

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Unfallchirurgie und Orthopädie

Direktor Lehrstuhl für Orthopädie
Univ.-Prof. Dr. med. Frank Timo Beil

Chondrokalzinose des Schulter- und Hüftgelenkes – ein hochprävalenter systemischer Prozess, der im Zusammenhang mit der Degeneration des hyalinen Knorpelgewebes steht

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Roland Volker Jebens
aus Höxter

Hamburg 2022

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 14.12.2022**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Michael Amling

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Wolfgang Rüter

Inhaltsverzeichnis

1. EINFÜHRUNG UND ZIELSETZUNG	1
2. EINLEITUNG	4
2.1. KNORPEL	4
2.2. ARTHROSE	7
2.3. BIOMINERALISATION	10
2.4. CHONDROKALZINOSE	11
2.4.1 DEFINITION	11
2.4.2 CALCIUM-PHOSPHAT-KRISTALLE	12
2.4.3. PATHOGENESE VON CALCIUM-PHOSPHAT-KRISTALLEN	13
2.4.4 ASSOZIIERTE ERKRANKUNGEN / KRISTALLARTHROPATHIEN	14
2.4.5. PRÄVALENZ DER CHONDROKALZINOSE	16
2.4.6. SYSTEMISCHES AUFTRETEN DER CHONDROKALZINOSE	17
2.4.7. ZUSAMMENHANG MIT ALTER	17
2.4.8. ZUSAMMENHANG MIT KNORPELDEGENERATION	18
3. MATERIAL UND METHODEN	20
3.1. STUDIENPOPULATION	20
3.2. MATERIALENTNAHME UND –BEARBEITUNG	21
3.2.1. DIGITALE KONTAKTRADIOGRAFIE	23
3.3. HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG	25
3.4. STATISTISCHE ANALYSE	26
4. ERGEBNISSE	28
4.1. PRÄVALENZ VON KALZIFIZIERUNGEN IM HYALINEN KNORPEL	28
4.1.1. PRÄVALENZ IN DER STUDIENPOPULATION	28

4.1.2. PRÄVALENZ IN DEN GELENKEN	28
4.1.3. GESCHLECHTSSPEZIFISCHE PRÄVALENZ	29
4.1.4. ZUSAMMENHANG MIT ARTHROSE	30
4.1.5. ZUSAMMENHANG MIT DEM ALTER	33
4.1.6. ZUSAMMENHANG MIT BMI	34
4.2. QUANTITATIVE ANALYSE DER KALZIFIZIERUNGEN	36
4.2.1. QUANTITATIVER ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DEN GELENKEN	36
4.2.2. QUANTITATIVER ZUSAMMENHANG MIT ARTHROSE	37
4.2.3. QUANTITATIVER ZUSAMMENHANG MIT DEM ALTER	38
4.2.4. QUANTITATIVER ZUSAMMENHANG MIT DEM BMI	39
5. DISKUSSION	41
5.1. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE	41
5.2. LIMITATIONEN	47
6. ZUSAMMENFASSUNG	49
7. ABSTRACT	50
8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	52
9. ABBILDUNGSVERZEICHNIS	54
10. LITERATURVERZEICHNIS	55
11. DANKSAGUNG	64
12. LEBENSLAUF	65
13. ERKLÄRUNG	66

1. Einführung und Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit wird die Prävalenz der Chondrokalzinose als bestehende Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des Schulter- und Hüftgelenkes in einer post-mortem Querschnittspopulation evaluiert. Des Weiteren wird analysiert, ob es sich bei der Manifestation der Kalzifizierung im hyalinen Knorpel um einen systemischen Prozess handelt, ob nur ein mono-/polyartikulärer oder lediglich ein gelenkspezifischer Prozess (isolierte Manifestation nur im Schulter- oder Hüftgelenk) vorliegt. Weiterhin wird der quantitative Zusammenhang zwischen der Menge an Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel der betroffenen Gelenke und dem histologischen Grad der Arthrose, dem Alter und dem BMI untersucht.

Im Allgemeinen werden Kalzifizierungen als Ablagerung von anorganischen Calcium-Phosphat-Kristallen im Gewebe im Rahmen der Biomineralisation definiert (Abhishek und Doherty 2016). Unterschieden werden eutopie und ektope Kalzifizierungen. Bei den eutopen Kalzifizierungen handelt es sich um einen streng kontrollierten physiologischen Prozess (Speer und Giachelli 2004) bei dem in vivo Calcium-Phosphat-Kristalle gebildet und in eine organische Matrix eingelagert werden (Dorozhkin 2011). Im menschlichen Körper kommt dieser hochspezialisierte Prozess nur in der Wachstumsfuge, den Zähnen und im Knochen vor (Zhang et al. 2011). Demgegenüber sind ektope Kalzifizierungen stets pathologisch (Schinke et al. 1999) und finden sich beispielsweise in Blutgefäßen (Boström 2016; Mönckeberg 1903; Sage et al. 2010) oder im zentralen Nervensystem (Rózyło-Kalinowska et al. 2002), können aber potentiell im gesamten Organismus auftreten (Couri et al. 2005). Sie führen im Verlauf zu einem Funktionsverlust des betroffenen Gewebes, wie z.B. bei der vaskulären Kalzinose (Sage et al. 2010), der Nephrokalzinose (Mulay und Anders 2017) oder der Sklerodermie (Valenzuela und Chung 2015) und können die Manifestation von Krankheiten begünstigen. Die ektope Einlagerung von Calcium-Phosphat-Kristallen im Knorpelgewebe wird als Chondrokalzinose bezeichnet (Zitnan und Sit'Aj 1963). Laut der European League Against Rheumatism (EULAR) wird die Chondrokalzinose als kein eigenständiges Krankheitsbild, sondern lediglich als eine radiologische oder histologische Darstellung von Kalzifizierungen im Knorpelgewebe definiert (Zhang et al. 2011), wobei keine Unterscheidung zwischen den verschiedenen Knorpelgeweben erfolgt.

In den letzten Jahren wurden Kalzifizierungen sowohl im hyalinen Knorpel von arthrotisch destruierten Gelenken (Fuerst et al. 2009a; Mitsuyama et al. 2007) als auch im intakten Gelenkknorpel detektiert (Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2018). Dabei divergiert die angegebene Prävalenz von Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel und unterscheidet sich abhängig von der in der jeweiligen Studie genutzten Methode zur Detektion von Kalzifizierungen (Abhishek und Doherty 2016). Mit konventionell-radiologischen Methoden (Röntgen, Magnetresonanztomographie und Computertomographie) wird eine Prävalenz der Chondrokalzinose im Kniegelenk mit 7-8,5% (Zhang et al. 2011) und in der Hüfte mit 3,5% angegeben (Ramonda et al. 2009). Als sensitivste Methode zum Nachweis von Kalzifizierungen gilt jedoch die digitale Kontaktradiografie (DCR) (Abreu et al. 2004), die eine hohe Auflösung aufweist und Kalzifizierungen bereits im Mikrometerbereich nachweisen kann.

So wird mithilfe der DCR eine deutlich höhere Prävalenz der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel beschrieben. Mitsuyama et al. (2007) konnten Kalzifizierungen in 100% der arthrotisch veränderten Kniegelenke detektieren. Hawellek et al. (2016a) wiesen Kalzifizierungen in 94,3% der Kniegelenke, in 96,6% der Hüftgelenke und in 98,9% der Schultergelenke nach (Hawellek et al. 2016b). Ein Nachteil der DCR ist jedoch, dass sie nur ex vivo angewendet werden kann.

Ob es sich bei dem Prozess der Kalzifizierung um einen lokalen, streng monoartikulären Prozess handelt, Kalzifizierungen nur ein spezifisches Gelenk betreffen oder sogar polyartikulär oder systemisch auftreten ist weiterhin Gegenstand von Diskussionen. Bisherige Studien konnten Hinweise für einen systemischen Prozess liefern. Neame et al. (2003) und Ramonda et al. (2009) konnten mittels konventionellem Röntgen zeigen, dass Kalzifizierungen im Kniegelenk in 71,4% bzw. 72% bilateral auftreten. Hawellek et al. (2016a) konnten Kalzifizierungen im Hüft- und Kniegelenk bilateral detektieren und eine simultane Manifestation (69%) aller vier untersuchten Gelenke nachweisen. Bei den in den Studien untersuchten Gelenken handelt es sich jedoch stets um lasttragende Gelenke (Hüfte, Knie). Studien zur Analyse der Manifestation der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel zwischen einem lasttragenden und nicht-lasttragenden Gelenk liegen bis dato nicht vor. Des Weiteren liegen keine Untersuchungen zum Einfluss von verschiedenen Faktoren wie z.B. dem Alter, dem histologischen Grad der

Arthrose oder des BMI, der als zusätzlicher mechanischer Faktor angesehen werden kann, vor. Zwar zeigen einige epidemiologische Studien den Zusammenhang zwischen Alter und Knorpelkalzifizierungen (Mitsuyama et al. 2007; Ramonda et al. 2009), in anderen Studien konnte dieser Zusammenhang nach zusätzlicher Adjustierung für den histologischen Grad der Arthrose nicht mehr nachgewiesen werden (Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2018a).

Andere Studien konnten nachweisen, dass sich im Knorpel arthrotisch degenerierter Gelenke stets Kalzifizierungen nachweisen lassen (Fuerst et al. 2009a; Mitsuyama et al. 2007) und die Menge der Kalzifizierungen mit dem Grad der Arthrose zusammenhängt (Fuerst et al. 2009c). Kalzifizierungen konnten zudem in intaktem Knorpel nachgewiesen werden (Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2018). Da Calcium-Phosphat-Kristalle biochemische und biomechanische Eigenschaften aufweisen, die zu einer Degradation des Knorpels führen (McCarthy et al. 2001; Roemhildt et al. 2012; Roemhildt et al. 2014), könnten sie daher als pathophysiologischer Prozess angesehen werden, welcher einer Manifestation der Arthrose vorausgeht. Allerdings ist bis heute weder der Mechanismus, der zur Kalzifizierungen des Gelenkknorpels führt, noch der Zusammenhang mit der Arthrose hinreichend geklärt.

Um diesen komplexen Zusammenhang weiter zu beleuchten, ist es daher sinnvoll zu verstehen, ob und wie Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel von mechanisch belasteten Gelenken und in nicht-belasteten Gelenken wie dem Schultergelenk auftreten und ob weitere Einflussfaktoren wie z.B. das Alter und der BMI eine Rolle spielen.

Daher war das Ziel dieser post-mortem Studie, die Prävalenz und die Menge an Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des Schulter- und Hüftgelenkes mit einer hochauflösenden digitalen Kontaktradiographie zu untersuchen sowie den Zusammenhang zwischen Alter, BMI und Degeneration des Knorpelgewebes zu eruieren. Zudem sollen potentielle Unterschiede in der Manifestation der Kalzifizierungen des Knorpels zwischen dem nicht-lasttragenden Schultergelenk und dem lasttragenden Hüftgelenk detektiert werden. Ein weiterer Fokus liegt auf der Analyse, ob es sich bei der Kalzifizierung des Knorpelgewebes um einen lokalen (monoartikulären) oder um einen polyartikulären, systemischen Prozess handelt.

2. Einleitung

2.1. Knorpel

Der Knorpel ist eine spezifische Form des mesenchymalen Bindegewebes, welcher zusammen mit den Knochen zu den Stützgeweben zählt. Im menschlichen Körper findet sich Knorpelgewebe z.B. als hyaliner Überzug von Knochen oder als Faserknorpel des Meniskus oder des acetabulären oder glenoidalen Labrums in Gelenken (Diarthrosen), im Respirationstrakt, in der Ohrmuschel, dem Innenohr, dem Nasenskelett, den Zwischenwirbelscheiben und den Rippenansätze, bei Kindern und Jugendlichen außerdem in den Wachstumsfugen (Krishnan und Grodzinsky 2018).

Das Knorpelgewebe besteht aus spezialisierten Zellen, den Chondrozyten, die die Knorpelmatrix bilden. Die synthetisierte Knorpelmatrix besteht hauptsächlich aus Kollagen, Hyaluronsäure und Proteoglycanen (Becerra et al. 2010). Das häufigste Kollagen ist Kollagen Typ II, welches in Fasern organisiert ist, jedoch kommen auch weitere Kollagene (Typ III, VI, IX, X, XI, XII und XIV) in der Knorpelmatrix vor (Eyre 2002). Das am häufigsten vorkommende Proteoglycan ist Aggrecan, welches Multimere bildet, die über die Keratan- und Chondrotinsulfatketten in der Lage sind, Wasser zu binden und somit wesentlich zur Druckelastizität des Knorpels beitragen (Decker et al. 2015).

Allgemein wird zwischen drei verschiedenen Knorpeltypen, dem hyalinen, dem elastischen Knorpel sowie dem Faserknorpel, unterschieden. Dem Thema dieser Arbeit entsprechend wird im Folgenden nur auf den hyalinen Knorpel eingegangen. Hyaliner Knorpel kommt im Nasenskelett, im Rippenknorpel sowie in den Knorpelspannen der Atemwege vor. Hauptsächlich kommt der hyaline Knorpel jedoch in den Gelenken (Diarthrosen) vor, wo er als Knorpelgewebe die artikulierenden Flächen der Knochenenden überzieht und sich makroskopisch betrachtet milchglasartig darstellt. Ausgereifter hyaliner Gelenknorpel ist gefäß- und nervenfrei, sodass die Ernährung zu einem großen Teil über Diffusion aus der Gelenkflüssigkeit (Synovia) erfolgt (Muir 1995). Er setzt sich zu 1-10% des Volumens aus Chondrozyten zusammen. Die Chondrozyten des hyalinen Knorpels bilden Chondrone aus zwei bis sechs Zellen, welche von der basophilen Matrix umgeben sind. Die extrazelluläre Matrix besteht hauptsächlich aus Kollagen Typ II

und aus sulfatierten Proteo- und Glykosaminoglykanen, die Wasser (bis zu 80% des Volumens) binden (Sulzbacher 2013; Knudson und Knudson 2001) und somit den Wassergehalt des Knorpels steuern. Im Wesentlichen sind sie für die biomechanischen Eigenschaften des Knorpels verantwortlich.

Mikroskopisch gliedert sich hyaliner Knorpel in eine dünne oberflächliche Tangentialfaserschicht (10-15% der Dicke), eine mittlere (40-60% der Dicke), eine tiefe Schicht (etwa 30% der Dicke) und in eine Kalzifizierungsschicht, die im gesunden Gewebe klar voneinander abgrenzbar sind (Pritzker et al. 2006), da sie sich von der Anordnung der Chondrozyten in den verschiedenen Schichten unterscheiden (Poole et al. 2001) (s. Abbildung 1).

In der Tangentialfaserschicht sind die Chondrozyten dicht und parallel zur Oberfläche angeordnet und von einem dichten Netz parallel verlaufender Kollagenfibrillen umhüllt. Die oberflächliche Schicht weist eine extrem hohe Festigkeit auf und stellt die wichtigste Schicht zur Kompensation vor allem der Scher- und Zugkräfte dar.

Die darunter liegende mittlere Zone weist typische morphologische Merkmale auf. Charakteristisch ist eine geringere Dichte an Chondrozyten, die deutlich hypertrophiert in eine extrazelluläre Matrix eingebettet sind, die wiederum reich an Proteoglykanaggregaten ist. Auch die Kollagenfasern weisen in dieser Schicht einen größeren Durchmesser auf, wobei sie nicht mehr streng parallel organisiert sind.

In der tiefen Schicht findet sich die niedrigste Dichte an Chondrozyten, sie weist jedoch den höchsten Proteoglykangehalt und die größte Dicke an Kollagenfibrillen auf. Diese Schicht ist hauptsächlich verantwortlich für die Kompensation der Druckbelastung.

Die Kalzifizierungszone befindet sich als unterste Schicht zwischen dem Knorpel und dem darunter liegendem subchondralem Knochen. Die Chondrozyten erreichen in dieser Schicht einen Differenzierungsgrad, der der enchondralen Ossifikation entspricht und sind für die Kalzifizierung dieser Schicht und somit für die mechanische Kopplung mit dem subchondralen Knochen verantwortlich. Auch die Kollagenfasern sind in der Kalzifizierungszone verankert und weisen somit eine strukturelle Verbindung mit dem subchondralen Knochen auf.

Die Zusammensetzung und der histologische Aufbau des hyalinen Knorpels sind für die biomechanischen Eigenschaft des Knorpels und die Kompensation hoher

Belastungen verantwortlich. So lastet auf dem Knorpel des Hüftgelenks beim Stehen ein Spitzendruck von bis zu 100bar (Afoke et al. 1987). Hyaliner Knorpel ist äußerst widerstandsfähig gegenüber derartigen Belastungen, jedoch nicht regenerationsfähig. Im adulten Menschen findet unter physiologischen Bedingungen keine Zellteilung der Chondrozyten mehr statt (Muir 1995). Eine Reparatur des Knorpels ist somit nicht möglich, sodass durch Fissuren oder größere Verletzungen des Knorpels die Entstehung der Arthrose begünstigt werden kann (Becerra et al. 2010).

