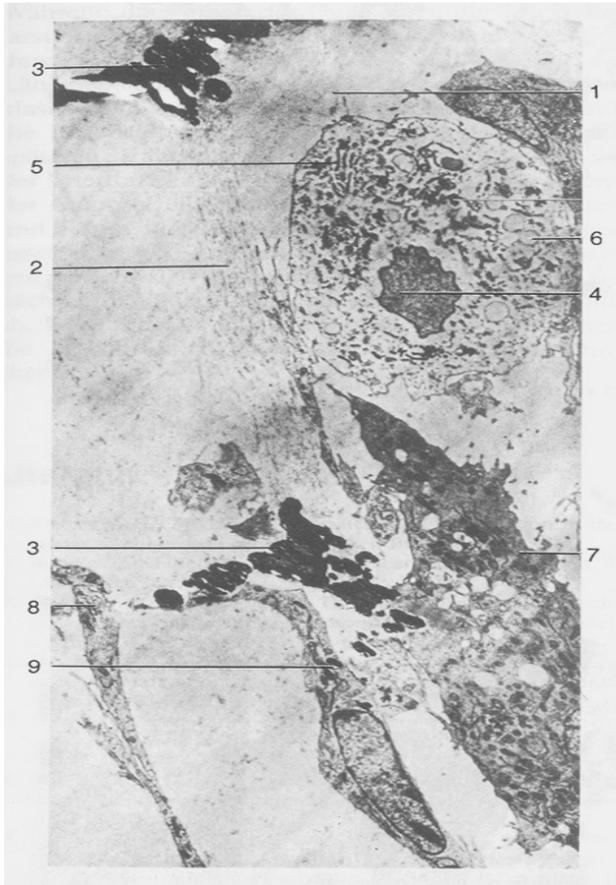


Abb. 26 Eröffnungszone (3500 x) [Wasmer, 1987]. 1 = Knorpelhöhle; 2 = Längsbalken aus organischer Interfibrillärsubstanz; 3 = Knorpelkalk; 4 = Chondrozytenkern; 5 = endoplasmatisches Retikulum; 6 = Vesikel (erweiterte Zisternen ?); 7 = graue Zellen; 8 = Endothelzelle, eine Querwand durchbrechend; 9 = Endothelzelle mit Kalkeinschlüssen

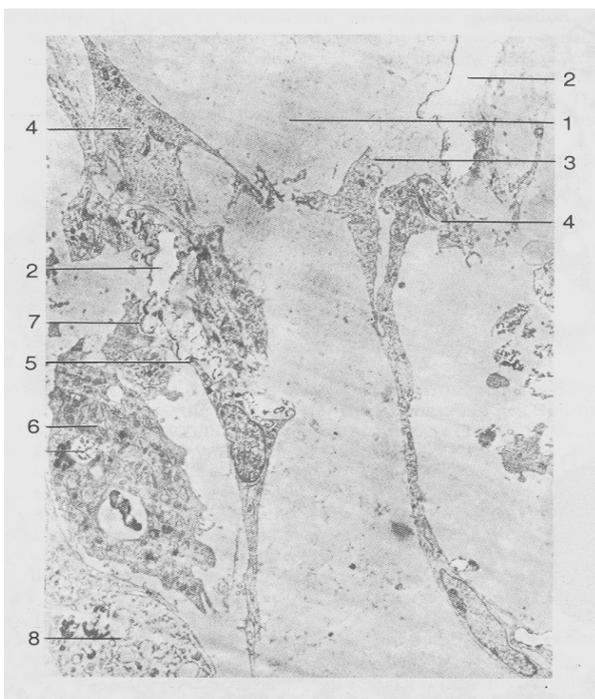


Abb. 27 Gefäßsprossen an Querwänden in der Eröffnungszone (3600 x) [Wasmer, 1987]. 1 = Knorpelhöhle; 2 = Längsbalken, Mineral herausgefallen; 3 = Interzellulärsubstanz mit einem Endothelzelle; 4 = aus dem Verband gelöste Endothelzellen; 5 = Endothelzelle in Verbindung mit Knorpelmineral; 6 = graue Zelle mit Vakuolen, Mitochondrien, wenig Membranen des endoplasmatischen Retikulums; 7 = Anlagerung der grauen Zelle an Knorpelmineralien; 8 = helle Zelle (im Zerfall ?).

