

#### 4. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit kamen standardisierte Methoden histologischer und immunhistologischer Arbeitsweisen zum Einsatz. Mittels dieser Arbeitstechniken konnten sowohl der mikroskopische Aufbau hyalinen Gelenkknorpels des Läufers, der nicht der Massentierhaltung entspringt, als auch das Verteilungsmuster von Kollagenen in selbigem aufgezeigt werden.

Dabei wurden zum einen der Aufbau und die Verteilungsmuster in physiologischem, das heißt morphologisch unverändertem Knorpel betrachtet. Zum anderen wurde eine Analyse der mikropathologischen Veränderungen im hyalinen Gelenkknorpel heranwachsender Schweine in Relation zu o. g. physiologischem Knorpel durchgeführt.

Die untersuchten Proben zeigen alle eine makroskopisch intakte Knorpeloberfläche der eröffneten Gelenke.

Aufgrund der beschriebenen zügigen Eröffnung und Entnahme der Knorpelproben kann eine Schädigung der Oberfläche durch Flüssigkeitsverluste beim Antrocknen weitestgehend vermieden werden.

Die mikroskopische Analyse zeigt die physiologische Schichtung hyalinen Gelenkknorpels.

Eine Ausnahme stellen die Proben, die das Phänomen der Brutkapseln aufweisen, dar.

Die Brutkapseln finden sich bevorzugt nahe der tidemark, gelegen in einem Areal strukturell degenerierten Knorpels. In diesen Arealen ist das physiologische Knorpelgewebe durch dieses degenerativ erscheinende Material ersetzt.

Eine mögliche Ursache für das Auftreten dieses morphologischen Phänomens mag darin liegen, dass diese rundlichen Anhäufungen von Knorpelzellen als Regenerat inmitten des Areals untergegangenen Knorpelgewebes zu werten sind. Rein morphologisch erinnern die Brutkapseln an die physiologisch in den tiefen Knorpelschichten gelegenen Knorpelzellnester des Säulenknorpels. Somit könnte es sich auch um eine reparative Reaktion des hyalinen Knorpelgewebes handeln, die physiologische Knorpelstruktur wieder herzustellen.

Des Weiteren scheint die Grenze zwischen Knorpel und Knochen bei diesen Proben nicht mehr scharf begrenzt. Es besteht ein flüssiger Übergang zwischen Knochen und dem, die Brutkapsel umgebenden Degeneratareal. Somit ist morphologisch die Grenze zwischen Knochen- und Knorpelgewebe aufgehoben, was weitere Erklärungen, die Entstehung und morphologische Charakterisierung das Phänomen betreffend, implementiert: Zum einen die Möglichkeit, dass die Brutkapsel und möglicherweise auch die Degeneration des umgebenden Gewebes ihren Ursprung im Bereich des Knochengewebes haben und auf den Knorpel übergegriffen haben.

Aber auch ein Beginn im Bereich des Knorpelgewebes mit konsekutiver Ausbreitung in Richtung des subchondralen Knochens, bzw. eine Einschleppung auslösender Faktoren in das Knorpelgewebe kann nicht ausgeschlossen werden.

Auch an das Vorliegen eines sekundären Ossifikationszentrums muss gedacht werden.

Das Knorpelgewebe zeigt ebenfalls Degeneratareale ohne zentral gelegene Anhäufungen intakter Zellen. Diese Areale finden sich ebenso wie die Brutkapseln bevorzugt in der Nähe der tidemark im Knorpelgewebe. Die Grenze zwischen Knochen- und Knorpelgewebe erscheint auch hier aufgehoben, so dass sich auch in diesem Falle die Frage des Ursprungs des Phänomens von Knochen-, bzw. Knorpelgewebe stellt. Ebenso ist in Betracht zu ziehen, dass es sich bei dem genannten Phänomen um die Vorstufe der Brutkapseln, aber auch die Folge selbiger handeln kann, was die Frage nach der Tatsächlichkeit des regenerativen Charakters der Brutkapseln aufwirft. Da morphologisch keine Zwischenstufen zwischen Brutkapsel und Degenerat vice versa auszumachen sind, lässt sich diese Frage von der rein histologischen Betrachtungsweise her nicht abschließend beantworten.

Die sogenannten Knorpelzapfen müssen auch im Zusammenhang mit den Degeneratarealen und Brutkapseln betrachtet werden. Dabei handelt es sich ein morphologisches Phänomen, das sich ebenfalls in unmittelbarer Nähe zum Knorpel- Knochenübergang zeigt.