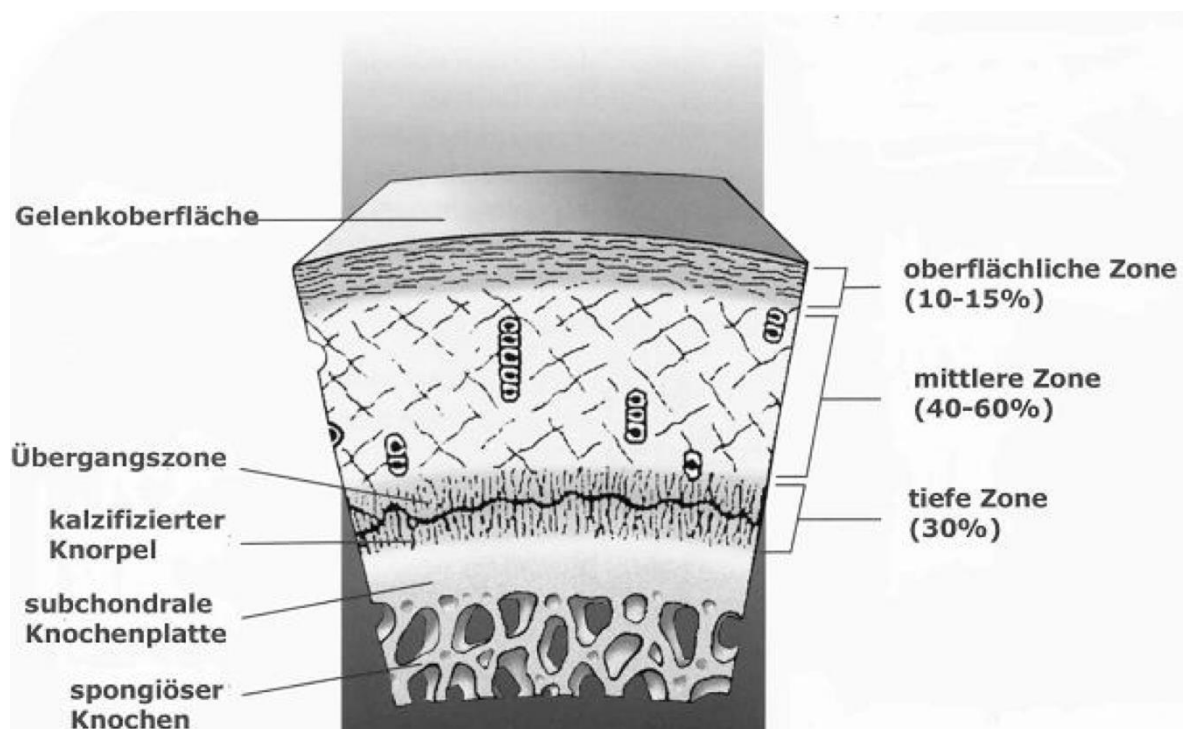


Abbildung 1: Histologischer Aufbau des hyalinen Knorpels (nach Minas und Nehrer 1997).

2.2. Arthrose

Die Arthrose (Arthrosis deformans, englisch Osteoarthritis) ist eine Gelenkerkrankung, die sich durch die irreparable Degeneration des hyalinen Gelenkknorpels manifestiert. Epidemiologisch und volkswirtschaftlich betrachtet ist die Arthrose eine bedeutsame Erkrankung (March und Bachmeier 1997). Sie betrifft in etwa zwei Drittel aller Menschen über 60 Jahre (Sulzbacher 2013) und ist weltweit die häufigste Gelenkerkrankung (Bertrand und Pap 2012), wobei sie die häufigste Ursache für eine chronische Einschränkung darstellt (Loeser 2011).

Ätiologisch und pathogenetisch liegen der Arthrose verschiedene Ursachen zugrunde. Daher wird eine Unterteilung in eine primäre und sekundäre Arthrose vorgenommen. Die Ursache der primären Arthrose ist bis dato unbekannt. Ätiologisch werden ein multifaktorielles Geschehen sowie eine Minderwertigkeit des hyalinen Knorpels angenommen, die zu einer verminderten Belastbarkeit und somit zur Degradation der Knorpelmatrix führt (Felson et al. 2000a). Die Entstehung einer sekundären Arthrose ist bedingt durch verschiedene Grunderkrankungen. Unterschieden werden posttraumatische (z.B. durch intraartikuläre Frakturen oder rezidivierende Luxationen) und postinfektiöse Formen (z.B. durch Bakterien oder Pilze) von Arthrosen, die durch angeborene Fehlstellungen oder Gelenkdysplasien (z.B. Impingement, Hüft dysplasie oder Tibia vara), durch eine metabolische Grunderkrankung (z.B. Chondrokalzinose, Hämochromatose, Gicht, Ochronose), durch avaskuläre Nekrosen (z.B. M. Perthes) oder chronisch-entzündliche Gelenkerkrankungen (z.B. Rheumatoide Arthritis, Spondylarthritis) oder bei Gerinnungsstörungen (z.B. Hämophilie A, B) zustande kommen (Felson et al. 2000a).

Zahlreiche Risikofaktoren sind identifiziert worden, die die Entstehung einer Arthrose begünstigen können. Der wichtigste Risikofaktor ist das Alter, wobei die Prävalenz der Arthrose bei Menschen über 75 Jahre auf über 40% steigt (Felson 1988). Die genauen Zusammenhänge zwischen dem Alter und der Entstehung einer Arthrose sind jedoch nicht bekannt. Als potentielle Ursachen werden Zellen angenommen, die den „senescence-associated secretory phenotype“ (SASP) ausbilden. Diese Zellen produzieren Zytokine und Matrix-Metalloproteinasen, die mit Schäden am mitochondrialen Erbgut und der zunehmenden Produktion von Sauerstoffradikalen zusammenhängen könnten (Loeser 2011). Die Zunahme der

Sauerstoffradikale könnte zur Folge haben, dass die Chondrozyten nicht mehr adäquat auf IGF-1 (Insulin-like growth factor 1) reagieren, welcher ein wichtiger Botenstoff für das Wachstum und die Erhaltung von Knorpelgewebe ist, da er Mitose, Zellmigration, Zellüberleben und die Proteinbiosynthese positiv beeinflusst (Yin et al. 2009).

Ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung einer Arthrose ist Übergewicht. In zahlreichen Studien konnte ein negativer Einfluss des Übergewichtes auf die Entstehung einer Gonarthrose, aber auch auf die Arthrose der Hand (Reyes et al. 2016; Felson 1996) belegt werden. Dabei werden lokale und systemische Einflüsse des Übergewichts unterschieden. Als lokaler Faktor kommt insbesondere die erhöhte mechanische Belastung des Gelenks in Betracht. Ein Hinweis auf systemische Faktoren des Übergewichts bietet die Tatsache, dass übergewichtige Patienten ein erhöhtes Risiko für Arthrose der Fingergelenke haben, ohne dass diese einer erhöhten Kraftübertragung aufgrund des Übergewichts ausgesetzt wären. In Frage kommen hier Zytokine und Hormone (Felson 1996). Lübbecke et al. (2009) konnten belegen, dass eine Zunahme des Gewichts mit einer Verschlechterung der Symptomatik ohne korrelierenden radiologischen Progress der Arthrose einhergeht, und vermuteten einen durch das Übergewicht bedingten niedriggradigen Entzündungsprozess, der zu einer fortschreitenden Knorpeldestruktion führt. Dieser Zusammenhang wurde auch von Sturmer et al. (2004) beschrieben, die zusätzlich nachweisen konnten, dass ein erhöhtes hochsensitives C-reaktives Protein (hsCRP) zu einer Verschlechterung der Schmerzsymptomatik bei Cox- und Gonarthrose führt. Gandhi et al. (2010) wiesen nach, dass übergewichtige Arthrosepatienten früher eine endoprothetische Versorgung des Knie- und Hüftgelenkes benötigen als normalgewichtige Patienten. Ein Zusammenhang zwischen Übergewicht und Arthrose des Schultergelenks ist in der Literatur nicht beschrieben. Epidemiologische Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen BMI und Omarthrose finden (Kobayashi et al. 2014; Oh et al. 2011).

Weitere häufig diskutierte Risikofaktoren für die Ausbildung einer Arthrose sind: Genetische Prädisposition (Suszeptibilitätsgene) (Spector et al. 1996a), Fehlernährung, zum Beispiel zu niedrige Aufnahme von Vitamin C (McAlindon et al. 1996), repetitive mechanische Überbelastung der Gelenke oder Muskelschwäche (Felson et al. 2000a) sowie intensive, langjährige Ausübung von Sportarten mit

hoher mechanischer Spitzenbelastung, wie Laufen (Spector et al. 1996b; Marti et al. 1989) oder Fußball (Lindberg et al. 1993; Kujala et al. 1995). Hierbei scheint eher die Dauer der Ausübung der Sportart, als die Häufigkeit des Trainings in diesem Zeitraum von Bedeutung zu sein (Spector et al. 1996b).

Die Diagnostik der Arthrose beruht auf einer ausführlichen Anamnese und dem klinischen Bild. Patienten, die an einer Cox- oder Omarthrose leiden, berichten typischerweise über einen Schmerz bei Aufnahme der Belastung sowie im fortgeschrittenen Stadium über chronische Belastungs-/Bewegungsschmerzen und Funktionseinschränkungen des Gelenkes. Stärkere oder längere Belastungen können zur Schmerzexazerbation und Immobilisation führen. Im Endstadium der Erkrankung kommt meist ein Ruhe- oder Nachtschmerz hinzu.

Goldstandard der apparativen Diagnostik ist das Röntgenbild des Gelenkes in zwei Ebenen. Je nach Fortschritt der Erkrankung können pathologische radiologische Veränderungen des Gelenkes auftreten. Zu diesen zählt die Gelenkspaltverschmälerung, die als Ausdruck des Knorpelverlusts gesehen wird, die Osteophytenbildung, subchondrale Sklerosierung sowie die Ausbildung von Geröllzysten. Die radiologischen Veränderungen der Arthrose korrelieren jedoch nicht mit der Klinik des Patienten. So können radiologische Zeichen der Arthrose ohne jegliche Symptome vorliegen, sodass die Diagnose der Arthrose im Wesentlichen klinisch gestellt wird und das Röntgenbild die klinische Diagnose bestätigt.

Bis heute gibt es keine kausale Therapie der primären Arthrose. Die vorhandenen Therapien sind darauf ausgerichtet, die Symptome zu lindern, sowie die Funktion der betroffenen Gelenke und damit Mobilität und Lebensqualität zu erhalten (Felson et al. 2000b).

2.3. Biomineralisation

Unter dem Begriff der Biomineralisation versteht man die Bildung von Mineralen durch Vorgänge in lebenden Organismen (Dorozhkin 2011). Die dabei entstehenden Minerale können kristallin oder amorph sein. Im Gegensatz zu amorphen Mineralen, die keine geordneten Strukturen und ein unregelmäßiges Muster aufweisen, zeigen kristalline Minerale eine regelmäßige Anordnung und weisen eine periodisch wiederkehrende Struktur auf (Borchardt-Ott 2009). Eine Unterform der Biomineralisation ist die Kalzifizierung, bei der Calcium-Phosphate abgelagert werden.

Die Vorgänge, die zur Kalzifizierung führen, sind divers. Sie reichen von einfachen diffusen Ausfällungsreaktionen bis hin zu komplexen streng kontrollierten Vorgängen wie z.B. der Ossifikation, bei der das anorganische Hydroxylapatit in das organische Osteoid eingebettet wird (Dorozhkin 2011). Aus pathophysiologischer Sicht lassen sich Mineralisationsvorgänge in eutope und ektope Kalzifizierungen einteilen. Eine eutope Kalzifizierung ist physiologisch und findet in vivo nur in drei verschiedenen Arten von Geweben (Zähne, Knochen und Wachstumsfuge) statt (Zhang et al. 2011). Dagegen findet eine ektope Kalzifizierung an Orten statt, die genetisch nicht dafür vorgesehen sind und spiegelt grundsätzlich einen pathologischen Vorgang wider (Schinke et al. 1999). Ektope Kalzifizierungen können im gesamten Organismus auftreten. Langfristig führen sie zu einem Funktionsverlust des betroffenen Gewebes und tragen somit zur Entstehung von Erkrankungen bei (Couri et al. 2005). Klinische Beispiele für pathologische ektope Kalzifizierungen findet man im Rahmen einer vaskulären Kalzinose von Blutgefäßen (Mönckeberg 1903; Boström 2016), dem zentralen Nervensystem wie z.B. beim Morbus Fahr, bei dem es zu einer Kalzifizierung der Basalganglien des Gehirns kommt (Rózyło-Kalinowska et al. 2002), oder der Niere im Rahmen einer Nephrokalzinose (Mulay und Anders 2017). Des Weiteren kann eine ektope Kalzifizierung im Knorpelgewebe auftreten (Zhang et al. 2011), die im klinischen Alltag als Chondrokalzinose bezeichnet wird.

2.4. Chondrokalzinose

2.4.1 Definition

Die Chondrokalzinose wird als histologische oder radiologische Darstellung von ektopen Kalzifizierungen im Knorpelgewebe definiert (Zhang et al. 2011). Diese rein deskriptive Definition unterscheidet weder die Art der eingelagerten Calcium-Phosphat-Kristalle noch die Art des Knorpelgewebes (Faserknorpel oder hyaliner Knorpel). Zwar konnten einige Faktoren, wie z.B. Änderungen in der Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix (z.B. Kollagentypen) oder in der Expression von Genen mit konsekutivem Ungleichgewicht zwischen inhibierenden/promineralisierenden Faktoren (Albumin, MGP, OPG, Fetuin), aber auch thermodynamische Prozesse und Änderungen im pH-Wert identifiziert werden (Ea et al. 2011), der exakte Pathomechanismus der zur Kalzifizierung des Knorpelgewebes führt, ist bis dato jedoch unbekannt.

Entscheidend für die Entstehung der Kalzifizierungen im Knorpelgewebe ist das Verhältnis zwischen Phosphat und Pyrophosphat. Den Chondrozyten wird dabei eine wesentliche Rolle zugeschrieben, da diese mit Regulator-Molekülen für die Homöostase des Phosphat/Pyrophosphat-Stoffwechsels (nichtgewebsspezifische alkalische Phosphatase (TNAP), Ektonukleotidpyrophosphatase-1 (ENPP-1) und dem transmembranständigen Transportprotein ankylosis human (ANKH)) ausgestattet sind (Ea et al. 2011) und diese in Matrixvesikeln, die in direkter Nähe von kalzifiziertem Knorpelgewebe detektiert werden konnten, sezernieren (Golub 2011).

Bei den Kalzifizierungen im Knorpelgewebe konnten im Wesentlichen zwei Gruppen von Calcium-Phosphat-Kristallen identifiziert werden: Calciumpyrophosphat-Dihydrat (CPPD) und basisches Calciumphosphat (BCP). Dabei wird die Ablagerung von CPPD und BCP durch das lokale Verhältnis von Phosphat und Pyrophosphat in der extrazellulären Matrix beeinflusst (Thouverey et al. 2009). Steigendes organisches Phosphat führt zur Bildung von BCP, steigendes Pyrophosphat zu CPPD (Fuerst et al. 2009b). Somit spielt die Homöostase des Pyrophosphat-Stoffwechsels eine entscheidende Rolle.

2.4.2 Calcium-Phosphat-Kristalle

Calciumpyrophosphat-Dihydrat

Calciumpyrophosphat-Dihydrat (CPPD) ist ein nicht-wasserlösliches Calciumsalz mit Pyrophosphat-Anion ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$). In der Lichtmikroskopie mit einem Polarisationsfilter erscheinen sie als 1–20 μm große, rhomboide Kristalle mit doppelbrechenden Eigenschaften. CPPD-Kristalle entstehen in vivo durch eine Erhöhung der Pyrophosphat-Konzentration (PPi) in der extrazellulären Matrix. Dies kann bedingt sein durch eine Transforming Growth Factor beta (TGF- β) induzierte Hyperexpression der ENPP1 in Matrixvesikeln von Chondrozyten (Fuerst et al. 2009b). Daraus resultiert eine vermehrte Aktivität der Nukleosidtriphosphat-Pyrophosphohydrolase mit der Folge einer gesteigerten Hydrolyse von Nukleosidtriphosphaten und somit einer vermehrten Freisetzung von PPi (Fuerst et al. 2009b). Des Weiteren führt ein Defekt im ANKH-Gen, welches den Transport von produziertem PPi in die extrazelluläre Matrix kontrolliert, zu einer vermehrten Durchlässigkeit der Zellmembranen, sodass es zu einer erhöhten extrazellulären PPi-Konzentration und damit zur Entstehung von CPPD-Kristallen kommt (Fuerst et al. 2009b).