Ähnliche Zellen sollen nach *Wasmer* aus dem Periost der Trichterregion stammen, die makrophagenartig, multiple, fingerförmige Fortsätze entwickeln und in den Markraum der Epiphyse einwandern. Dort nehmen die erhaltenen Fortsätze Kontakt mit der Spongiosa auf. Häufig liegen je eine graue und eine helle Zelle paarweise nebeneinander und nehmen über die Zellmembranen Kontakt miteinander auf (Abb. 29).

Nach *Brighton* kommt es entlang der mineralisierten Längssepten zu einer Aneinanderreihung von ovalförmigen, großen Osteoblasten mit exzentrisch gelegenem Zellkern, wobei zwischen den mineralisierten Balken und den Kapillarsprossen Osteoprogenitorzellen vorkommen, die über das metaphysäre Blutsystem einwandern [Milz, 2002]. Sie enthalten wenig Zytoplasma und einen ovalen spindelförmigen Zellkern [Brighton, 1987], sind reich an alkalischer Phosphatase und lassen sich auf fibroblastenähnliche Knochenstammzellen zurückführen [Milz, 2002]. Dieser Teil der Metaphyse mit geringer Knochenbildung entlang der mineralisierten Balken wird als primäre Spongiosa bezeichnet. Die Osteoblasten bilden Knochen und zwar umso mehr je weiter man diaphysenwärts der Metaphyse entlang vorstößt, bis sich die mineralisierten Balken verschmälern, schließlich verschwinden und zur sekundären Spongiosa werden. Der geflechtartige Knochen wird durch Lamellenknochen ersetzt. Der Umwandlungsprozess von mineralisierten longitudinalen Septen zu Geflechtknochen, als auch der allmähliche Austausch von Geflecht- zu Lamellenknochen wird als internes oder histologische „Remodeling“ bezeichnet [Brighton, 1987].

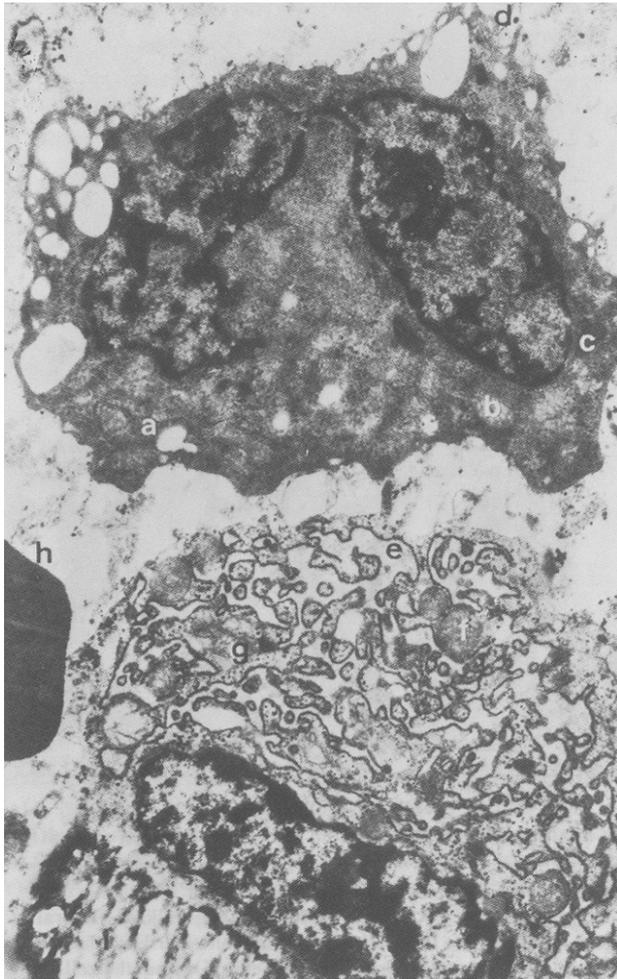


Abb. 28 Graue und helle Zelle in der Eröffnungszone (Rinderfetus 10 500 x) [Wasmer, 1987]. a = endoplasmatische Retikulum; b = Mitochondrium der grauen Zelle; c = lysosomaler Körper; d = Zellfortsätze; e = erweiterte Zisternen des endoplasmatischen Retikulums; f = Mitochondrien; g = Golgi-Feld; h = freier Erythrozyt in der Markhöhle; i = Knorpelmineralien.

