

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>11</b>
1.1	Hyaliner Gelenkknorpel	13
1.2	Gelenkschäden	15
1.2.1	Medikamentöse Behandlung von Gelenkschädigungen	16
1.2.2	Chirurgische Behandlungen von Gelenkschädigungen	17
1.2.3	Autologe Chondrozytentransplantation (ACT) bei Gelenkschädigungen	20
1.2.4	Möglichkeiten des Tissue Engineerings bei Gelenkschädigungen	22
1.2.4.1	Trägermaterialien	25
1.2.4.2	Ingenieurstechnische Ansätze zur Stimulierung der Matrixsynthese	27
1.3	Konzept des Forschungsvorhabens zur Herstellung von dreidimensionalen Knorpel-Träger-Konstrukten	31
1.4	Zielsetzung und Inhalte dieser Arbeit	33
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>34</b>
2.1	Zellkulturen	34
2.2	Medium	36
2.3	Trägermaterial	37
2.4	Analytik	39
2.4.1	Zellzahlbestimmung vor Beginn der Kultivierung	39
2.4.2	Zellzahlbestimmung nach Ende der Kultivierung	39
2.4.3	Bestimmung von Matrixbestandteilen	41
2.4.4	Histologische Schnitte	43
2.4.5	Biomechanische Untersuchung	46

2.4.6	Bestimmung der Knorpelmasse	47
2.4.7	Durchführung der Tierversuche	48
2.5	Statistische Auswertung	49
<b>3</b>	<b>ENTWICKLUNG VON KULTIVIERUNGSSTRATEGIEN UND BIOREAKTORSYSTEMEN</b>	<b>50</b>
3.1	Biochemische Analyse von nativem Schweineknorpelgewebe als Referenz	53
3.2	Prinzip und Ausrüstung der statisch unbelasteten Kultivierung	54
3.3	Statisch unbelastete Kultivierungen	57
3.3.1	Kultivierungskonzept „Switch-Technik“	57
3.3.2	Kultivierungskonzept „reine Chondrogenese“	59
3.3.3	Diskussion der „Switch-Technik“ und der Kultivierung mit „reiner Chondrogenese“ für die statisch unbelastete Kultivierung	60
3.4	Fließkammerreaktor mit indirekter Begasung über das Medium	62
3.4.1	Kultivierungen mit dem Fließkammerreaktor mit indirekter Begasung über das Medium	66
3.4.2	Diskussion der „Switch-Technik“ und der Kultivierung mit „reiner Chondrogenese“ im Fließkammerreaktor mit indirekter Begasung über das Medium	69
3.5	Kultivierungskonzept „Chondronentechnik“	71
3.5.1	Statisch unbelastete Kultivierung mit der „Chondronentechnik“	74
3.6	Fließkammerreaktor mit Oberflächenbegasung	75
3.6.1	Kultivierungen im Fließkammerreaktor mit Oberflächenbegasung mit der „Chondronentechnik“	78

3.6.2	Diskussion der Kultivierungsergebnisse mit der „Chondronentechnik“ für die statisch unbelastete Kultivierungseinrichtung und die Fließkammer mit Oberflächenbegasung	79
3.6.3	Diskussion der Kultivierungsergebnisse mit der „Chondronentechnik“ und der Kultivierung mit „reiner Chondrogenese“ (statisch unbelastete Kultivierung)	80
3.7	Reaktor zur Beaufschlagung mit hydrostatischem Druck	82
3.7.1	Kultivierungen und Diskussion der Ergebnisse mit dem Reaktor zur Beaufschlagung mit hydrostatischem Druck	85
3.8	Abschliessende Beurteilung der Bioreaktor- und Kultivierungsstrategieentwicklung	87
<b>4</b>	<b>TIERVERSUCHSPILOTSTUDIE</b>	<b>89</b>
4.1	Durchführung der Tierversuchspilotstudie	89
4.1.1	Ergebnisse der nicht-implantierten Knorpel-Träger-Konstrukte	92
4.1.2	Ergebnisse der implantierten Knorpel-Träger-Konstrukte	93
4.1.3	Diskussion der Tierversuchspilotstudie	105
<b>5</b>	<b>SIMULATION DER SAUERSTOFFPROFILE</b>	<b>108</b>
5.1	Gleichungen	108
5.1.1	Beschreibung der Diffusion in der Flüssigkeitssäule	109
5.1.2	Beschreibung der Diffusion und des Verbrauchterms im Knorpel-Träger-Konstrukt	110
5.1.3	Rand- und Übergangsbedingungen	110
5.2	Berechnung und Ermittlung der Stoffkonstanten und -daten	111
5.3	Lösung der Gleichungen	112
5.3.1	Darstellung mit dem Crank und Nicholson- Verfahren	113

5.3.2	Umschreiben in Matrixform	118
5.4	Vergleich der drei unterschiedlichen Modellsysteme im Hinblick auf die Sauerstoffversorgung	119
5.4.1	Simulation für die statisch unbelastete Kultivierung (ohne Drucküberlagerung)	120
5.4.2	Simulation für die statisch belastete Kultivierung (Beaufschlagung mit hydrostatischem Druck)	121
5.4.3	Grenzbetrachtungen für eine überströmte Kultur	122
<b>6</b>	<b>UNTERSUCHUNG ZUM EINFLUSS DES SAUERSTOFF-GEHALTES AUF DIE KNORPELSYNTHESE IM FLIEßKAMMERREAKTOR</b>	<b>126</b>
6.1	Makroskopischer Eindruck	127
6.2	Biochemische und makroskopische Versuchsergebnisse	128
6.3	Histologische Dokumentation	133
6.4	Prolin-Analytik	139
6.5	Biomechanische Eigenschaften	140
6.6	Diskussion der Versuche im Fließkammerreaktor zur Sauerstoffoptimierung	142
<b>7</b>	<b>UNTERSUCHUNG ZUM EINFLUSS DES SAUERSTOFF-GEHALTES AUF DIE KNORPELSYNTHESE IN DER STATISCH UNBELASTETEN KULTIVIERUNG</b>	<b>144</b>
7.1	Makroskopischer Eindruck	144
7.2	Biochemische und makroskopische Versuchsergebnisse	146
7.3	Histologische Dokumentation	150

---

7.4	Prolin-Analytik	155
7.5	Biomechanische Eigenschaften	156
7.6	Diskussion der Versuche in der statisch unbelasteten Kultivierung zur Sauerstoffoptimierung	158
7.7	Vergleich der Fließkammerversuche mit den statisch unbelasteten Kultivierungen	159
<b>8</b>	<b>STATISTISCHE AUSWERTUNG</b>	<b>161</b>
8.1	Passageneinfluss	161
8.2	Donoreinfluss	162
8.3	Regressionsanalysen	164
8.3.1	Ergebnisse der Regressionsanalysen	164
<b>9</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>171</b>
<b>10</b>	<b>ANHANG</b>	<b>175</b>
10.1	Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)	175
10.2	Enzymlösungen zur Gewinnung der Chondrozyten	175
10.3	Lösungen Papainverdau	176
10.4	Lösungen DNA-Analyse	176
10.5	Lösungen GAG-Analyse	176
10.6	Lösungen Prolin-Analyse	177
10.7	Lösungen Immunhistologie	177
10.8	Lösungen für die „Chondronentechnik“	177

<b>11</b>	<b>FORMEL- UND ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>178</b>
11.1	Formelzeichen	178
11.2	Indices	178
11.3	Abkürzungen	179
<b>12</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>180</b>