Basisches Calciumphosphat

Die basischen Calciumphosphate (BCP) sind eine Gruppe von verschiedenen Mineralen. Der größte Anteil dieser ultramikroskopischen Kristalle besteht aus Hydroxylapatit. Dazu kommen seine beiden Vorläufer, das Tricalcium- und das Oktacalciumphosphat, jedoch in weitaus geringeren Mengen. Sie sind in der Polarisationsmikroskopie nicht doppelbrechend und wesentlich kleiner als CPPD-Kristalle (10-100nm). Als Konglomerate erreichen sie eine Größe bis zu 20 μm . Diese können in betroffenem Gewebe sowohl histologisch, als auch radiologisch mittels digitaler Kontaktradiografie nachgewiesen werden (MacMullan et al. 2011). Eine Darstellung mit konventionell-radiologischen Methoden ist nicht möglich (Abreu et al. 2004). Der Mechanismus der Entstehung von BCP ist bis heute nicht vollständig geklärt. Neben Chondrozyten scheinen Matrixvesikel mit membranständiger alkalischer Phosphatase eine entscheidende Rolle zu spielen. Diese hydrolysiert extrazelluläres PPi zu anorganischem Phosphat welches sich mit Kalzium (Ca^{2+}) verbindet und somit die Entstehung von BCP-Kristallen begünstigt (Fuerst et al. 2009b).

2.4.3. Pathogenese von Calcium-Phosphat-Kristallen

Sowohl CPPD- als auch BCP-Kristalle können zu einer Degradation der Knorpelmatrix führen (McCarthy et al. 2001; Roemhildt et al. 2012).

Einerseits führen Calcium-Phosphat-Kristalle durch Herabsetzung der Druckelastizität zu einer direkten Veränderung der biomechanischen Funktion des Knorpels (Roemhildt et al. 2012) und konsekutiv über eine erhöhte Reibung zur Degradation (Olmez und Schumacher 1999; Roemhildt et al. 2014). Andererseits zeigen Calcium-Phosphat-Kristalle Auswirkungen auf den Stoffwechsel des Knorpels. Sie induzieren die Mitogenese, erhöhen die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie dem Interleukin-1 β (IL-1 β), dem Tumornekrosefaktor α (TNF α) oder dem Prostaglandin E2 (PGE2), aktivieren verschiedene Matrixmetalloproteinasen (MMP) und erhöhen die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) in Chondrozyten was wiederum zu einer Apoptose der Zellen führt (Ea und Lioté 2009). Die erhöhte Produktion von IL-1 β kann sowohl abhängig als auch unabhängig von NALP3 (NACHT, LRR and 12 PYD domains-containing protein 3), einem Bestandteil des Inflammasoms erfolgen (Narayan et al. 2011; Pazár et al. 2011). Erhöhtes IL-1 β und TNF α führen zu verminderter Expression der ENPP-1. Dadurch sinkt die extrazelluläre PPI Konzentration, welche wiederum die Entstehung von BCP-Kristallen begünstigen kann. Somit wird die Entzündungsreaktion im Gelenk weiter unterhalten, was wiederum einen Einfluss auf den Progress einer Arthrose haben kann (Bertrand et al. 2012). Auf der anderen Seite konnten Ea et al. (2013) im Mausmodell zeigen, dass eine intraartikuläre Injektion von Calcium-Phosphat-Kristallen auch unabhängig von IL-1 und NALP3 zu einer Synovialitis und Degradation der Knorpelmatrix führen kann. Eine weitere wichtige Rolle kommt dem Interleukin-6 (IL-6) zu. Nasi et al. (2016) zeigten, dass IL-6 über die vermehrte Expression des Kalziumkanals Annexin5, des Pyrophosphat-Kanals ANKH sowie des Natrium/Phosphat-Kotransporters Pit1 (Sodium-dependend phosphate transporter 1) die Bildung von BCP-Kristallen fördert, und umgekehrt BCP die Expression von IL-6 verstärkt.

Aufgrund dieser Zusammenhänge wird davon ausgegangen, dass Calcium-Phosphat-Kristalle die Entstehung einer Arthrose begünstigen können und einen Einfluss auf den Verlauf einer Arthrose haben (Ea et al. 2011; Conway und McCarthy 2018; Stack und McCarthy 2016), wobei der kausale Zusammenhang bis heute nicht belegt ist (Zhang et al. 2011).

2.4.4 Assoziierte Erkrankungen / Kristallarthropathien

Der Begriff Kristallarthropathie beschreibt eine Gruppe von Erkrankungen, die mit einer Ablagerung von Kristallen und langfristig mit einer Destruktion der synovialen Gelenke einhergehen, sich jedoch im Hinblick auf Ätiologie, Pathogenese und Symptomatik unterscheiden. Es sind verschiedene Kristalle bekannt, die mit jeweils eigenen Krankheitsbildern assoziiert sind: Calciumpyrophosphatdihydrat (CPPD), basische Calciumphosphate (BCP), Harnsäurekristalle (N-Methyl-N-nitrosoharnstoff, MNU) und Calciumoxalate (CO). Harnsäurekristalle verursachen die häufigste Arthritis, die Gichtarthritis (Arthritis urica) (Fuerst et al. 2011), CPPD die CPPD-Kristallarthropathie (CPPD-KA), Calciumoxalate die Oxalose, BCP die Tendinosis calcarea und weitere periartikuläre Kalzifizierungen im Rahmen der Arthrose (Fuerst et al. 2009b). Generell kann die Bildung von CPPD-Kristallen in allen Geweben des Gelenkes (Synovia, Synovialis, hyaliner Knorpel, Faserknorpel) auftreten. So lassen sich Kristalle im Faserknorpel wie z.B. den Menisken oder im hyalinen Knorpel nachweisen, seltener in Sehnen oder der Gelenkkapsel (Fuerst et al. 2009b). Im Folgenden soll nur auf die assoziierten Erkrankungen, die durch CPPD oder BCP induziert werden, eingegangen werden.

Kalziumpyrophosphatarthropathie (Pseudogicht)

Die Ablagerung von CPPD-Kristallen in einem synovialen Gelenk wird als Kalziumpyrophosphat-(CPPD)-Kristallarthropathie bezeichnet, wobei zwischen einer primären und sekundären Form unterschieden wird. Die seltene primäre CPPD-Arthropathie ist eine hereditäre Erkrankung, der eine Gain-Of-function-Mutation im ANKH-Gen zugrunde liegt (Pendleton et al. 2002). Diese Mutationen führen zu einer Erhöhung des extrazellulären Pyrophosphats (PPi) und konsekutiv zur erhöhten CPPD-Ablagerung. Sekundäre Formen der CPPD-Kristallarthropathie können im Rahmen von metabolischen und endokrinen Erkrankungen wie z.B. dem Hyperparathyreoidismus, der Hypomagnesiämie, der Hämochromatose und der Hypophosphatasie auftreten (Jones et al. 1992).

Nach Rosenthal und Ryan (2005) werden folgende Verlaufsformen der CPPD-Arthropathie unterschieden:

- Typ A: Pseudogicht
- Typ B: pseudorheumatoide Arthritis mit langsamem Verlauf
- Typ C: pseudoarthrotischer Verlauf ohne Entzündung
- Typ D: pseudoarthrotischer Verlauf mit Entzündung
- Typ E: asymptomatischer Verlauf
- Typ F: pseudoneuropathischer Verlauf

Bei der akuten Form (Typ A) kommt es anfallsartig zu Schwellung, Schmerzen und Überwärmung des betroffenen Gelenkes, am häufigsten des Kniegelenkes, gefolgt von der Schulter-, dem Sprung- und Ellenbogengelenk (Zhang et al. 2011). Die klinische Symptomatik der akuten CPPD-Kristallarthropathie ähnelt der Gicht, daher die Bezeichnung als Pseudogicht. Chronische Verläufe ähneln bei systemischem Auftreten, mit bevorzugtem Befall der Hand (insbesondere der Metakarpophalangealgelenke), der rheumatoiden Arthritis (Typ B), bei monoartikulärem Befall der Arthrose (Typ C und D). Die Symptomatik ist milder ausgeprägt als bei der akuten Form, die Symptome (Anlaufschmerz und Belastungsschmerz) sind jedoch über einen längeren Zeitraum präsent. Auch ein asymptomatischer Verlauf (Typ E) ist möglich (Zhang et al. 2011). Bei Typ F handelt es sich um eine Form mit schwerer Gelenkdestruktion. Radiologisch ähnelt das Bild einer Charcot-Arthropathie mit Gelenkdeformitäten und Knochendestruktionen.

BCP-Arthropathie

Assoziiert sind BCP-Arthropathien mit periartikulären Mineralisationen der Sehnen und der Gelenkkapsel, wie der Tendinosis calcarea (Fuerst et al. 2009b) oder der sog. „Milwaukee Shoulder“ (Halverson et al. 1981). Diese gehen klinisch mit einer Bewegungseinschränkung, akuten oder chronischen Schmerzen und Schwellung einher. Des Weiteren konnten BCP-Kristalle regelhaft bei arthrotisch veränderten Gelenken detektiert werden (MacMullan et al. 2011; Fuerst et al. 2010). Der Zusammenhang von Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel und Arthrose ist oft untersucht worden (Fuerst et al. 2009a; Al-Arfaj 2002; Felson et al. 1989). Nguyen et al. (2013) und Mitsuyama et al. (2007) konnten nachweisen, dass sich in arthrotisch veränderten Gelenken immer Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels

nachweisen lassen, wobei die Menge mit dem Schweregrad der klinischen Symptomatik korrelierte (Fuerst et al. 2010). Vor allem beim Nachweis von BCP-Kristallen zeigten Patienten mit einer Arthrose eine schwerere Verlaufsform mit einer ausgeprägten Schmerzsymptomatik und Ergussbildung sowie progredienter Destruktion des Gelenkes (Fuerst et al. 2011).

Ob die BCP-Kristalle die Arthrose induzieren, sie unterhalten oder ein Resultat der Arthrose darstellen, ist bis heute jedoch unklar. Studien konnten zeigen, dass Kalzifizierungen im Knorpel den arthrotischen Veränderungen vorauszu gehen scheinen. So fanden Mitsuyama et al. (2007) Kalzifizierungen in Kniegelenken ohne makroskopisch höhergradige Arthrose. Auch Scotchford et al. (1992) zeigten, dass sich in intaktem Knorpel des Hüftgelenks bereits Kalziumkristalle finden lassen. Hieraus lässt sich die Vermutung ableiten, dass Kalzifizierungen des Knorpels die Entwicklung einer Arthrose vorausgehen, sie eventuell begünstigen oder sogar induzieren können, der pathophysiologische Zusammenhang von Arthrose und Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels ist bis heute jedoch unbekannt.

2.4.5. Prävalenz der Chondrokalzinose

Zur Untersuchung der Prävalenz der Chondrokalzinose wurden bislang vor allem epidemiologische Querschnittsstudien veröffentlicht, bei denen radiologische Standardmethoden, wie konventionelles Röntgen, Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt wurden. Je nach eingesetzter Technik zeigt sich jedoch ein Unterschied in der angegebenen Prävalenz (Abhishek und Doherty 2016). In der Allgemeinbevölkerung ist die Chondrokalzinose am häufigsten im Kniegelenk nachweisbar (7-8,5%) (Zhang et al. 2011). Das Hüftgelenk ist mit bis zu 3,5% (Ramonda et al. 2009), das Handgelenk mit 5-7% (Abhishek et al. 2012; Bergström et al. 1986) betroffen.

Durch die in diesen Studien verwendeten radiologischen Standardmethoden werden Kalzifizierungen jedoch nicht in ihrem Anfangsstadium erfasst, da diese im Nano- bis Mikrometerbereich beginnen. Somit ist der Nachweis mit konventionellen radiologischen Methoden, aufgrund der zu geringen Auflösung, ungeeignet. Daher sind die angegebenen Prävalenzen in den verschiedenen Gelenken in der Allgemeinbevölkerung als zu niedrig anzusehen.

Die sensitivste Methode zur Darstellung von Kalzifizierungen ist die digitale Kontaktradiographie (DCR), die eine deutlich höhere Auflösung aufweist und somit die Darstellung der Kalzifizierungen im Initialstadium ermöglicht (Abreu et al. 2004). Mitsuyama et al. (2007) konnten mittels hochauflösender DCR eine hohe Prävalenz von 100% in ihrem Patientenkollektiv nachweisen (n=106 Kniegelenke von n=56 Patienten). Hawellek et al. (2016a) wiesen Kalzifizierungen in 94,3% der Kniegelenke, in 96,6% der Hüftgelenke und in 98,9% der Schultergelenke nach (Hawellek et al. 2016b). Die tatsächliche Prävalenz der Chondrokalzinose in den verschiedenen Gelenken in der Allgemeinbevölkerung ist bis dato nicht bekannt (Ea und Lioté 2009). Des Weiteren besteht Unklarheit darüber, ob sich Kalzifizierungen in lasttragenden und nicht-lasttragenden Gelenken unterscheiden und ob weitere Faktoren wie z.B. die Körpergröße, die Art und Größe des Gelenks sowie die mechanische Belastung eines Gelenkes, die Entstehung der Kalzifizierungen beeinflusst.

2.4.6. Systemisches Auftreten der Chondrokalzinose

Ob es sich bei der Chondrokalzinose um die Manifestation eines mono- oder polyartikulären oder gar systemischen Prozess handelt, ist nicht bekannt. Zwei Querschnittsstudien konnten mittels konventionellen Röntgenbildern nachweisen, dass die Chondrokalzinose im Kniegelenk (Prävalenz: 7% bzw. 10%) in über 70% bilateral auftritt (Neame et al. 2003; Ramonda et al. 2009). In weiteren Studien wurde gezeigt, dass Kalzifizierungen simultan in Hüft- und Kniegelenken sowie in beiden Schultergelenken auftreten (Hawellek et al. 2016a; Hawellek et al. 2016b). Des Weiteren konnte bei Patienten mit Chondrokalzinose in einem Gelenk signifikant häufiger Kalzifizierungen in anderen Gelenken detektiert werden (Abhishek et al. 2013), sodass zwar Hinweise für eine Prädisposition von mehreren Gelenken in einem Individuum bestehen, die systemische Manifestation mit einem simultanen Auftreten in mehreren Gelenken ist bis heute jedoch nicht bewiesen.

2.4.7. Zusammenhang mit Alter

In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben zum Zusammenhang zwischen dem Alter mit Kalzifizierungen im Knorpel. Das Alter wird laut der European League Against Rheumatism (EULAR) als wichtigster Risikofaktor im

Zusammenhang mit den Kalzifizierungen des Knorpels diskutiert (Zhang et al. 2011). Diese Annahme beruht auf epidemiologischen Studien (Bergström et al. 1986; Mitsuyama et al. 2007; Ramonda et al. 2009; Wilkins et al. 1983), die einen Zusammenhang zwischen Alter und Kalzifizierungen im Knorpelgewebe nachweisen konnten. Andere Studien (Abhishek et al. 2012; Neame et al. 2003; Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2016; Hubert et al. 2018) konnten diesen Zusammenhang nicht bestätigen, sodass hier weitere Untersuchungen notwendig sind.

2.4.8. Zusammenhang mit Knorpeldegeneration

Der kausale Zusammenhang zwischen der Degeneration des Knorpels mit dem Auftreten der Chondrokalzinose wird bis dato kontrovers diskutiert. Zwar konnten einige radiologische Studien einen signifikanten Zusammenhang nachweisen (Neame et al. 2003; Wilkins et al. 1983), auf der anderen Seite konnten Scotchford et al. (1992) und Mitsuyama et al. (2007) hingegen Kalzifizierungen ohne degenerative Veränderungen detektieren. Außerdem besteht in der Literatur Uneinigkeit darüber, ob dieser Zusammenhang möglicherweise nur für bestimmte Gelenke besteht. Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang für das Kniegelenk nachweisen, nicht jedoch für das Hüftgelenk (Abhishek et al. 2012; Abhishek et al. 2013; Abhishek und Doherty 2016; Musacchio et al. 2011; Ramonda et al. 2009). Diese Studien basieren zum einen auf konventionellen radiologischen Untersuchungen, die durch die eingeschränkte Sensitivität keinen sicheren Nachweis der Kalzifizierungen ermöglichen. Zum Anderen besteht bei der Analyse von dreidimensionalen Strukturen, z.B. des Hüftgelenks, auf zweidimensionalen Röntgenbildern das Problem, dass durch die Überlagerung des Femurkopfes mit dem Acetabulum der vollständige Einblick auf den Gelenkknorpel des Hüftkopfes fehlt und daher keine effiziente Analyse der Kalzifizierungen möglich ist. Somit ist der Nachweis von Kalzifizierungen in unmittelbarer Nähe von Knorpelläsionen nicht möglich, was den Unterschied zwischen dem Zusammenhang von Kalzifizierungen mit der Degeneration des Kniegelenkes, jedoch nicht des Hüftgelenkes erklärt.