Große, unregelmäßig geformte Osteoklasten mit schaumartigen, eosinophilen Zytoplasma verteilen sich über die gesamte Metaphyse, außer in der primären Spongiosa. Sie enthalten einen oder mehrere Nuclei und einige Nucleoli und kommen außerdem subperiostal, in den äußeren Bezirken der Metaphyse vor, wo der Durchmesser kleiner wird und Metaphyse auf Diaphyse trifft (externes oder anatomisches „Remodeling“) [Brighton, 1987].

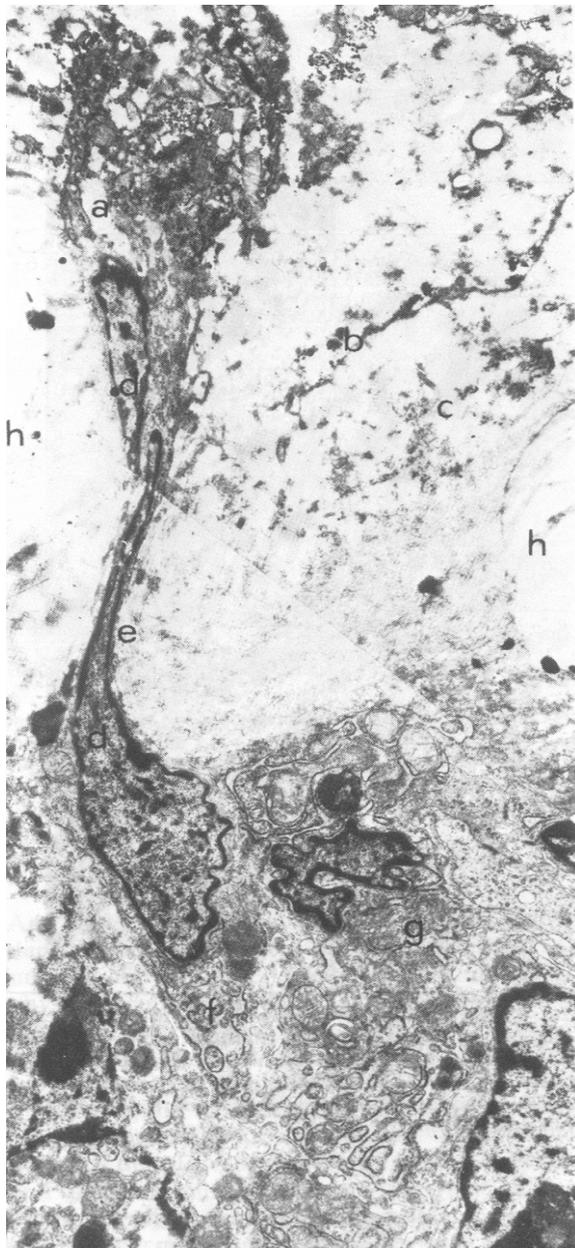
So teilt *Brighton* der Metaphyse 3 Funktionen zu: Die Gefäßinvasion in den transversalen Septen der unteren knorpelhaltigen Region, die Knochenbildung und schließlich das „Remodeling“.

Beim Entwicklungsprozess der Knorpelhöhlen ist man sich uneinig. Nach *Wasmer* geht man davon aus, dass neben dem Endothel der Kapillarwand an diesem Vorgang wahrscheinlich die Chondrozyten selbst beteiligt sind.

Für den Untergang der Chondrozyten selbst spricht eine Veränderung der Zellmorphologie mit Schrumpfung und Rupturen der Zellmembran und der Membransysteme innerhalb des Hyaloplasmas der zugrundegehenden Zellen unter Mitbeteiligung lysosomaler Enzyme.