Dabei kommt es zu einer Verlagerung von morphologisch als Knorpelzellen imponierenden Zellanhäufungen in den subchondralen Knochen. Im knorpelseitigen Bereich der Veränderungen finden sich beschriebene Degeneration des Knorpelgewebes und zusätzlich die Ausbildung eines zystoiden Hohlraumes.

Durch die Verlagerung der Knorpelzellen kommt es ebenso wie bei den o. g. Phänomenen zu einem Aufbrechen der Grenze zwischen Knorpel und Knochen, was auch hier die Frage nach der Ursächlichkeit und insbesondere auch der Ursprünglichkeit der Veränderung aufwirft. Zu diskutieren bleibt, ob diese Veränderung im Zusammenhang mit den Brutkapseln und degenerativen Veränderungen steht, ob sie Ursprung oder Folge dieser sein kann.

Ebenso sollte aber die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, dass es sich bei diesen Knorpelzapfen um Brutkapseln handelt, die in diesem Falle eine Verlagerung in den subchondralen Knochen erfahren haben, oder aber ihren Ursprung in selbigem nehmen.

Diese Fragen können ebenso wie bei den anderen beiden Phänomenen durch die alleinige histologische Betrachtung nicht abschließend beantwortet werden.

Das Auftreten von Gefäßkanälen ist in juvenilem Wachstumsknorpel physiologisch. Hill et al. wiesen sie bereits in hyalinem Knorpelgewebe wachsender Schweine nach<sup>12</sup>. Das massenhafte Auftreten dieser Gefäßeinsprossungen und die Tatsache, dass teilweise ein Ausgang vom

Knochen nachgewiesen werden kann, muss in Anbetracht der nachgewiesenen Phänomene einer differenzierteren Betrachtung unterworfen werden.

Handelt es sich bei diesen Gefäßen nur um, der Versorgung des wachsenden Knorpels dienende Gefäße, oder aber sind sie bereits ein Hinweis auf eine Durchlässigkeit der tidemark in dem untersuchten Gewebe, die einen Einbruch vom Knochen ausgehend in den Knorpel ermöglicht. Auch ein proliferativer Effekt der bereits genannten Phänomene, bzw. eine, die Proliferation begünstigende Gesamtstoffwechsellage, welche die Pathologien nach sich zieht, müssen in Betracht gezogen werden. Für die einsprossenden Gefäße stellt sich somit die Möglichkeit dar, als Mediator der Phänomene zu fungieren, der nutritiven Unterhaltung der selbigen zu dienen, oder aber im Gefolge der Phänomene und der sie bedingenden proliferativen Stoffwechselveränderungen zu stehen.

Als letzte mikroskopische Veränderung zeigt sich das massenhafte Auftreten von solitären und multiplen Zysten auf den angefertigten Schnitten. Die Zysten zeigen in Form und Größe eine deutliche Schwankungsbreite, jedoch ein deutliches Auftretensmaximum in den mittleren und unteren Schichten des Knorpelgewebes.

Histologisch zeigen sie eine glatte innere Begrenzung ohne die, bei den Gefäßeinsprossungen zu erkennende, innere einlagige Zellschicht, am ehesten dem Endothel entsprechend. Interessanterweise zeigen diese Zysten sowohl ein isoliertes Auftreten, als auch eine Vergesellschaftung mit anderen der aufgezählten Veränderungen. Sie stellen die mit Abstand am häufigsten aufgetretene Pathologie dar. Ihre Lage in den mittleren Abschnitten des Knorpelgewebes, sowie ihr Auftreten unabhängig von den einsprossenden Gefäßen, lösen sie als einzige Veränderung aus dem Komplex der in engem Zusammenhang zum subchondralen Knochengewebe stehenden Phänomene heraus. Die Großflächigkeit und der teilweise enorme Durchmesser der Zysten erschwert das Aufzeigen einer möglichen physiologischen Bedeutung. Eher doch scheint ein Zusammenhang mit den degenerativen mikroskopischen Veränderungen wahrscheinlich.

Neben den zahlreichen Proben mit den genannten Veränderungen finden sich auch einige wenige Schnitte, die keine morphologischen Veränderungen aufzeigen. Hierbei drängt sich die Frage auf, ob es sich bei diesem Tier wirklich um ein, von den Veränderungen nicht betroffenes handelt, oder aber, ob eine um einige Millimeter versetzte Entnahmestelle nicht auch mikroskopisch verändertes Gewebe darstellen würde.