In den Studien, die einen Zusammenhang zwischen Kalzifizierungen und der Degeneration im Gelenkknorpel nachweisen konnten, wurde jedoch nicht belegt, ob Kalzifizierungen im hyalinen Gelenkknorpel ursächlich für die Entwicklung der

Arthrose sind, oder ob es sich lediglich um eine Begleiterscheinung handelt, die im Rahmen des Arthroseprozesses auftritt. Zwar konnten Fuerst et al. (2009a) mittels hochauflösender digitaler Kontaktradiografie zeigen, dass sich Kalzifizierungen immer bei fortgeschrittener Gon- und Coxarthrose nachweisen lassen, Longitudinalstudien, die den Zusammenhang zwischen Kalzifizierungen und Degeneration des Knorpels sicher belegen könnten, gibt es bis heute nicht. Hinweise, dass Kalzifizierungen dem degenerativen Prozess des Gelenkknorpels vorausgehen konnten in einigen Studien erbracht werden. Mit der hochauflösenden DCR konnten Kalzifizierungen bereits im intakten Knorpel nachgewiesen werden, wobei ein signifikanter Zusammenhang zwischen der steigenden Menge an Kalzifizierungen und dem Anstieg des Schweregrades der Knorpeldegeneration nachgewiesen werden konnte (Fuerst et al. 2009a; Hubert et al. 2016; Hubert et al. 2018; Hawellek et al. 2016a; Hawellek et al. 2016b). Hieraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass das Auftreten der Kalzifizierungen im intakten Knorpel, der Entwicklung einer Arthrose vorausgeht, und Kalzifizierungen durch ihr inflammatorisches Potential sowie durch Änderungen der biomechanischen Eigenschaften einen negativen Einfluss auf den Gelenkknorpel haben und somit möglicherweise die Degeneration induzieren könnten. Der exakte pathophysiologische Zusammenhang von Kalzifizierungen und der Degeneration des hyalinen Knorpels ist jedoch nicht bekannt, sodass diese Hypothese in Zukunft weiter beleuchtet werden muss.

3. Material und Methoden

Die vorliegende post-mortem Querschnittsstudie wurde durch die Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg genehmigt (PV: 4570) und erfolgte gemäß bestehenden Richtlinien der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg. Es wurden insgesamt 172 Schulter- und 172 Hüftgelenke von 86 Verstorbenen im Rahmen einer Sektion im Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf entnommen. Die Daten der Verstorbenen wurden pseudonymisiert und mit einem Code aus Alter, Geschlecht und fortlaufender Probennummer versehen.

3.1. Studienpopulation

In diese Studie wurden 172 Schulter- und Hüftgelenke von 86 Verstorbenen (47 männlich, 39 weiblich) eingeschlossen. Das Durchschnittsalter der Studienpopulation betrug 62.1 Jahre ($SD \pm 19.14$, Altersbereich 20-93). Die Geschlechts- und Altersverteilung nach den Lebensdekaden ist in Abbildung 2 dargestellt. Um eine homogene Studienpopulation analysieren zu können, wurde darauf Wert gelegt, dass jede Lebensdekade vertreten ist.

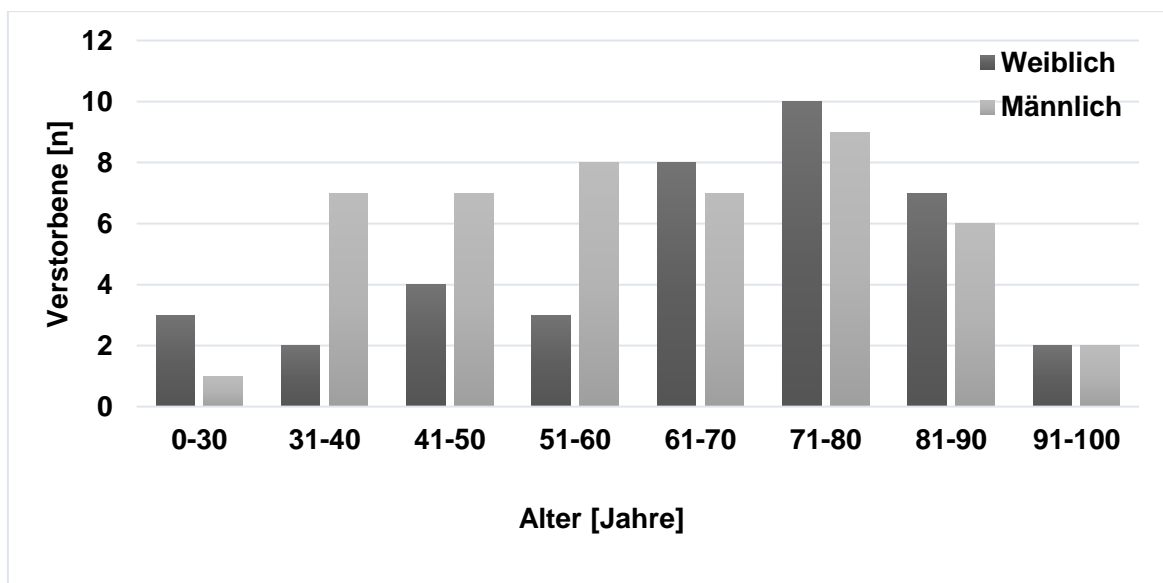


Abbildung 2: Alters- und Geschlechtsverteilung der Studienpopulation.

Ausschlusskriterien waren Hinweise auf vorhergehende Operationen am Hüft- oder Schultergelenk (Narben oder einliegendes Osteosynthesematerial) und eine positive Anamnese für Erkrankungen wie Rheumatoide Arthritis, Hämophilie, Tumorleiden oder Traumata. Es wurden nur Verstorbene eingeschlossen, bei denen beide Schulter- und Hüftgelenke vollständig und intakt vorhanden waren; ein erfülltes Ausschlusskriterium bei einem Gelenk führte zum Ausschluss aller Gelenke. Als biometrische Daten wurden das Alter, Körpergröße und Gewicht sowie der BMI erfasst. Der BMI dient hierbei als relatives Maß für die mechanische Belastung. Die biometrischen Daten der Studienpopulation sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Biometrische Daten der Studienpopulation (n=86).

	Mittelwert	SD	Bereich
Alter (Jahre)	62.1	19.1	20-97
männlich	60.1	18.4	23-92
weiblich	64.5	19.5	20-93
Körpergröße (cm)	171.2	9.5	142-193
männlich	176.7	6.8	166-193
weiblich	164.0	7.8	142-179
Körpergewicht (kg)	78.1	19.7	40-132
männlich	82.8	18.0	51-132
weiblich	72.4	20.5	40-118
BMI (kg/m²)	26.5	5.9	14.1-40.8
männlich	26.6	5.5	17.4-40.7
weiblich	26.5	6.4	14.1-40.8

3.2. Materialentnahme und –bearbeitung

Es wurden insgesamt 172 Schulter- und 172 Hüftgelenke von 86 Verstorbenen im Rahmen einer Sektion im Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf entnommen.

Entnahme des Caput humeri

Unter Schonung des Gelenkknorpels wurden die Rotatorenmanschette und die Gelenkkapseln eröffnet und der knorpeltragende Teil des Caput humeri mit einer

oszillierenden Säge im Collum anatomicum osteotomiert. Es erfolgte die Kennzeichnung der Gewebeprobe.

Entnahme des Caput femoris

Unter Schonung des Gelenkknorpels wurde die ventrale Gelenkkapsel eröffnet, das Hüftgelenk unter forcierter Außenrotation luxiert und das Caput femoris mit der oszillierenden Säge am Collum femoris osteotomiert und entnommen.

Aufarbeitung der Gewebeprobe

Um die Präparate vor Austrocknung zu schützen, wurden sie in isotonischer Vollelektrolytlösung (Sterofundin®, B. Braun Melsungen AG) bei 4°C aufbewahrt. Die weitere Aufarbeitung der Proben fand im Institut für Osteologie und Biomechanik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf statt. Zunächst wurde überschüssige Gewebe (Sehnen, Bänder und Fettgewebe) von den Präparaten entfernt. Sowohl aus dem Schulter- als auch aus dem Hüftgelenk wurden mithilfe einer diamantbeschichteten Säge (EXAKT 310 CP mit EXAKT Diamanttrennband 0,3mm D64; Exakt-Apparatebau, Norderstedt) standardisierte Knorpel-Knochenscheiben mit einer Dicke von vier Millimetern herausgesägt (Abbildung 2 und 3). Aus dem Caput humeri und femoris wurden in standardisierter Form jeweils drei 4mm-Knorpel-Knochenscheiben in der koronaren und axialen Ebene herausgesägt, die resultierenden Scheiben wurden dementsprechend in zentral, anterior und posterior unterteilt (Abbildung 2 und 3). Um eine potentielle Kontamination mit Sägestaub zu vermeiden, wurden die präparierten Knorpel-Knochenscheiben anschließend in isotonischer Vollelektrolytlösung gereinigt und mit Kompressen getrocknet.

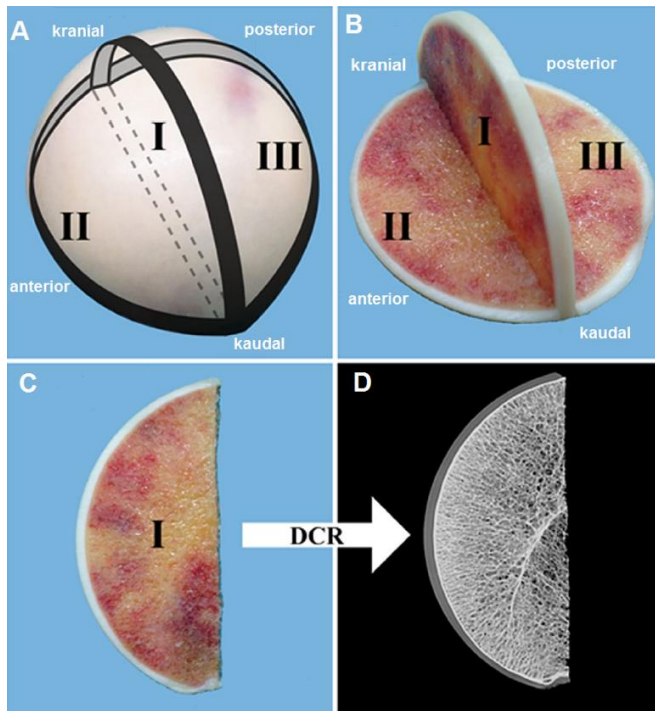


Abbildung 2: **A:** Schematische Darstellung der standardisierten 4mm Knorpel-Knochenscheiben des Schultergelenkes. **B:** Zentrale (I), anteriore (II) und posteriore (III) Knorpel-Knochenscheibe. **C:** Beispiel einer Knorpel-Knochenscheibe und die korrespondierende, hochauflösende digitale Kontaktradiografie (DCR) (**D**). (Nach Hawellek und Hubert et al. 2016)

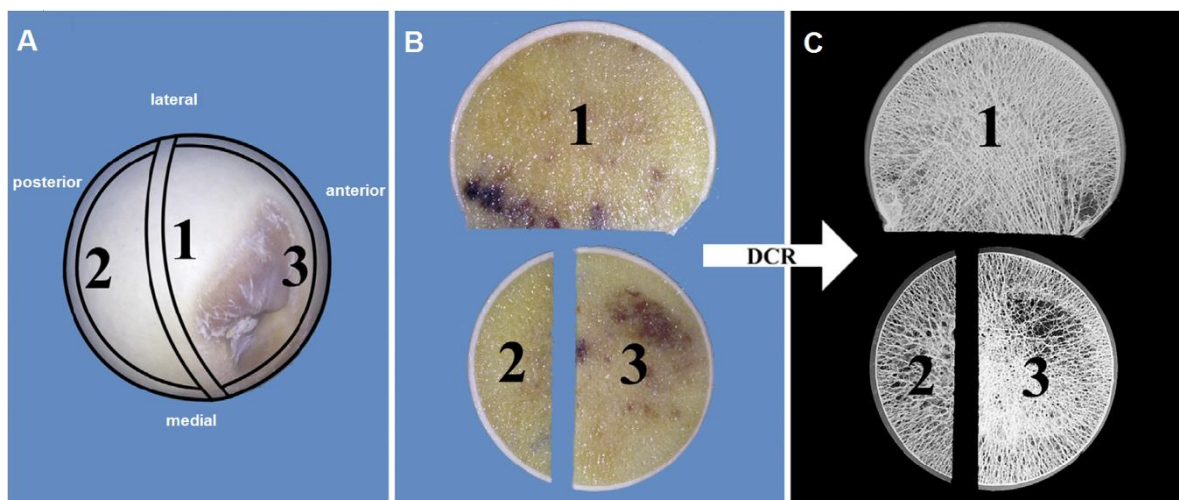


Abbildung 3: **A:** Schematische Darstellung der standardisierten 4mm Knorpel-Knochenscheiben des Hüftgelenkes. **B:** Zentrale (1), posteriore (2) und anteriore (3) Knorpel-Knochenscheibe sowie die korrespondierende, hochauflösende digitale Kontaktradiografie (**C**). (Nach Hawellek und Hubert et al. 2016)

3.2.1. Digitale Kontaktradiografie

Von den 4mm Knorpel-Knochenscheiben wurden standardisierte Röntgenbilder mittels digitaler Kontaktradiografie (Firma: Faxitron, X-Ray LLC, Wheeling, Illinois, USA) angefertigt. Die radiologische Untersuchung erfolgte für jede Knorpel-Knochenscheibe nach einem standardisierten Protokoll:

Belichtungszeit: 3,8mAs, Film-Fokus-Abstand: 8cm, Belichtungsstärke: 25kV. Die erzielte Auflösung beträgt 20 μ m. (s. Abbildung 2D und 3C)

Im Anschluss an die digitale Kontaktradiografie (DCR) erfolgte eine quantitative Bestimmung der Menge an Kalzifizierungen im hyalinen Gelenkknorpel. Die Analysen wurden mit einer Standardsoftware (ImageJ, Version 1.46, National Institutes of Health, Bethesda, USA) durchgeführt (Fuerst et al. 2009a; Mitsuyama et al. 2007). Mit Hilfe dieser Software konnten die Gesamtfläche des hyalinen Knorpels sowie die kalzifizierten Anteile pixelgenau gemessen werden. (Abbildung 4). Zunächst wurde mithilfe der „Freehand selection“-Funktion die Gesamtfläche des hyalinen Knorpels markiert und anschließend die Gesamtfläche [in Pixeln] berechnet. In einem zweiten Schritt wurden die betroffenen Areale stark vergrößert (Abbildung 4) und es erfolgte die Markierung der Areale der Kalzifizierungen. Anschließend wurde die Fläche der kalzifizierten Areale [in Pixeln] bestimmt. Inter- oder intraindividuelle Wiederholungsmessungen zur Validierung wurden nicht durchgeführt. Die Messung erfolgte lediglich zweidimensional, mögliche Überlagerungseffekte konnten hierbei nicht ausgeschlossen werden. Anschließend wurde das Verhältnis von kalzifizierten Arealen zum Gesamtknorpel, also der prozentuale Anteil zur Gesamtfläche [in %], bestimmt.

Kalzifizierungen wurden in Relation zum Gesamtknorpel angegeben, um den Einfluss möglicher systematischer Messfehler zu reduzieren. So garantiert die Sägetechnik keine perfekt orthogonalen Schnitte, des Weiteren ist die Gesamtfläche des Knorpels gegebenenfalls durch Arthrose reduziert. Es wird davon ausgegangen, dass diese Einflüsse kalzifizierten und nicht-kalzifizierten Knorpel gleichermaßen betreffen, sodass durch Angabe des relativen Anteils systematische Fehler vermieden werden sollen. Für jedes Gelenk wurden somit drei Werte aus den jeweiligen Knorpel-Knochenscheiben ermittelt. Aus diesen drei Werten der Menge an Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels wurde der Mittelwert bestimmt. Der Mittelwert wurde dabei als repräsentativ für die Gesamtkalzifizierung des hyalinen Knorpels des jeweiligen Schulter- und Hüftgelenks gewertet.