Andererseits könnte diese Wandlung auch durch Artefakte hervorgerufen werden. Nach *Wasmer* besteht die Möglichkeit, dass die Chondrozyten selbst die Septen durchbrechen. Die Knorpelzelle „zwängt“ sich dabei durch einen engen Kanal des eröffneten Querseptums (Abb. 29), selten erfolgt dies auf breiter Front.

Ferner nimmt die Zellmetamorphose seinen Lauf. Chondrozyten wandeln sich in metaphysäre Osteoblasten, darauf folgt eine Regression der Eröffnungszone. Neben diesen transformierten Zellen treten auch Zellen in Erscheinung, die auf perivaskuläre Areale zurückzuführen sind, sodass eine Mischpopulation entsteht. Weitere Metaphysenzellen stammen vermutlich von Chondroklasten, dem Endothel und dem Periost der Tunnelregion ab. Ihre Herkunft ist jedoch ungeklärt.



**Abb. 29 Schlüpfende Knorpelzellen (Katze, Wirbelkörper, 11 200 x) [Wasmer, 1987].
a = Teil der Zelle in der Knorpelhöhle; b = vermutlich teilweise zerrissenen Plasmalemm der Zelle; c = Perizellulärschicht; d = 2 Anschnitte durch den Zellkern; e = Loch im Querseptum, durch das sich der Zellkern „hindurchzwängt“; f = Zellteil in der Eröffnungszone; g = Zellansammlung in der Eröffnungszone; h = herausgebrochene Knorpelmineralien.**

Der Resorptionsweg in den Längssepten des verkalkten Knorpels erfolgt auf andere Art und Weise. Chondroklasten treten als vielkernige Riesenzellen in Erscheinung und sind am Abbau der longitudinalen Septen beteiligt. Durch stetige Resorption wird Raum für die späteren Trabekeln geschaffen. Dieser steigt im Vergleich zur Knorpelsäule auf das 3fache, um das Einsprossen von Gefäßen zu gewährleisten. Osteoblasten, die sich an den verbliebenen Knorpelspannen anlagern, scheiden Osteoid ab. Die Spongioasabälkchen des neugebildeten Knochens entstehen enchondral (vgl. Osteogenese S. 5 f.).

8. Zusammenfassung

Gegenstand der Arbeit, war anhand der aktuellsten Veröffentlichungen und neuesten medizinischen Fachbüchern einen detaillierten Einblick in das Innenleben der Wachstumsfuge zu bekommen. Die einzelnen Wachstumszonen wurden dabei bezüglich ihrer anatomischen Strukturen und biochemischen Bestandteile untersucht und mit Bildern illustriert.

Die Gliederung erfolgt regional nach Entwicklungsstand der Zusammensetzung und mikroskopischen Kriterien. Dabei verändern sich Zellen und Extrazellulärsubstanz hinsichtlich ihrer Morphologie und histochemischer Aktivität, bis schließlich zur Metaphyse hin Knochen entsteht.

An den Enden der Röhrenknochen wird die ursprünglich hyaline Knorpelsubstanz knöchern umgebaut, sodaß ein Knochenkern entsteht. Während im gelenknahen Bereich die Kontur durch die korrespondierenden Gelenkpartner bestimmt wird, plattet sich epiphysennah das Knorpelmaterial ab und bildet die typische Zonierung aus. Metaphysennah mineralisieren die longitudinalen Septen, die sich zwischen den säulenartig angeordneten Chondrozyten befinden.

Neben der perichondralen Knorpelbildung wird als eigene Chondrogenese die Encoche-Apposition gesehen, die sich am Übergang vom Perichondrium zu Periost abspielt. Man geht davon aus, dass es dort durch Umbauvorgänge zum Dickenwachstum der Fuge und diaphysärer Anteile kommt. Die Spongiosa wird dort als Trichter in die Diaphyse integriert.

Am Knochenende verknöchert der hyaline Knorpel teilweise und bleibt an den Gelenkflächen erhalten. Zur Metaphyse grenzend proliferieren die Zellen. Es bildet sich eine Knorpelscheibe aus, die durch einen zonalen Aufbau mit unterschiedlicher Zellmorphologie und biochemischer Aktivität charakterisiert ist.