Neben der mikroskopischen Schichtung des Knorpels wird auch das Verteilungsmuster der Kollagene I, II, VI und X betrachtet und im Zusammenhang mit den aufgetretenen morphologischen Veränderungen im Aufbau der Knorpelstruktur ausgewertet. Dabei wird

erstmalig das Verteilungsmuster der verschiedenen untersuchten Kollagene anhand histopathologischer Schnitte *eines* Tieres aufgezeigt.

Das typische Verteilungsmuster für die Kollagene I, II, VI und X wurde bereits aufgezeigt und deren gesicherte, bzw. vermutete Funktionen gemäß der aktuellen Literatur wiedergegeben.

Dabei ist insbesondere darauf zu verweisen, dass Kollagen I physiologisch nicht in hyalinem Knorpelgewebe zu finden ist. Sein Auftreten beschränkt sich im Bereich der Gelenke auf den Knochen, wo es ubiquitär anzutreffen ist.

Bei den Untersuchungen dieser Arbeit zeigt sich Kollagen I bei den Proben ohne die genannten mikroskopischen Veränderungen in seiner typischen Verteilung, sprich, eine deutliche Anhäufung im Bereich des Knochens und keinerlei Anreicherung im hyalinen Knorpelgewebe.

Im Knorpelgewebe jedoch, das histologische Alterationen aufweist, findet sich eine unphysiologische Anreicherung des Kollagen I an den Pathologien. Das, die Anomalien umgebende Gewebe, ist ausgespart von Kollagen I-Anreicherungen und zeigt somit das zu erwartende Verteilungsmuster.

Im Bereich der mikroskopischen Veränderungen ist eine deutliche Anreicherung im Bereich der Wand von Vakuolen, bzw. Zysten und Gefäßen und im Degeneratareal um die Brutkapseln herum zu sehen. Die Zellen innerhalb der Brutkapseln hingegen sind von Kollagen I-Anreicherungen ausgespart. Diese Aussparung der innen liegenden Zellen stützt die bereits morphologisch vorbeschriebene Ähnlichkeit zu Knorpelzellen der Knorpelzellnester des Säulenknorpels.

Die Verteilung des Kollagen I stützt die These, dass diese Veränderungen ihren Ursprung im Bereich des Knochens genommen haben, bzw. zu Veränderungen führen, die ein, dem Knochen ähnliches Kollagenverteilungsmuster bedingen.

Da Kollagen I, wie bereits erwähnt, eine Halbwertszeit von mehr als 100 Jahren besitzt, ist mit einem Abbau des Kollagens innerhalb der Lebensspanne eines Schweines nicht zu rechnen. Dies spricht eindeutig dagegen, dass es sich bei den aufgezeigten Veränderungen um physiologische Phänomene des wachsenden Tieres handeln könnte, da ein Auftreten von Kollagen I im hyalinen Gelenkknorpel des ausgewachsenen Tieres nicht beschrieben ist.

Kollagen II zeigt, wie Kollagen I, ein physiologisches Verteilungsmuster im nicht affektierten Knorpelgewebe.

An den Zysten und Gefäßen hingegen zeigt sich eine Anreicherung im Außenbereich der Wand. Die inneren Zellschichten, bzw. das innerhalb der Vakuolen gelegene Zellmaterial, weisen keinerlei Anreicherung von Kollagen II auf.

Im Bereich des Degenerates um die Brutkapsel herum findet sich auch für Kollagen II eine leichtgradige Anreicherung. Dass es sich hierbei also um degeneriertes Knorpelgewebe mit noch residualen Eigenschaften des hyalinen Gelenkknorpels handelt, ist somit möglich. Allerdings schließt die Anreicherung auch einen knöchernen Ursprung der Veränderungen nicht aus.

Die Anreicherung inmitten der Brutkapseln ist nur minimal, was die Frage nach der Ursprünglichkeit des gezeigten Gewebes aufwirft. Der, anhand der Morphologie vermutete Ursprung im Knorpelgewebe, scheint sich nicht zu erhärten. Allerdings darf in diesem Zusammenhang auch nicht die postulierte Veränderung der Stoffwechsellage außer Acht gelassen werden. Sollte diese vorliegen und zu einer Umverteilung, bzw. Minderanreicherung der Kollagene im Bereich der Brutkapseln geführt haben, wäre auch die Ausbildung eines als minderwertig anzusehenden Knorpelgewebes möglich.

Eine physiologische Verteilung zeigt Kollagen VI. Die Anreicherung ist vorwiegend perizellulär im Bereich der Chondrozyten zu sehen. Die Anreicherung zeigt sich unabhängig vom Auftreten morphologischer Phänomene, wobei die Darstellung von Kollagen VI im Bereich der Brutkapsel, bzw. des sie umgebenden Degeneratareals, technisch nicht gelang.