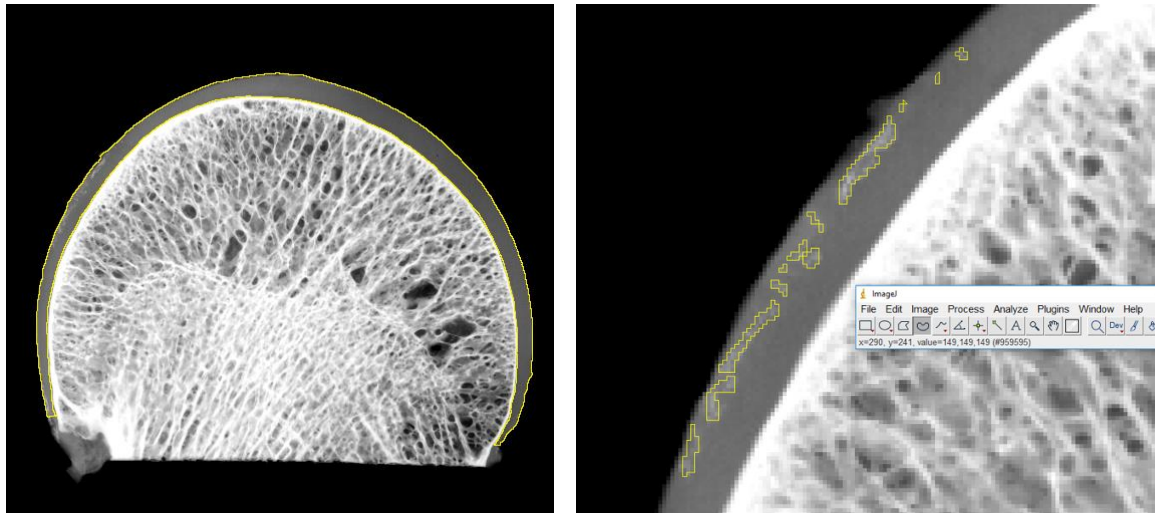


Abbildung 4: Digitale Kontaktradiografie (DCR) der standardisierten Knorpel-Knochenscheibe mit der Markierung (gelbe Linie) des gesamten hyalinen Knorpels (links) und der kalzifizierten Areale (rechts). Die gemessenen Flächen wurden in Pixeln bestimmt und anschließend der prozentuale Anteil der kalzifizierten Areale in Relation zur gesamten Fläche des hyalinen Knorpels berechnet.

3.3. Histologische Untersuchung

Nach digitaler Bearbeitung der Röntgenbilder wurden aus den Knorpel-Knochenscheiben des Schulter- und des Hüftgelenks standardisierte Proben des hyalinen Knorpels zur histologischen Aufarbeitung entnommen. Standardisierte 5mm große Knorpelproben wurden aus der Hauptbelastungszone der zentralen Knorpel-Knochenscheibe entnommen. Bei der Entnahme der Knorpelproben wurde explizit darauf geachtet, dass die gesamte Dicke des hyalinen Knorpels bis zur subchondralen Lamelle erfasst wurde. Die Knorpelproben wurden anschließend 24 Stunden lang in 4% Paraformaldehyd konserviert. Danach wurden sie mit 80%igen Alkohol entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Dicke der Schnitte betrug 4µm. Von allen histologischen Proben des Hüft- und Schultergelenkes wurden 1% Safranin-Orange Färbungen angefertigt. Mit diesen Schnitten wurde der histologische Arthrosegrad mittels des OARSI-Klassifikation (Osteoarthritis cartilage histopathology assessment system, Grad 0-6) (Pritzker et al. 2006) evaluiert (Tabelle 2). Dabei wurde ein OARSI-Score von <3 als intakter Knorpel, ein Score von ≥ 3 als arthrotisch degenerierter Knorpel eingestuft (vgl. Hawellek und Hubert et al. 2016a).

Tabelle 2: OARSI-Klassifikation nach Pritzker et al. 2006.

OARSI	Morphologie
0	Intakte Knorpeloberfläche und -morphologie
1	Oberflächliche Fibrillationen, Ödem
2	Tiefe Fibrillationen, Zellnekrosen, Proliferations-Cluster, Störungen der Chondrozytensäulen
3	Wie OARSI 2 mit vertikalen Fissuren bis zur mittleren Zone
4	Verlust der kartilaginären Matrix, Zystenbildung, Delaminierung der oberflächlichen Zone
5	Erosion des Knorpels bis zur tiefen Zone, fibrocartilaginäre Umbauprozesse und Sklerose an der offenliegenden Oberfläche
6	Knöcherne Umbauprozesse über die Grenzen der vorbestehenden Oberfläche hinaus

3.4. Statistische Analyse

Die statistische Auswertung der Daten sowie die Erstellung der entsprechenden Abbildungen erfolgte mit den Programmen Microsoft Excel (Version 14.0.4875.1000) sowie IBM SPSS Statistics 24. Die biometrischen Daten der Verstorbenen sind dargestellt als arithmetisches Mittel mit der jeweiligen Standardabweichung. Die Darstellung der Konfidenzintervalle (KI) erfolgte als Clopper-Pearson-Intervall. Bei der Berechnung der Prävalenz und der Menge an Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des Schulter- und Hüftgelenkes wurde das arithmetische Mittel der in der DCR gemessenen Kalzifizierung aus den drei Knorpel-Knochenscheiben gebildet. Dabei wurde jedes Gelenk mit einer mittleren Menge an Kalzifizierungen >0% als positiv gewertet. Die statistische Unabhängigkeit zweier Variablen wurde mit dem exakten Test nach Fisher berechnet. Zur Beschreibung der Zusammenhänge von kontinuierlichen Variablen wurde der Pearson Korrelationskoeffizient (r) berechnet, ein p-Wert von <0.05 wurde dabei als statistisch signifikant gewertet. Bei den Korrelationsanalysen wurde zusätzlich eine partielle Korrelation berechnet, um potentielle Scheinkorrelationen aufzudecken.

Da sich die Arthrose häufig erst im fortgeschrittenen Alter manifestiert, ist das Alter als ein potentieller unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung der Arthrose

(Felson 1988; Neame et al. 2003) anzusehen. Um den Zusammenhang zwischen der Prävalenz bzw. Menge an Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Schweregrad der Arthrose statistisch korrekt untersuchen zu können, musste eine Adjustierung nach dem Alter vorgenommen werden. Im umgekehrten Fall musste bei der Berechnung zwischen der Prävalenz bzw. Menge an Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter eine Adjustierung nach dem histologischen Schweregrad der Arthrose nach der OARSI-Klassifikation erfolgen. Dabei wurde bei der Berechnung des Pearson Korrelationskoeffizient zweier Variablen die dritte Variable als zusätzliche, sogenannte Störvariable, angegeben, nach der bei der Berechnung des Korrelationskoeffizienten adjustiert wurde. Dies erlaubt es, den tatsächlichen linearen Zusammenhang zweier Variablen untereinander anzugeben, ohne dass die dritte Variable diesen Zusammenhang stören und eine Scheinkorrelation vortäuschen kann.

4. Ergebnisse

4.1. Prävalenz von Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel

4.1.1. Prävalenz in der Studienpopulation

Die Gesamtprävalenz von Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels des Schulter- und Hüftgelenkes in der Studienpopulation betrug 100% (n=86) (Tabelle 3). Im Hüftgelenk betrug die Prävalenz 96.5% (83/86), im Schultergelenk 98.9% (85/86). Eine unilaterale Kalzifizierung wurden bei 1.2% der Verstorbenen (1/86) und eine bilaterale bei 98.8% (n=85/86) detektiert.

4.1.2. Prävalenz in den Gelenken

Insgesamt ließen sich mittels DCR in 90.7% der untersuchten Gelenke (n=312/344) Kalzifizierungen detektieren. Dabei wiesen 87.8% (151/172) der untersuchten Hüftgelenke und 93.6% (161/172) der Schultergelenke Kalzifizierungen auf (Tabelle 3). Ein signifikanter Unterschied in der Prävalenz zwischen Hüft- und Schultergelenken konnte nicht nachgewiesen werden (p=0.09).

Kalzifizierungen im Hüftgelenk traten in 88.3% (76/86) links und in 87.2% (75/86) rechts und im Schultergelenk in 90.7% (78/86) links und in 96.5% (83/86) rechts auf. Dabei zeigten die Kalzifizierungen keine Präferenz für eine Seite (Hüftgelenk: p=0.5 und Schultergelenk: p=0.1) (Abbildung 5).

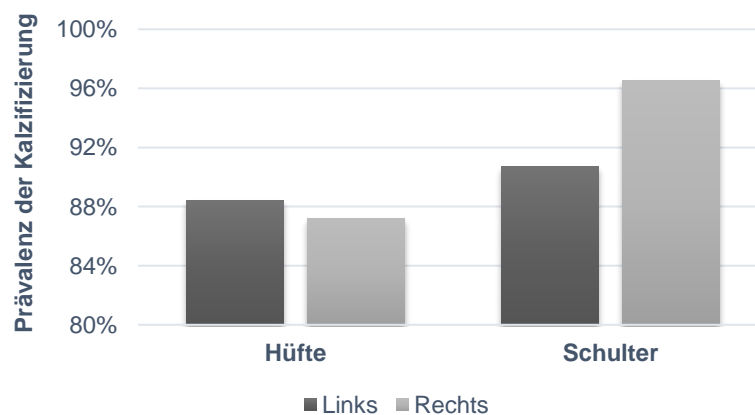


Abbildung 5: Seitenabhängige Prävalenz der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des Hüft- und Schultergelenkes.

In der Studienpopulation konnte eine simultane Kalzifizierung von allen vier untersuchten Gelenken bei 69.8% (60/86), von drei Gelenken bei 24.4 (21/86) und von zwei Gelenke bei 4.7% (4/86) der Verstorbenen nachgewiesen werden (Abbildung 6). Bei einem Verstorbenen (1.2%, 1/86) war lediglich ein Gelenk kalzifiziert.

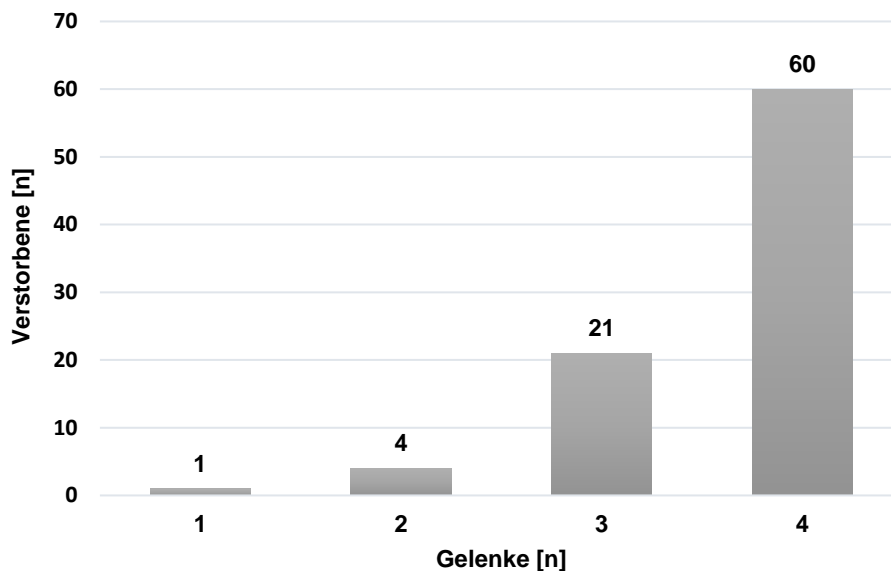


Abbildung 6: Anzahl der Gelenke mit positiven Kalzifizierungen in der Studienpopulation (n=86).

4.1.3. Geschlechtsspezifische Prävalenz

In der Studienpopulation traten Kalzifizierungen bei 100% (n=47) der männlichen und bei 100% (n=39) der weiblichen Verstorbenen auf, entsprechend besteht kein signifikanter geschlechts-spezifischer Unterschied (p=1). Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel aller Gelenke traten bei männlichen in 93.1% (174/188) und bei weiblichen Verstorbenen in 88.5% (138/156) auf. Im Schultergelenk konnten in 94.7 (89/94) der männlichen und in 92.3% (72/78) der weiblichen Verstorbenen Kalzifizierungen nachgewiesen werden. Im Hüftgelenk konnten Kalzifizierungen in 90.4% (85/94) der männlichen und in 84.6% (66/78) der weiblichen Verstorbenen detektiert werden. Es besteht kein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied, weder für das Hüftgelenk (p=0.09) noch für das Schultergelenk (p=0.55).

Tabelle 3: Prävalenz der Kalzifizierungen in der Studienpopulation und in den Gelenken.

	n	%	95%-KI
Prävalenz (Studienpopulation)	86/86	100	95.8, 100
• Männer	47/47	100	92.5, 100
• Frauen	39/39	100	90.8, 100
• Hüftgelenk	83/86	96.5	90.1, 99.3
• Schultergelenk	85/86	98.9	93.7, 99.9
• unilateral	1/86	1.2	0.1, 6.3
• bilateral	85/86	98.8	91.9, 99.7
Prävalenz (Gelenke)	312/344	90.7	87.1, 93.6
• Männer	174/188	93.1	87.8, 95.9
• Frauen	138/156	88.5	82.4, 93.0
• Hüftgelenk	151/172	87.8	82.5, 92.3
○ Links	76/86	88.3	79.7, 94.3
○ Rechts	75/86	87.2	78.2, 93.4
○ Männer	85/94	90.4	82.6, 95.5
○ Frauen	66/78	84.6	89.8, 91.8
• Schultergelenk	161/172	93.6	88.8, 96.8
○ Links	78/86	90.7	82.5, 95.9
○ Rechts	83/86	96.5	90.1, 99.2
○ Männer	89/94	94.7	88.0, 98.2
○ Frauen	72/78	92.3	84.0, 97.1

4.1.4. Zusammenhang mit Arthrose

Der Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Kalzifizierungen und dem histologischen Grad der Arthrose des hyalinen Knorpels (nach der OARSI-Klassifikation) wurde untersucht. Dabei wurde ein OARSI-Score von <3 als intakter und ein Score von ≥ 3 als arthrotisch verändert Knorpel eingestuft. Die Prävalenz der Kalzifizierungen in Abhängigkeit des OARSI-Scores ist in Tabelle 4 dargestellt. Von allen untersuchten Gelenken konnte ein OARSI-Score ≥ 3 bei 18.0% (31/172) der Schulter- und bei 14.5% (25/172) der Hüftgelenke beobachtet werden. Im Schultergelenk zeigten 100% (31/31) der Proben mit OARSI-Score ≥ 3 Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel. Im Hüftgelenk konnte in 96% (24/25) der Proben mit OARSI-Score ≥ 3 eine Kalzifizierung des hyalinen Knorpels nachgewiesen werden. Kalzifizierungen traten nicht nur im arthrotisch veränderten Knorpel, sondern auch im histologisch intakten Knorpel (OARSI-Score <3 – Schultergelenk: 82% (141/172) Hüftgelenk: 85.5% (147/172)) auf. So wurden

Kalzifizierungen im intakten Knorpel des Schultergelenkes in 92.2% (130/141) und im Hüftgelenk in 86.4% (127/147) nachgewiesen. Es konnte ein altersadjustierter signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz von Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem histologischen Grad der Arthrose detektiert werden (Abbildung 7): Gesamt: $r=0.86$, $p<0.001$; Schulter: $r=0.91$, $p<0.001$, Hüfte: $r=0.79$, $p<0.001$.

Tabelle 4: Prävalenz der Kalzifizierungen in Abhängigkeit des histologischen Grades der Arthrose nach der OARSI-Klassifikation.