Neben den Proliferationszonen ist die Hypertrophe Zone als besonderer Bereich anzusehen, in dem der Großteil der Knochenverlängerung stattfindet. Die Knorpelzellen gewinnen an Volumen, sezernieren vermehrt Matrixvesikel und beginnen zur Metaphyse hin den Mineralisationsprozess anzutreiben.

Der Umbau zu Knochengewebe erfolgt schließlich durch Abbau der mineralisierten Septen, sodaß Gefäße einsprießen können. Diese bringen immer mehr Zellen heran, die den Umbau vorantreiben. Es entstehen Knorpelhöhlen in denen Osteoid gebildet wird. Der entstandene Geflechtknochen wird schließlich zu Lamellenknochen umgebaut.

9. Literaturnachweis

Abad, V., Meyers J.L., Weise M., Rafni R.I., Barnes K.M., Nilsson O., Bacher, J.D., Baron J. The role of the resting zone in growth plate chondrogenesis. *Endocrinology* 143 (2002) 1851–1857

Adams, C.S., Shapiro I.M. The fate of the terminally differentiated chondrocyte. Evidence for microenvironmental regulation of chondrocyte apoptosis. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 13 (2002) 465-473

Alini, M., Matsui Y., Dodge G.R., Poole, A.R. The extracellular matrix of cartilage in the growth plate before and during calcification: Changes in composition and degradation of type II collagen. *Calcif Tissue Int.* 50 (1992) 327-335

Anderson, H.C. Molecular biology of matrix vesicles. *Clin Orthop Relat Res.* 314 (1995) 266-280

Ballock, R.T., O’Keefe, R.J. Physiology and Pathophysiology of the growth plate. *Birth Defects Res C Embryo Today* 69 (2003) 123-143

Ballock, R.T., O’Keefe, R.J. The Biology of the growth plate. *J Bone Joint Surg Am.* 85 (2003) 715-726

Bianco, P., Cancedda, F.D., Riminucci, M., Cancedda, R. Bone formation via cartilage models: The “borderline” chondrocyte. *Matrix Biol.* 17 (1998) 185-192

Buckwalter, J.A., Rosenberg, L.C. Electron microscopic studies of cartilage proteoglycans. *Electron Microsc Rev.* 1 (1988) 87-112

Buckwalter, J.A., Rosenberg, L.C., Ungar, R. Changes in proteoglycan aggregates during cartilage mineralisation. *Calcif Tissue Int.* 41 (1987), 228-236

Brighton, C.T. Morphology and biochemistry of the growth plate. *Rheum Dis Clin North Am.* 13 (1987)

Byers, S., Bruce, C., Hopwood, J.J., Foster, K.F. Immunolocalization analysis of glycosaminoglycans in the human growth plate. *J Histochem Cytochem.* 40 (1992) 275-282

Byers, S., Rooden van, J.C., Foster, B.K. Structural changes in the large proteoglycan, aggrecan, in the different zones of the ovine growth plate. *Calcif Tissue Int.* 60 (1997) 71-78

Dallek, M., Meenen, N., Möller, K.F., Jungbluth, K.H. Die Kollagenfasertextur in Epi- und Apophysenfugen als morphologischer Ausdruck der Transformation von Druck- in Zugkräfte und umgekehrt. In: “Neuere Ergebnisse in der Osteologie“, *Willert, H.G., Henk, F.H.W.* (Hrsg.), Springer, Heidelberg, 1989