Eine leichtgradige Mehranreicherung zeigt sich im Randbereich von Zysten, bzw. Vakuolen, jedoch nicht in den enthaltenen Zellmassen oder an Gefäßen.

Die Annahme, bzw. ein Ausschluß einer cartilaginären Genese der Phänomene sollte aufgrund der stattgehabten, bzw. ausgebliebenen Anreicherung in diesem Bereich jedoch nicht erfolgen.

Ein für Wachstumsknorpel typisches Verteilungsmuster zeigt Kollagen X. Es findet sich eine gleichmäßige Anreicherung der Antikörper im Bereich der tidemark. Diese Anreicherung zeigt sich unabhängig vom Auftreten mikroskopischer Veränderungen am Knochen-, bzw. Knorpelgewebe.

Jedoch bleibt eine strukturelle Unterbrechung der Knorpelknochengrenze, insbesondere beim Auftreten des Phänomens der, vom Knochen ausgehenden Gefäßeinsprossungen, nicht aus. Ebenso zeigt sich im Bereich des knochennahen Degenerates um die Brutkapsel eine Aussparung von Kollagen X an der bereits morphologisch nicht intakten Grenze und eine leichtgradige Anreicherung im Bereich des Degenerates.

Dies wiederum stützt die These, dass es sich bei den aufgetretenen Veränderungen um, vom Knochen ausgehende Veränderungen handelt, die entweder zu einer Durchlässigkeit der tidemark führen, oder aber, aufgrund der Durchlässigkeit der tidemark, durch endogene oder exogene Faktoren bedingt, erst ermöglicht werden.

Die Histologie und Immunhistologie weisen bei den untersuchten Schweinen das Auftreten mikroskopisch struktureller und immunhistologischer Umverteilungen im Kollagenverteilungsmuster nach.

Diese Veränderungen entsprechen den in der bekannten Literatur genannten typischen Veränderungen bei O. D.<sup>8, 9, 12, 22, 24, 25, 29-32, 34, 37, 40, 42, 44</sup>.

Zusammengenommen sprechen die Morphologie der Unterbrechung der Grenze zwischen Knochen und Knorpel, sowie der Anreicherung von Kollagen I im Knorpelgewebe, stark für eine ossäre Genese der Veränderungen.

Dass sich in den Zellarealen der Brutkapsel und innerhalb der Zellmassen der Zysten, sowie der Innenauskleidung der Gefäßeinsprossungen keine Anreicherung von Kollagen II zeigt, scheint gegen eine reine Proliferation von Knorpelgewebe zu sprechen. Der Ursprung der Veränderungen liegt also vermutlich in einer vom Knochen ausgehenden Erkrankung, oder aber handelt es sich um ein degeneratives Geschehen des Knorpelgewebes, das eine Proliferation von knochenähnlichem Gewebe erst möglich macht. Abschließend kann diese Fragestellung hier nicht geklärt werden und sollte Gegenstand weitergehender Untersuchungen sein.

Weiterhin muss bei Betrachtung der Frage des Ursprunges die Verteilungshäufigkeit beachtet werden. Es findet sich eine deutliche Anhäufung der Phänomene in den mittleren bis tiefen Schichten des Knorpels, teils mit Affektionen des Knorpel-Knochenüberganges. Auch dies spricht eher gegen einen Ursprung der pathologischen Geschehnisse im Bereich des Knorpels, bzw. der Knorpeloberfläche. Die Ursprünglichkeit von Gelenkraum herrührend, wie sie auch von manchen Autoren für die Entstehung der Arthrose postuliert wird, erscheint aufgrund der totalen Aussparung der oberflächlichen Schichten unwahrscheinlich.

Ebenso die Frage der Ursächlichkeit muss in weiteren Untersuchungen näher beleuchtet werden. Es bleibt offen, was zur Degeneration von Knorpelgewebe, bis hin zur makroskopischen Veränderungen, wie sie in anderen Untersuchungen gesehen wurden, mit der Folge der leg weakness führt.

In der genannten Literatur wurden zu den Untersuchungen bisher ausschließlich Schweine der Mast herangezogen.