OARSI	Gelenk	Prävalenz	
		n	%
0	Gesamt	18/24	75
	Hüfte	6/11	54.5
	Schulter	12/13	92
1	Gesamt	158/180	87.8
	Hüfte	79/93	84.9
	Schulter	79/87	90.8
2	Gesamt	81/84	96.4
	Hüfte	42/43	97.7
	Schulter	39/41	95.1
3	Gesamt	25/26	96.2
	Hüfte	11/12	91.7
	Schulter	14/14	100
4	Gesamt	21/21	100
	Hüfte	12/12	100
	Schulter	9/9	100
5	Gesamt	8/8	100
	Hüfte	1/1	100
	Schulter	7/7	100
6	Gesamt	1/1	100
	Hüfte	-	-
	Schulter	1/1	100

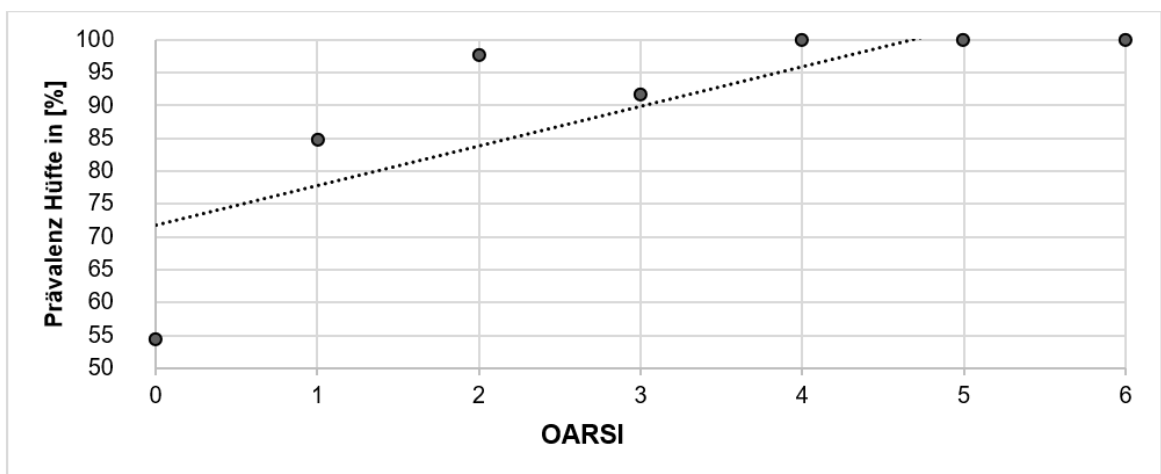
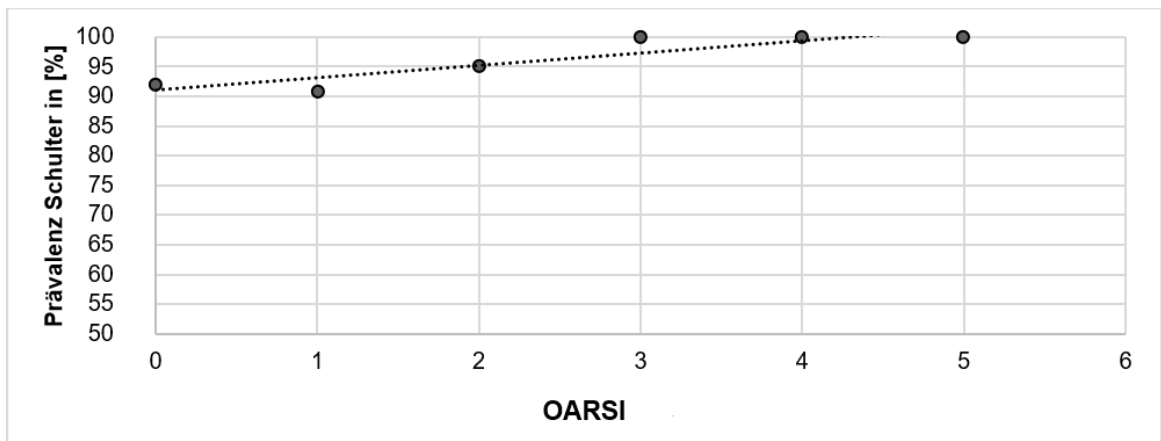
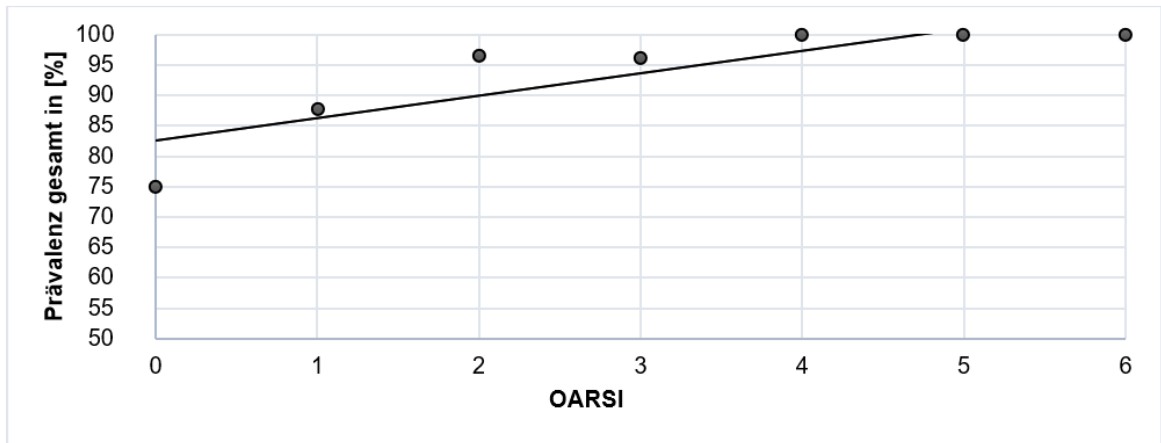


Abbildung 7: Korrelation der Prävalenz der Kalzifizierungen in Schulter und Hüftgelenk mit dem histologischen Grad der Arthrose. Die gepunkteten Linien stellen die Regression dar.

4.1.5. Zusammenhang mit dem Alter

Der Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter wurde analysiert. Der Altersdurchschnitt der Studienpopulation lag bei 62.1 Jahren (männlich/weiblich: 59.6/64.5 Jahre). Da in den vorherigen Analysen kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Kalzifizierung, weder mit der Seite, noch mit dem Geschlecht beobachtet werden konnte, wurden diese Variablen bei den weiteren Analysen vernachlässigt. Die Prävalenz der Kalzifizierungen in Abhängigkeit der jeweiligen Dekade ist in Tabelle 5 dargestellt. Insgesamt konnte unabhängig von der Altersgruppe eine hohe Gesamtprävalenz detektiert werden. In der Altersgruppe 0-30 Jahre betrug die Gesamtprävalenz 81.3% (Hüftgelenk: 97.5%, Schultergelenk: 75%). In der Dekade 31-40 Jahre stieg die Gesamtprävalenz auf 88.9% (Hüft- und Schultergelenk: 88.9%), in der Dekade 41-50 Jahre konnten Kalzifizierungen bei 93.2% (Hüftgelenk: 86.4%, Schultergelenk: 100%) nachgewiesen werden. In der Altersgruppe 51-60 Jahre betrug die Prävalenz 88.6% (Hüftgelenk: 86.4%, Schultergelenk: 91%), in der Gruppe 61-70 Jahre 90% (Hüftgelenk: 86.7%, Schultergelenk: 93.3%), von 71-80 Jahre 96.1%, von 81-90 Jahre 86.5% (Hüftgelenk: 76.9%, Schultergelenk: 92.2%, und in der letzten Dekade von 91-100 Jahre 93.3% (Hüftgelenk: 100%, Schultergelenk: 88%) (Tabelle 5).

Es wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter nachgewiesen (Gesamtprävalenz: $r=0.53$, $p<0.001$; Hüfte: $r=0.23$, $p=0.03$; Schulter $r=0.44$, $p<0.001$).

Um eine Scheinkorrelation zu vermeiden, wurde eine partielle Korrelation zwischen der Prävalenz von Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter, adjustiert nach dem histologischen Grad der Arthrose (nach der OARSI-Klassifikation), berechnet. Nach dieser Adjustierung verschwand der Zusammenhang mit dem Alter. Es konnte daher kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter, weder für das Hüftgelenk ($p=0.17$) noch für das Schultergelenk ($p=0.54$) nachgewiesen werden.

Tabelle 5: Prävalenz von Kalzifizierungen in den Altersgruppen.

Altersgruppe	Gelenk	Prävalenz	
		n	%
0-30	Gesamt	13/16	81.3
	Hüfte	7/8	87.5
	Schulter	6/8	75
31-40	Gesamt	32/36	88.9
	Hüfte	16/18	88.9
	Schulter	16/18	88.9
41-50	Gesamt	41/44	93.2
	Hüfte	19/22	86.4
	Schulter	22/22	100
51-60	Gesamt	39/44	88.6
	Hüfte	19/22	86.4
	Schulter	20/22	91
61-70	Gesamt	54/60	90
	Hüfte	26/30	86.7
	Schulter	28/30	93.3
71-80	Gesamt	73/76	96.1
	Hüfte	36/38	94.7
	Schulter	37/38	97.4
81-90	Gesamt	45/52	86.5
	Hüfte	20/26	76.9
	Schulter	25/26	96.2
91-100	Gesamt	15/16	93.6
	Hüfte	8/8	100
	Schulter	7/8	88

4.1.6. Zusammenhang mit BMI

In dieser Arbeit wurden zwei mechanisch unterschiedlich beanspruchte Gelenke untersucht. Daher wurde der Einfluss des BMI, der als Maß für die zusätzliche mechanische Belastung gewertet werden kann, auf die Prävalenz von Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des stark beanspruchten Hüftgelenkes und des nicht-lasttragenden Schultergelenkes evaluiert. Die Prävalenz in Abhängigkeit

des BMI ist in Tabelle 6 dargestellt, die Eingruppierung nach BMI ist gemäß der Definitionen der WHO vorgenommen: Untergewicht (BMI <18.5kg/m²), Normalgewicht (BMI 18.5-24,9 kg/m²), Präadipositas (BMI 25-30 kg/m²) und Adipositas (>30 kg/m²) (World Health Organization 2000). Es konnte in jeder Gruppe eine hohe Prävalenz von Kalzifizierungen gezeigt werden. In der Gruppe der untergewichtigen Patienten waren insgesamt 87,5% der gesuchten Gelenke befallen (Hüfte 91.7%, Schulter 83.3%). Bei den normalgewichtigen Verstorbenen konnten Kalzifizierungen in 91.7% der untersuchten Gelenke nachgewiesen werden (Hüfte 90%, Schulter 93.3%). Bei Verstorbenen mit Präadipositas betrug die Prävalenz von Kalzifizierungen 96.7% (Hüfte 81.7%, Schulter 95.0%) und bei den adipösen Patienten 93.8% (Hüfte 92.8%, Schulter 95.0%) (s. Tabelle 6). Die mechanische Belastung in Form des BMI hatte keinen Einfluss auf die Prävalenz von Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des Hüftgelenks (p=0.48) oder des Schultergelenkes (p=0.06).

Tabelle 6: Prävalenz von Kalzifizierungen in Abhängigkeit des BMI.

BMI (kg/m²)	Gelenk	Prävalenz	
		n	%
<18.5	Gesamt	21/24	87.5
	Hüfte	11/12	91,7
	Schulter	10/12	83,3
18.5-24.9	Gesamt	110/120	91.7
	Hüfte	54/60	90.0
	Schulter	56/60	93.3
25-30	Gesamt	116/120	96.7
	Hüfte	49/60	81.7
	Schulter	57/60	95.0
>30	Gesamt	75/80	93.8
	Hüfte	37/40	92.8
	Schulter	38/40	95.0

4.2. Quantitative Analyse der Kalzifizierungen

4.2.1. Quantitativer Zusammenhang zwischen den Gelenken

Eine zentrale Fragestellung dieser Arbeit war es zu analysieren, ob es sich bei der Kalzifizierung des hyalinen Knorpels um einen systemischen oder einen lokalen, monoartikulären Prozess handelt und ob die Menge an Kalzifizierungen in den Gelenken miteinander korreliert. Daher wurde die Quantität der Kalzifizierungen (in %) des hyalinen Knorpels im Hüft- und Schultergelenk erfasst (Tabelle 7). Es wurden nur Individuen analysiert, bei denen in beiden Gelenken gleichzeitig Kalzifizierungen detektiert wurden (85/86). Als erstes wurde die geschlechtsspezifische Quantität der Kalzifizierungen analysiert. Ein signifikanter Einfluss des Geschlechts auf die Quantität der Kalzifizierungen konnte nicht beobachtet werden (Hüftgelenk: $p=0.17$, Schultergelenk: $p=0.71$). Des Weiteren wurde die Quantität der Kalzifizierungen zwischen den Seiten für das jeweilige Gelenk untersucht (Tabelle 7). Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Menge an Kalzifizierungen zwischen den jeweiligen Seiten (links/rechts) detektiert werden (Hüftgelenk: $p=1.07$, Schultergelenk: $p=0.12$).

Tabelle 7: Quantitative Analyse der Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels im Schulter- und Hüftgelenk.

	Schultergelenk			Hüftgelenk		
	%	SD	Bereich	%	SD	Bereich
Männer	0.18	0.47	0-4.20	0.07	0.12	0-18.15
Frauen	0.16	0.24	0-1.85	0.58	2.35	0-0.70
links	0.15	0.19	0-1.23	0.37	2.02	0-18.15
rechts	0.20	0.51	0-4.19	0.23	1.00	0-8.50

Zusätzlich wurde die Quantität der Kalzifizierungen in den mechanisch unterschiedlich beanspruchten Gelenken untersucht und die mittleren Werte der Kalzifizierungen von Hüft- und Schultergelenk miteinander verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass die mittlere Menge an Kalzifizierungen von Hüft- und Schultergelenk signifikant miteinander korrelieren ($r=0.35$, $p=0.001$) (Abbildung 8).

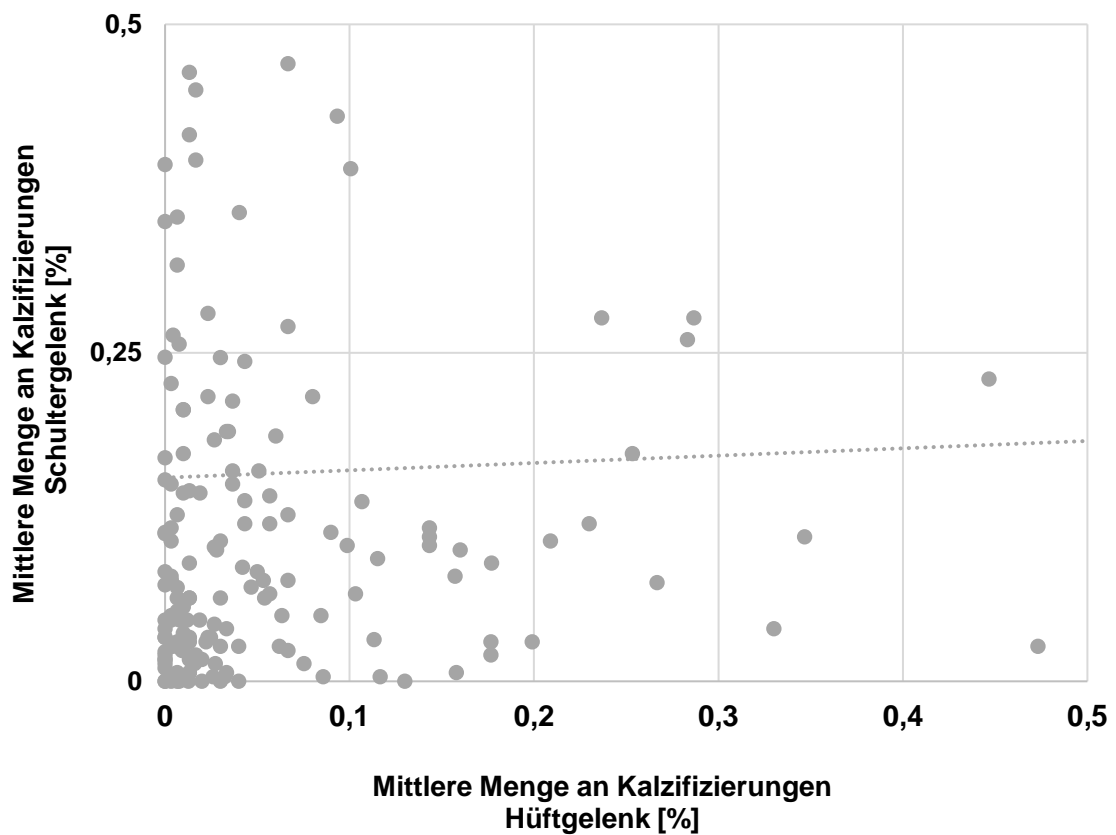


Abbildung 8: Korrelation der mittleren Menge an Kalzifizierungen [in %] zwischen Schulter- und Hüftgelenk. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind mehrere Datenpunkte nicht im Diagrammbereich mitefassen. Die gepunktete Linie stellt die orthogonale Regression dar.

4.2.2. Quantitativer Zusammenhang mit Arthrose

Der Zusammenhang zwischen der Menge an Kalzifizierungen und dem histologischen Grad der Arthrose des hyalinen Knorpels (nach der OARSI-Klassifikation) wurde adjustiert nach dem Alter untersucht. Die mittlere Menge an Kalzifizierungen sowohl im Schulter- als auch im Hüftgelenk korrelierte dabei signifikant mit dem histologischen Grad der Arthrose nach OARSI (Hüftgelenk: $r=0.27$, $p<0.001$. Schultergelenk: $r=0.32$, $p<0.001$) (Abbildung 9).