- Deutzmann, R., Bruckner-Tuderman, L., Bruckner, P.* Binde- und Stützgewebe. In: "Biochemie und Pathobiochemie", *Löffler, G., Petrides, P.E.* (Hrsg.), Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Hongkong-London-Mailand-Paris-Tokio, 2003, 7. Auflage, 754-787
- Doenecke, D.* Biochemische Funktionen einiger Organe des Menschen. In: "Biochemie und Pathobiochemie", *Karlson, P.*, Thieme, Stuttgart, New York, 2005, 15. Auflage, 649-729
- Drenckhahn, D.* Allgemeine Gewebelehre. In: "Anatomie", *Benninghoff, A., Drenckhahn, D.*, Urban & Fischer, München, Jena, 2003, 16. Auflage, 94-207
- Ekman, S., Reinholt, F.P., Hultenby, K., Heinegård, D.* Ultrastructural immunolocalisation of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) of porcine growth cartilage. *Calcif Tissue Int.* 60 (1997), 547-553
- Farquharson, C., Whitehead, C.C., Loveridge, N.* Alterations in glycosaminoglycan concentration and sulfation during chondrocyte maturation. *Calcif Tissue Int.* 54 (1994) 296-303
- Häusler, G., Helmreich, M., Marlovits, S., Egerbacher, M.* Integrins and extracellular matrix proteins in the human childhood and adolescent growth plate. *Calcif Tissue Int.* 71 (2002) 212-218
- Hunziker, E.B.* Mechanism of longitudinal bone growth and its regulation by growth plate chondrocytes. *Microsc Res Tech* 28 (1994) 505-519
- Hunziker, E.B., Herrmann, W.* Ultrastructure of cartilage. *Ultrastructures of Skeletal Tissues* (1990)
- Keene, D.R., Oxford, J.T., Morris, N.P.* Ultrastructural localisation of collagen types II, IX and XI in the growth plate of human rib and fetal bovine epiphyseal cartilage: type XI is restricted to thin fibrils. *J. Histochem Cytochem.* 43 (1995) 967-979
- Kirsch T., von der Mark, K.* Remodelling of collagen types I, II and X and calcification of human fetal cartilage. *Bone Miner.* 18 (1992) 107-117
- Kirsch T., von der Mark, K.* Ca²⁺ binding properties of type X collagen. *FEBS Lett.* 294 (1991) 149-152
- Langenskiöld, A., Elima, K., Vuorio, E.* Specific collagen mRNAs elucidate the histogenetic relationship between the growth plate, the tissue in the ossification groove of Ranvier, and the cambium layer of the adjacent periosteum. A preliminary report. *Clin Orthop Relat Res.* 297 (1993) 51-54
- Langenskiöld, A., M.D., Ph.D., Hon. F.R.C.S.* Role of the ossification groove of Ranvier in normal and pathologic bone growth: A review. *J. Pediatr Orthop.* 18 (1998) 1973-1977
- Löffler, G., Hasilik, A.* Zelluläre Organellen und Strukturen: Ein Überblick über die Zellbiologie. In: "Biochemie und Pathobiochemie", *Löffler G., Petrides, P.E.* (Hrsg.), Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Hongkong-London-Mailand-Paris-Tokio, 2003, Auflage, 169-205

Löffler, G. Biosynthese von Kohlenhydraten. In: "Biochemie und Pathobiochemie", *Löffler G., Petrides, P.E.* (Hrsg.), Springer, Berlin-Heidelberg-New York-Hongkong-London-Mailand-Paris-Tokio, 2003, Auflage, 584-597

McKee M.D., Glimcher, M.J., Nanci A. High-resolution immunolocalization of osteopontin and osteocalcin in bone and cartilage during endochondral ossification in the chicken tibia. *Anat Rec.* 234 (1992) 479-492

Milz, S., Boszczyk, A., Putz, R. Entwicklung und funktionelle Struktur der Epiphysenfugen. *Orthopäde* 31 (2002) 835-840

Netter, F.H., Brighton, C.T. Epiphysenfuge. In "Farbatlant der Medizin", Bd.7, Bewegungsapparat 1, *Firbas, W.*, Thieme, Stuttgart-New York, 1992, 164-167

Newman, B., Gigout, L.I., Sudre, L., Grant, M.E., Wallis, G.A. Coordinated expression of matrix Gla protein is required during endochondral ossification for chondrocyte survival. *J Cell Biol.* 6 (2001), 659-666

Noonan, K.J., Hunziker, E.B., Nessler, J., Buckwalter, J.A. Changes in cell, matrix compartment, and fibrillar collagen volumes between growth plate zones. *J Orthop Res.* 16 (1998), 500-508