In dieser Arbeit können die vorbeschriebenen Phänomene erstmals an Tieren gezeigt werden, die keiner Mast unterworfen sind. Die Überfütterung, bzw. einseitige Ernährung und Behandlung mit Zusatzstoffen können ebenso, wie das dadurch bedingte beschleunigte Wachstum, mit dem auftretenden Missverhältnis zwischen Skelett- und Weichteilwachstum als Hauptursache für die Entstehung der Veränderungen ausgeschlossen werden.

Auch die Bewegungsarmut der Mastschweine liegt in diesem Falle nicht vor, wobei anzumerken sei, dass es sich auch bei den Läufern in dieser Versuchsreihe nicht um freilaufende Tiere handelt.

Da Ernährung, Zufütterung und Bewegungsarmut bisher typischerweise als ursächlich, bzw. mitursächlich für die Entstehung der O. D. genannt werden, zeigt diese Versuchsreihe erstmalig eine Unabhängigkeit der Pathologien von diesen Faktoren.

Der Nachweis der typischen osteochondritischen Veränderungen bei Schweinen, die dem Zuchtbetrieb - und somit nicht der Mast - entspringen, gibt Anlass zu der Vermutung, dass es sich bei den genannten Veränderungen bis zu einem gewissen Grade um Phänomene des physiologischen Wachstumsprozesses handelt. Da praktisch jedes Schwein in dieser Versuchsreihe eine Pathologie, allerdings in unterschiedlich starker Ausprägung, aufwies, kann vermutet werden, dass jedes Tier prinzipiell die Veranlagung zur O. D. aufweist. Es scheinen jedoch verschiedene Faktoren, in unterschiedlicher Gewichtung, Einfluss auf die tatsächliche Entstehung einer O. D. zu haben.

Allen voran dürfte die Genetik eine doch entscheidende Rolle spielen. So entstammen die Tiere, die in Deutschland zur Zucht verwendet werden, zum größten Teil einem Geschlecht. Dies ist eine mögliche Erklärung für das gehäufte Auftreten der pathologischen Veränderung des Knorpel- und Knochengewebes. Die Faktoren Bewegung, Ernährung, bzw. Mast sind dann mögliche Trigger für die Exazerbation hin zur tatsächlichen O. D..

Ob es sich bei der O. D. nun vorwiegend um ein akut entzündliches Geschehen oder eher um eine degenerative Erscheinung handelt, kann anhand dieser Untersuchungsreihe nicht abschließend geklärt werden. Unter Zuhilfenahme der bekannten Literatur scheint ein entzündliches Geschehen, wie bereits erwähnt, eher unwahrscheinlich. Offensichtlich kommt es aufgrund einer Veranlagung, sprich der Genetik der Läufer zu den degenerativen Veränderungen des hyalinen Knorpelgewebes. Da diese Degeneration des Knorpels vorwiegend die mittleren und tiefen Schichten des Knorpels betrifft, erscheint die Bezeichnung einer juvenilen Arthrose eher unzutreffend. Bei der Arthrose handelt es sich um ein Geschehen, das seinen Ursprung von den oberflächlichen Schichten, sprich dem Gelenkbinnenraum nimmt und konsekutiv den darunter befindlichen Knorpel befällt.

Bei den untersuchten Schweinen ist die oberflächliche Schicht hingegen nicht affektiert; auch die sonst typischen Veränderungen des subchondralen Knochengewebes bei Arthrose sind hier nicht anzutreffen.

Das Knorpelgewebe des Schweines ist nach der Arbeitsgruppe um Kaab et al von den als Versuchstiere am häufigsten verwendeten Mammariern dem menschlichen Knorpelgewebe am

ähnlichsten<sup>13</sup>. So konnten sie zeigen, dass das Knorpelgewebe der Schweine sowohl der Dicke nach, als auch gemäß der typischen Kollagenverteilung, dem des Menschen sehr stark ähnelt.

Eine Übertragung der gefundenen Ergebnisse ist deshalb natürlich nicht 1:1 möglich. Jedoch eignet sich das Knorpelgewebe aufgrund seiner hohen Vergleichbarkeit durchaus zur Erforschung der Pathologien am menschlichen Knorpel. Somit müssen die hier aufgezeigten Ergebnisse in der Entstehungspathologie der O. D. beim Menschen Beachtung finden. Insbesondere die Möglichkeit zur Erforschung der frühen histopathologischen Veränderungen der O. D. ist anhand eines Tiermodells gegeben.

Ausgehend von den bisherigen Ergebnissen, insbesondere dieser Versuchsreihe mit Zuchtschweinen, ohne die o. g. diversen Beeinflussungen der vorangegangenen Untersuchungen, kann ein neues Verständnis der Entstehung der O. D. im Kindesalter gelingen.