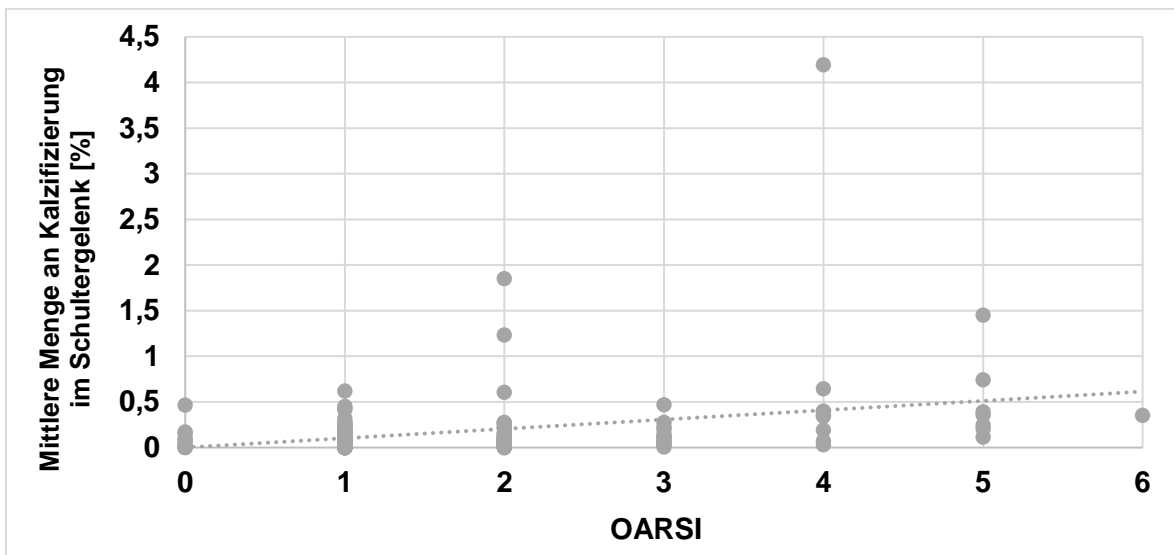
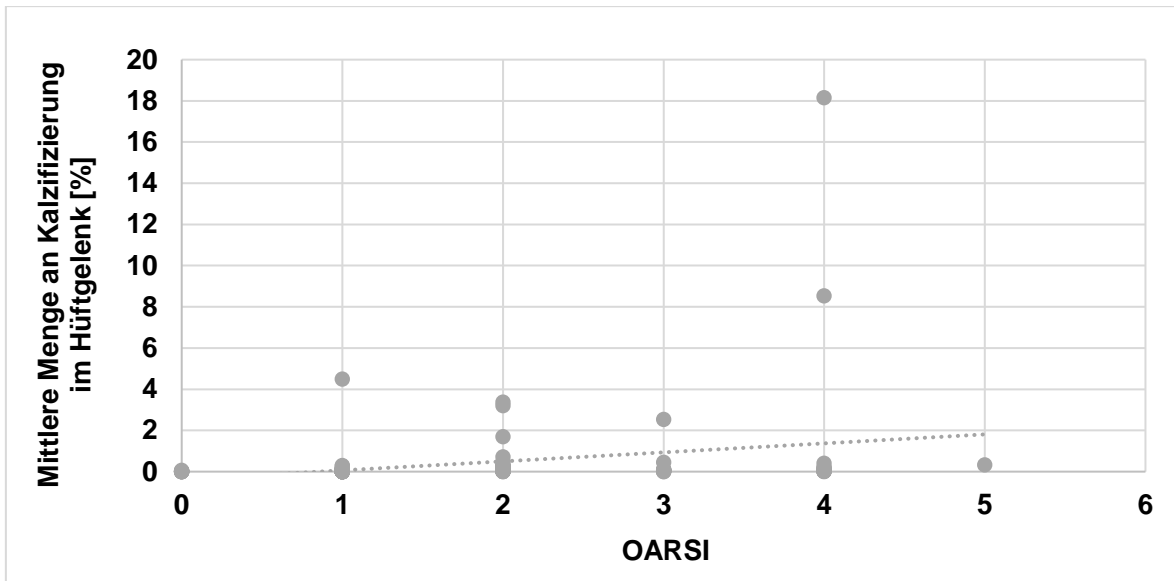


Abbildung 9: Korrelation der mittleren Menge an Kalzifizierungen [in %] des Hüftgelenkes (oben) und des Schultergelenkes (unten) mit dem histologischen Grad der Arthrose nach OARSI. Die gepunktete Linie stellt die orthogonale Regression dar

4.2.3. Quantitativer Zusammenhang mit dem Alter

Der Zusammenhang zwischen der Menge an Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter wurde analysiert. Die mittlere Menge an Kalzifizierungen des Schulter- und Hüftgelenkes in den unterschiedlichen Altersgruppen ist in Abbildung 10 dargestellt.

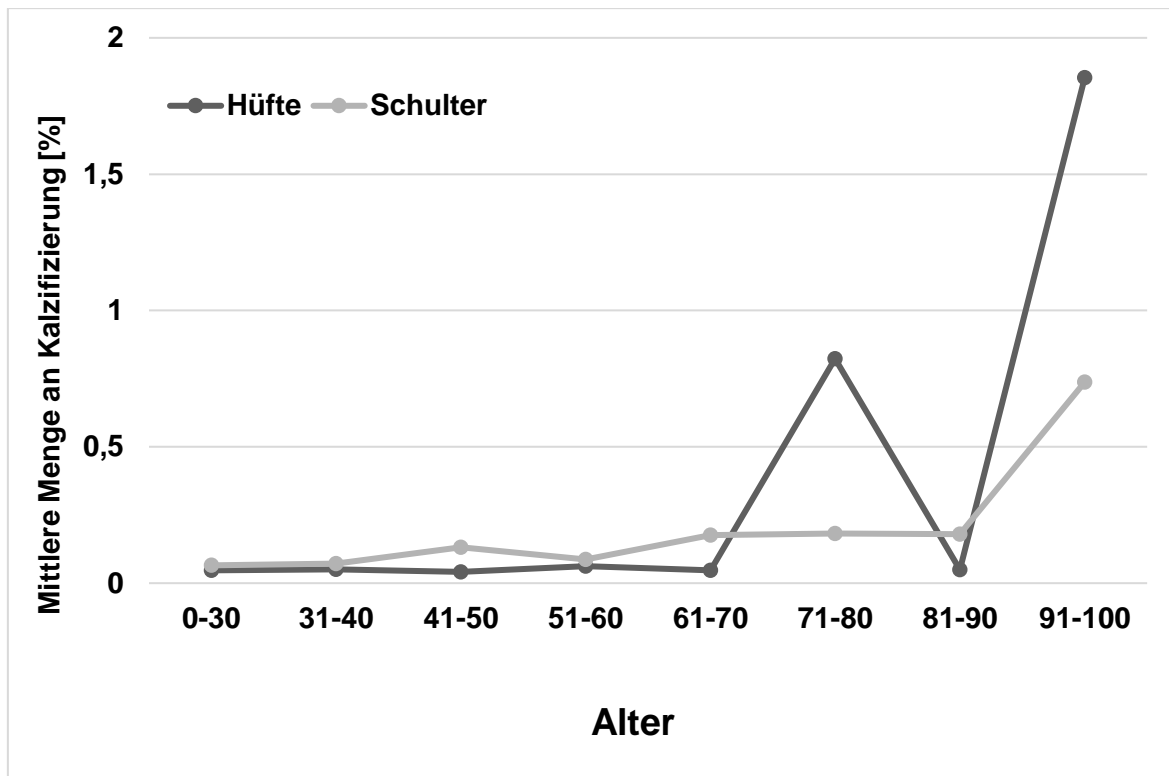


Abbildung 10: Mittlere Menge an Kalzifizierungen im Hüft- und Schultergelenk [in %] in den unterschiedlichen Altersgruppen.

Im Schultergelenk fand sich eine signifikante Korrelation zwischen der mittleren Menge an Kalzifizierungen und dem Alter ($r=0.25$, $p=0.02$). Im Hüftgelenk konnte keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden ($p=0.08$). Erneut wurde eine Adjustierung nach dem histologischen Grad der Arthrose (nach der OARSI-Klassifikation) vorgenommen, um eine Scheinkorrelation aufzudecken. Nach dieser Adjustierung verschwand der Zusammenhang mit dem Alter. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Menge der Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem Alter, weder für das Hüftgelenk ($p=0.3$) noch für das Schultergelenk ($p=0.23$) nachgewiesen werden.

4.2.4. Quantitativer Zusammenhang mit dem BMI

Es konnte gezeigt werden, dass weder im Schultergelenk, noch im Hüftgelenk die mittlere Menge an Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels mit dem BMI korreliert (Hüfte: $p=0.23$; Schulter: $p=0.32$) (Abbildung 11).

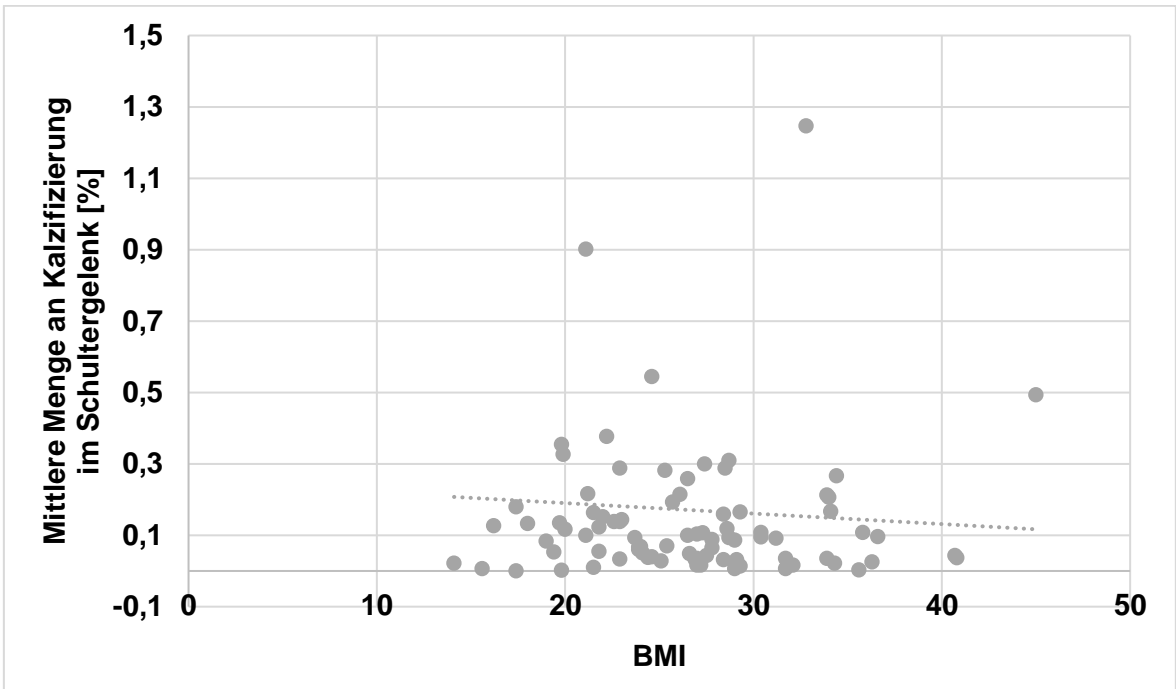
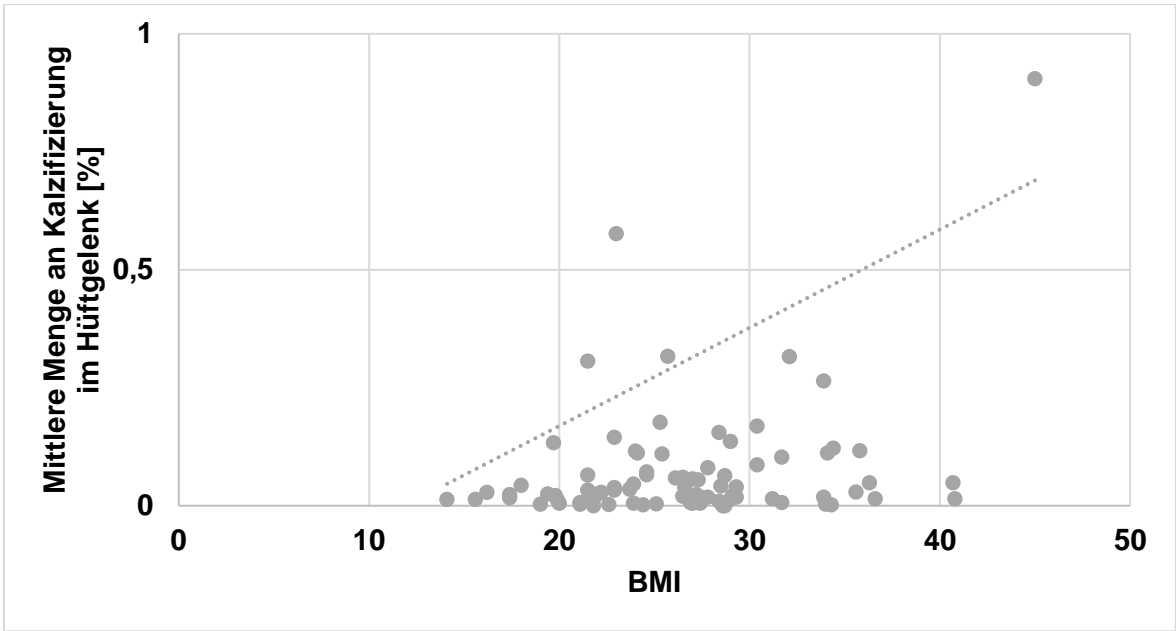


Abbildung 11: Mittleren Menge an Kalzifizierungen [in %] des Hüftgelenkes (oben) und des Schultergelenkes (unten) und dem BMI. Die gepunktete Linie stellt die orthogonale Regression dar.

5. Diskussion

In dieser post-mortem Querschnittstudie wurde die Prävalenz und die Menge an Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel des Schulter- und Hüftgelenkes mittels hochauflösender digitaler Kontaktradiographie untersucht sowie der Zusammenhang der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel mit dem Alter, BMI und der Degeneration des Knorpelgewebes beleuchtet. Weiterhin wurden Unterschiede in der Manifestation der Kalzifizierungen des Knorpels zwischen dem nicht-lasttragenden Schultergelenk und dem lasttragenden Hüftgelenk analysiert und evaluiert, ob es sich bei der Kalzifizierung des Knorpelgewebes um einen lokalen (monoartikulären) oder um einen systemischen (polyartikulären) Prozess handelt.

5.1. Interpretation der Ergebnisse

In der Studienpopulation zeigte sich eine hohe Gesamtprävalenz von Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel von 100% der Verstorbenen. Das Hüftgelenk war bei 96.5% und das Schultergelenk bei 98.8% betroffen, Kalzifizierungen traten hauptsächlich bilateral auf (98.8%). Eine Kalzifizierung konnte in 90.7% aller untersuchten Gelenke detektiert werden, wobei 87.7% aller Hüftgelenke und 93.6% aller Schultergelenke Kalzifizierungen aufwiesen und kein signifikanter Unterschied in der Prävalenz zwischen Hüft- und Schultergelenken bestand.

Im Vergleich zu vorherigen Studien, die mit konventionell-radiologischen Methoden (Röntgen, Magnetresonanztomographie und Computertomographie) eine Prävalenz der Chondrokalzinose in der Allgemeinbevölkerung im Kniegelenk von 7-8,5% (Zhang et al. 2011), in der Hüfte von 3,5% (Ramonda et al. 2009) und im Handgelenk von 5-7% (Abhishek et al. 2012; Bergström et al. 1986) beschreiben, zeigte sich in unserer Studienpopulation eine deutlich höhere Prävalenz, sowohl für das Hüft- als auch für das Schultergelenk. Diese hohe Prävalenz ist bedingt durch die verwendete Methodik. Die digitale Kontaktradiografie (DCR) besitzt eine hohe Auflösung, kann Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel bereits im Mikrometerbereich detektieren und gilt somit als sensitivste Methode zum Nachweis von Kalzifizierungen (Abreu et al. 2004). Die in der Literatur angegebene Prävalenz, die mit konventionellen Standardmethoden eruiert wurde, ist daher als zu niedrig einzuschätzen (Abhishek und Doherty 2016).

Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Einklang mit anderen Studien, die die digitale Kontaktradiographie zur Analyse von Kalzifizierungen im Knorpel verwendeten. Mitsuyama et al. (2007) konnten Kalzifizierungen in arthrotischen Kniegelenken (100%) detektieren. Aber auch in der Allgemeinbevölkerung konnte eine hohe Prävalenz mittels DCR eruiert werden. So konnten in 94,3% der Kniegelenke, in 96,6% der Hüftgelenke, in 98,9% der Schultergelenke (Hawellek et al. 2016a; Hawellek et al. 2016b) Kalzifizierungen nachgewiesen werden. Hubert et al. (2016) konnten ebenfalls eine hohe, aber im Vergleich zu den großen Gelenken (Schulter, Hüfte, Knie) niedrigere Prävalenz (48.8%) im Großzehengrundgelenk nachweisen.