Petrides, P.E. Binde- und Stützgewebe. In: "Physiologische Chemie". *Harper, Löffler, Petrides, Weiss* (Hrsg.), Springer, Heidelberg-Berlin-New York, 1975

Putz, R., Entwicklung und Wachstum der Epiphysen. *Z Orthop Ihre Grenzgeb.* 134 (1996) 391-395

Reichenberger, E., Aigner, T., von der Mark, K., Stöß, H., Bertling, W. In situ hybridization studies on the expression of type X collagen in fetal human cartilage. *Dev Biol.* 148 (1991) 562-572

Robertson, W.W., JR., M.D. Newest Knowledge of the growth plate. *Clin Orthop Relat Res.* 253 (1990) 270-278

Roughley, P.J., Lee, E.R. Cartilage Proteoglycans: Structure and potential functions. *Microsc Res Tech.* 28 (1994) 385-397

Sävendahl L. Hormonal regulation of growth plate cartilage. *Horm Res.* 64 (Suppl 2) (2005) 94-97

Schrier, L., Ferns, S.P., Barnes, K.M., Emons, J.A.M., Newman, E.I., Nilsson, O., Baron, J. Depletion of resting zone chondrocytes during growth plate senescence. *J Endocrinol.* 189 (2006) 27-36

Shapiro, I.M., Adams, C.S., Freeman, T., Srinivas, V. Fate of the hypertrophic chondrocyte: Microenvironmental perspectives on apoptosis and survival in the epiphyseal growth plate. *Birth Defects Res C Embryo Today* 75 (2005) 330-339

Shen G. The role of type X collagen in facilitating and regulating endochondral ossification of articular cartilage. *Orthod Craniofac Res.* (2005) 11-17

Stevens, D.A., Hasserjian, R.P., Robson, H., Siebler, T., Shalet, S.H., Williams, G.R. Thyroid Hormones regulate hypertrophic chondrocyte differentiation and expression of parathyroid hormone-related peptide and its receptor during endochondral bone formation. *J Bone Miner Res.* 15 (2000) 2431-2442

Tillmann, B. Skelettsystem, In: "Anatomie des Menschen", Bd. I. Bewegungsapparat, *Rauber/Kopsch*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 2003, 3. Auflage, 52-127

Tillmann, B., Classen, H. Struktur und Funktion der Wachstumsplatte. *Z Orthop. Ihre Grenzgeb.* 134 (1996) 396-399

Vornehm, S.I., Dudhia, J., von der Mark, K., Aigner, T. Expression of collagen types IX and XI and other major cartilage matrix components by human fetal chondrocytes in vivo. *Matrix Biol.* 15 (1996) 91-98

Wasmer, G., Pförringer W. Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge, In: "Die Epiphysenfugen", *Pförringer W., Rosemeyer B.* (Hrsg.) Perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft, Erlangen, 1987, 1. Auflage, 25-52

William A., Machado, H., Machado, M.M. Extracellular matrix alterations during endochondral ossification in humans. *J Orthop Res.* 6 (1988) 793-803

10. Abbildungsnachweis

1. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 25
2. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 26
3. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 28
4. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 32
5. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 33
6. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 34
7. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 35
8. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 36
9. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 37
10. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 38
11. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 38
12. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 39
13. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 40
14. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 41
15. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 43
16. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 44
17. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 45
18. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 45
19. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 46
20. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 47
21. [Anderson, 1995]. „Molecular biology of matrix vesicles“. S. 267
22. [Anderson, 1989]. „Mechanism of mineral formation in bone“. S. 324
23. [Mitchel et al., 1990]. „Electron microscopic evaluation of the occurrence of matrix vesicles in cartilage“. S. 402
24. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 48
25. [Shapiro et al., 2005]. „Fate of the hypertrophic chondrocyte: Microenvironmental perspectives on apoptosis and survival in the epiphyseal growth plate“. S. 336
26. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 49
27. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 49
28. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 50
29. [Wasmer, 1987]. „Ultrastruktur und Biochemie der Epiphysenfuge“. S. 50

11. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	= Abbildung
ATP	= Adenosintriphosphat
COMP	= Cartilage-Oligomeric-Matrixprotein
DNA	= Desoxyribonukleinsäure
et al	= und andere
evtl.	= eventuell
f.	= folgende
³ H	= Tritium
HE	= Hämatoxilin - Eosin
kDa	= Kilodalton
MDa	= Megadalton
MGP	= Matrix Gla protein
mRNA	= messenger-Ribonukleinsäure
µm	= Mikrometer
NADH	= Nicotinamidadenindinucleotid
nm	= Nanometer
RER	= raues endoplasmatisches Retikulum
S.	= Seite
s.	= siehe
³⁵ S	= Schwefelisotop
sog.	= sogenannt
u. a.	= unter anderem
vgl.	= vergleiche
z.B.	= zum Beispiel
z. T.	= zum Teil

12. Lebenslauf

Thomas Michael Baurmann

Bazeillesstr.1
81667 München
Deutschland
mobil:+49-(0)163-6364650
tombaurmann@web.de

Geboren: 21. Juni. 1976 in München, Deutschland

Familienstand: Ledig

Schulausbildung

09/1984-07/1988	Volksschule München
09/1988-07/1995	Luitpold Gymnasium, München
06/1995	Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

09/1995-09/1996	Zivildienst im Evangelischen Kinderheim Feldkirchen
10/1996-04/1997	"Rucksackreisen" (Thailand, Malaysia, Vietnam, Singapur)

Studium der Humanmedizin

08/1997-02/1999	Vorklinik: Leopold- Franzens Universität, Innsbruck
05/1999-08/2001	Ludwigs- Maximilians- Universität (LMU), München
08/2001	Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
10/2001-10/2005	Klinik: Technische Universität München (TUM)
08/2002	Erstes Staatsexamen
08/2004	Zweites Staatsexamen
26/10/2005	Drittes Staatsexamen
12/2005	Approbation

Famulaturen

02/2002-03/2002	Innere Klinik, Krankenhaus Rechts der Isar in München, Abteilung für Toxikologie
-----------------	--

08/2002-09/2002 Abteilung für Orthopädie, Alphaklinik in München
02/2003-03/2003 Abteilung für Chirurgie, Holy Cross Hospital, *Indien*
09/2003-10/2003 Allgemeinarztpraxis, Dr. med. W. Kaiser, Kulmbach

Praktisches Jahr

10/2004-12/2004 Kardiologie (1. Medizinische Klinik), Klinikum Rechts der Isar,
TU- München (Prof. Dr. A. Schömig)
12/2004-04/2005 Chirurgie, G.F. Jooste Hospital, *Südafrika*, University of Cape
Town
04/2005-06/2005 Gastroenterologische Intensivstation, Klinikum Rechts der Isar, TU-
München (OA Dr. W. Huber)
06/2005-09/2005 Anästhesie, Klinikum Rechts der Isar, TU- München
(Prof. Dr. E. Kochs)

Medizinische Tätigkeiten neben dem Studium

1997-1999 Diverse Zeitverträge als OP-Pfleger im Zentral- OP,
Krankenhaus München-Bogenhausen

2000 bis 09/2006 Einmal wöchentlicher Einsatz als 1. und 2. OP-Assistent in der
Abteilung für Wirbelsäulenchirurgie (Dr. W. Zeegers), Alpha
Klinik, München

08/2006 bis 10/2006 Gemeinschaftspraxis für Anästhesie von Fr. Dr. Eichinger

10/2006 bis jetzt Assistenzarzt in der Abteilung für Unfallchirurgie und
Wiederherstellungschirurgie, Orthopädie, Wirbelsäulenchirurgie,
Handchirurgie und Sportmedizin im Kreiskrankenhaus Erding

München, den 30.07.2007

Thomas Baurmann

13. Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte weder von mir unmittelbar, noch mittelbar Geld für Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland, noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der vorgelegten Arbeit beteiligt waren.

München 30.07.2007

Thomas Baurmann

13. Danksagung

Vielen Dank...

Prof. Dr. Pförringer für die Überlassung des Themas und die Unterstützung

Meiner Freundin Cristina für die Geduld und die seelische Stütze

Meinen Eltern, Inge und Rainer: dafür dass sie an mich glauben

An Rosa und Phil für die graphische und technische Hilfe