Daher scheinen gelenkspezifische Komponenten einen Einfluss auf den Prozess der Kalzifizierung zu haben. Ein möglicher Aspekt wäre, neben der Größe des Gelenkes, der Einfluss des intraartikulären Faserknorpels auf die Kalzifizierung des hyalinen Knorpels, der in großen Gelenken (Schulter: Labrum glenoidale, Hüfte: Labrum acetabulare, Knie: Menisken) vorhanden ist, im Großzehengrundgelenk jedoch fehlt. So konnten Dhollander et al. (2012) Zellen im Labrum acetabulare der Hüfte nachweisen, die in der Lage sind, proinflammatorische Zytokine wie IL-1 und IL-6 zu produzieren und somit möglicherweise Kalzifizierungsprozesse induzieren können (Ea und Lioté 2009; Juchtmans et al. 2015; Nasi et al. 2016). Kalzifizierungen scheinen somit regelhaft im hyalinen Knorpel des Schulter- und Hüftgelenkes vorzukommen, wobei unklar ist welche Prozesse zu Kalzifizierung führen und ob Kalzifizierungen generell einen pathologischen Prozess darstellen.

Bis dato finden sich in der Literatur keine Untersuchungen zur Prävalenz der Chondrokalzinose in der Allgemeinbevölkerung zwischen mechanisch unterschiedlich stark beanspruchten Gelenken. Da das Hüftgelenk im Vergleich zum Schultergelenk deutlich höheren Belastungen ausgesetzt ist, könnte der mechanische Faktor einen Einfluss auf die Manifestation der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel aufweisen. In den vorliegenden Daten konnten jedoch keine Unterschiede in der Prävalenz der Kalzifizierungen zwischen zwei mechanisch unterschiedlich stark beeinflussten Gelenken eruiert werden, sodass Kalzifizierungen unabhängig von der Belastung eines Gelenkes mit einer hohen Prävalenz einhergehen. Dieser Aspekt wird zudem durch die Daten bestärkt, dass Kalzifizierungen unabhängig von der Seite oder dem Geschlecht hochprävalent auftraten, da davon ausgegangen werden kann, dass die Seite in einem Individuum

im Laufe des Lebens unterschiedlichen Belastungen ausgesetzt ist und ferner geschlechtsspezifische Unterschiede in der Art der Belastung der Gelenke bestehen. Genaue Angaben zur dominanten Extremität oder zur Art der körperlichen Belastung im Verlauf eines Lebens wurden in dieser Studienpopulation jedoch nicht erfasst, sodass dieser Kontext in Zukunft weiter untersucht werden muss. Der Einfluss der mechanischen Belastung auf die Kalzifizierung des hyalinen Knorpels ist jedoch insgesamt als gering einzustufen, da zum einem Hubert et al. (2016) eine geringere Prävalenz (48,8%) im mechanisch stark beanspruchten Großzehengrundgelenk demonstrierten und zum anderen in den vorliegenden Daten eine hohe Prävalenz sowohl im stark belasteten Hüftgelenk, aber auch im wenig belasteten Schultergelenk detektiert werden konnte. Zudem konnte kein Zusammenhang zwischen der Menge an Kalzifizierungen mit dem BMI, welcher als Maß für eine zusätzliche mechanische Belastung anzusehen ist, detektiert werden. Die seiten- und geschlechtsunabhängig hohe Prävalenz von Kalzifizierungen im Schulter- und Hüftgelenk liefert zudem Hinweise für eine systemische Manifestation der Chondrokalzinose. Kalzifizierungen traten nicht nur monoartikulär auf, sondern zeigten eine systemisches Befallsmuster. So konnte eine hohe simultane Kalzifizierung (94.2%) von allen untersuchten Gelenken in der Studienpopulation nachgewiesen werden. Der Aspekt der systemischen Manifestation konnte zudem durch die quantitativen Analysen bestärkt werden, wobei die Menge an Kalzifizierungen im Hüft- und Schultergelenk unabhängig vom Geschlecht oder der Seite war. Es bestand zudem kein signifikanter Unterschied in der Menge an Kalzifizierungen zwischen den mechanisch unterschiedlich stark beanspruchten Gelenken, wobei die mittlere Menge an Kalzifizierungen von Hüft- und Schultergelenk signifikant miteinander korrelierte. Somit müssen systemisch wirksame Einflussfaktoren vorliegen, die zur systemischen Kalzifizierung des hyalinen Knorpels führen. Hypothetisch kommen hier verschiedene Zytokine/Hormone, aber auch der Einfluss des Calcium-Phosphat-Stoffwechsels oder Fehlfunktionen/genetische Mutationen in den Chondrozyten infrage, die in Zukunft evaluiert werden müssen. Die vorliegenden Hinweise auf einen systemischen Prozess konnten bereits in anderen Querschnittsstudien belegt werden, wobei eine bilaterale Manifestation der Chondrokalzinose für das Kniegelenk (Neame et al. 2003; Ramonda et al. 2009), das Hüftgelenk und das Schultergelenk detektiert wurden und die Menge der Kalzifizierungen im hyalinen

Knorpel des Hüft- und Kniegelenkes signifikant korrelierten (Hawellek et al. 2016a; Hawellek et al. 2016b). Des Weiteren konnte bei Patienten mit einer Chondrokalzinose in einem Gelenk signifikant häufiger Kalzifizierungen in weiteren Gelenken detektiert werden (Abhishek et al. 2013), sodass zwar Hinweise für eine systemische Prädisposition in einem Individuum bestehen, jedoch keine Studien vorliegen, die multiple Gelenke in einem Individuum untersuchen und somit eine systemische Manifestation untermauern können.

Ein häufig diskutierter Aspekt ist der Zusammenhang der Kalzifizierungen mit dem Alter und dem Grad der Degeneration des Knorpelgewebes. In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben zum Zusammenhang zwischen dem Alter und Kalzifizierungen im Knorpel. Das Alter wird laut der European League Against Rheumatism (EULAR) als wichtigster Risikofaktor im Zusammenhang mit der Kalzifizierung des Knorpels diskutiert (Zhang et al. 2011). Diese Annahme beruht auf verschiedenen epidemiologischen Studien, die einen Zusammenhang zwischen Alter und Kalzifizierungen im Knorpelgewebe nachweisen konnten (Bergström et al. 1986; Mitsuyama et al. 2007; Ramonda et al. 2009; Wilkins et al. 1983). Andere Studien kommen hingegen nicht zu diesem Ergebnis (Abhishek et al. 2012; Neame et al. 2003; Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2016; Hubert et al. 2018) und konnten diesen Zusammenhang nicht bestätigen. Da sich die Arthrose häufig erst im fortgeschrittenen Alter manifestiert, ist das Alter als ein potentieller unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung der Arthrose anzusehen (Felson 1988; Neame et al. 2003). Um den Zusammenhang zwischen der Prävalenz bzw. Menge an Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel und dem Schweregrad der Arthrose oder dem Alter statistisch korrekt untersuchen zu können, sollte eine Adjustierung nach der jeweiligen Variablen vorgenommen werden. Diese Adjustierung wurde in den meisten Studien vernachlässigt, sodass der beschriebene Zusammenhang mit dem Alter nach der Adjustierung für den Grad der Degeneration möglicherweise verschwinden würde.

In dieser Studie konnte unabhängig von der Altersgruppe eine hohe Gesamtprävalenz detektiert werden und lag sowohl für das Hüft- als auch für das Schultergelenk bei ~80%. Zudem konnte eine hohe Prävalenz bereits in den jungen Altersgruppen <40 Jahren detektiert werden. Zwar wurde zunächst ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz der Kalzifizierung des Knorpels mit dem Alter nachgewiesen, bei diesem Zusammenhang handelte es sich jedoch um eine

Scheinkorrelation, da nach der Adjustierung nach dem histologischen Grad der Arthrose (nach OARSI), dieser Zusammenhang verschwand. Des Weiteren zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Menge an Kalzifizierungen mit dem Alter, sodass der Einfluss des Alters auf die Kalzifizierung des Knorpels als gering anzusehen ist. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit anderen Studien, die bei der statistischen Analyse der Daten eine Adjustierung berücksichtigt haben. In diesen Arbeiten konnte nach Adjustierung für den histologischen Degenerationsgrad kein Zusammenhang zwischen Alter und Kalzifizierungen nachgewiesen werden (Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2018).

In den letzten Jahren wurden Kalzifizierungen nicht nur im hyalinen Knorpel der Allgemeinbevölkerung (Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2018), sondern auch in arthrotisch destruierten Gelenken detektiert (Fuerst et al. 2009a; Mitsuyama et al. 2007). Der Zusammenhang zwischen Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und Arthrose wird im Hinblick auf die Entstehung der Arthrose zunehmend diskutiert. Uneinigkeit besteht darüber, ob Kalzifizierungen den Arthroseprozess initiieren, da sie ein hohes inflammatorisches Potential aufweisen und die Bildung von Zytokinen und Metalloproteasen induzieren (Ea et al. 2005) und biomechanisch, über ihr Auftreten im Knorpel, die Elastizität des Knorpels herabsetzen und eine Degeneration begünstigen (Olmez und Schumacher 1999; Roemhildt et al. 2014), oder ob sie nur als Begleiterscheinung im Rahmen der Arthrose auftreten. Arthrotisch veränderte Gelenke zeigen eine sehr hohe Prävalenz von Kalzifizierungen (Hawellek et al. 2016a; Hubert et al. 2016; Fuerst et al. 2009a; Mitsuyama et al. 2007), außerdem korreliert der klinische Schweregrad der Arthrose mit der Menge an nachweisbaren Calciumphosphaten in der Synovia (Nalbant et al. 2003) und geht mit dem Schweregrad der klinischen Symptomatik bei Cox- und Gonarthrose einher (Fuerst et al. 2009a; Fuerst et al. 2009b). In unseren Daten konnten in allen degenerativ veränderten Proben (OARSI ≥ 3) des Schultergelenkes (100%, n=31/31) und in nahezu allen Proben des Hüftgelenkes (96%, n=24/25) Kalzifizierung nachgewiesen werden. Trotz der Tatsache, dass der größte Teil der untersuchten Gelenke (Schultergelenk: 82% und Hüftgelenk: 85.5%) nur geringe degenerative Veränderungen (OARSI < 3) aufwies, konnte ein altersadjustierter signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz von Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels und dem histologischen Grad der Degeneration für die Schulter- und das Hüftgelenk detektiert werden. Zudem korrelierte die Menge an

Kalzifizierungen mit der histologischen Degeneration des hyalinen Knorpels beider Gelenke, sodass die vorliegenden Ergebnisse die Hypothese unterstützen, dass Kalzifizierungen mit dem Arthroseprozess eng gekoppelt sind, da weder ein Einfluss des Alters oder des BMI verzeichnet werden konnte. Dies spricht für einen potentiellen pathophysiologischen Zusammenhang, der auch von anderen Autoren beschrieben wurde (Fuerst et al. 2009a; Hubert et al. 2016; Hubert et al. 2018; Hawellek et al. 2016a; Hawellek et al. 2016b). Erstaunlicherweise traten Kalzifizierungen jedoch nicht nur im arthrotisch veränderten Knorpel, sondern auch im histologisch intakten Knorpel (OARSI <3) auf. So wurden Kalzifizierungen im intakten Knorpel des Schultergelenkes in 92.2% (130/141) und im Hüftgelenk in 86.4% (127/147) nachgewiesen. Das Auftreten von Kalzifizierungen im intakten Knorpel konnte bereits in den Arbeiten von Hawellek et al. (2016a) und Hubert et al. (2016) belegt werden, sodass Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels nicht nur ein Begleitphänomen im Arthroseprozess darstellen. Vielmehr scheint das Auftreten im gesunden intakten Knorpelgewebe und im jungen Alter sowie der signifikante Zusammenhang zwischen der Menge an Kalzifizierungen und dem histologischen Grad der Arthrose Hinweise zu liefern, dass Kalzifizierungen dem Arthroseprozess vorausgehen oder diesen sogar induzieren können, wobei in diesem Studiendesign kein kausaler Zusammenhang hergestellt werden kann. Um diesen kausalen Zusammenhang weiter zu beleuchten, sind Longitudinalstudien notwendig, die mit einer hochsensitiven Methode Kalzifizierungen bereits im Anfangsstadium nachweisen und quantifizieren können und im Verlauf eines Lebens einen Anstieg der Kalzifizierungen mit der Zunahme des Degenerationsgrads objektivieren und somit belegen könnten. Bis dato liegen diese Ergebnisse nicht vor, sodass der pathogenetische Zusammenhang weiter ungeklärt bleibt.

Zusammenfassend konnte kein Zusammenhang mit dem Alter oder dem BMI weder für das Schulter- noch für das Hüftgelenk nachgewiesen werden. Es bestand jedoch ein Zusammenhang mit dem histologischen Grad der Degeneration des hyalinen Knorpels. Dieser konnte sowohl für das Schulter- als auch für das Hüftgelenk belegt werden, wobei die Menge an Kalzifizierungen mit dem histologischen Grad der Degeneration des hyalinen Knorpels (nach der OARSI-Klassifikation) sowohl im Schulter- als auch im Hüftgelenk korrelierte.

5.2. Limitationen

Im Folgenden sollen die Methodik und die Ergebnisse der vorliegenden Studie kritisch diskutiert werden. Die aufgeführten Limitationen haben insgesamt keine tiefgreifenden Auswirkungen auf die Daten und Ergebnisse dieser Studie.

Da es sich um eine post-mortem Querschnittsstudie handelt, liegen keine detaillierten Daten zu vorbestehenden Erkrankungen der Verstorbenen vor, die möglicherweise die Entstehung der Kalzifizierungen im Knorpel (wie z.B. Störungen der Calcium-Phosphat-Homöostase, Hyperparathyreoidismus, Niereninsuffizienz, Hypophosphatasie) beeinflussen können. Des Weiteren fehlen Daten über repetitive Traumata, die im Verlauf des Lebens auftreten können und eventuell zu Läsionen des Knorpelgewebes geführt haben könnten. Außerdem limitiert das Studiendesign einer Querschnittsstudie die Untersuchung potentieller Einflüsse der Kalzifizierungen auf das Fortschreiten der Arthrose. Diese können nur in Longitudinalstudien mit hochsensitiven Methoden evaluiert werden.

Es wurden nur standardisierte Knorpel-Knochen-Scheiben aus den jeweiligen Gelenken mittels DCR untersucht. Die untersuchten Knorpel-Knochenscheiben reflektieren jedoch nur einen Teil der gesamten Gelenkfläche. Es kann somit nicht das gesamte Ausmaß der Kalzifizierung erfasst werden, sodass über die drei evaluierten Knorpel-Knochen-Scheiben nur indirekte Rückschlüsse auf die gesamte Kalzifizierung der untersuchten Gelenke gezogen werden können. Zur genauen Verifizierung der gesamten Kalzifizierung des Gelenkes wären hochauflösende dreidimensionale Untersuchungen sinnvoll, die bis heute jedoch nicht verfügbar sind. Die verfügbaren Methoden wie MRT und CT weisen im Vergleich zur DCR nur eine insuffiziente Auflösung auf.

Neben der Tatsache, dass die DCR nur *ex vivo* eingesetzt werden kann, ist ein weiterer bedeutender Nachteil der DCR, dass die Knorpelkalzifizierung nur zweidimensional quantifiziert werden kann, wodurch Überlagerungseffekte nicht auszuschließen sind und somit die ermittelte Menge an Kalzifikationen niedriger ausfallen kann.

Des Weiteren wurde keine Prädilektionsstelle für Kalzifizierungen gesucht. Die Auswahl der drei verwendeten Knorpel-Knochenscheiben erfolgte, um sowohl die Hauptbelastungszone als auch periphere Bereiche zu untersuchen, ohne dass bekannt ist, inwiefern die Lokalisation im Knorpel für das Ausmaß der Kalzifizierungen eine Rolle spielen könnte (z.B. in der Nähe des Faserknorpels, der potentiell über inflammatorische Prozesse Kalzifizierungen induzieren kann).

Bei der Quantifizierung der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpelgewebe wurde ein prozentualer Anteil zur gesamten Knorpelfläche berechnet. Diese Werte können ebenfalls durch verschiedene Faktoren, wie z.B. Abweichung von einer orthogonalen Sägeebene, Reduktion des Knorpels durch Arthrose, beeinflusst werden. Außerdem wurden bei der Quantifizierung der Kalzifizierung keine inter- oder intraindividuellen Wiederholungsmessungen durchgeführt.

Ferner wurden nur zwei mechanisch unterschiedlich stark beanspruchte Gelenke untersucht, sodass zur abschließenden Beurteilung einer systemischen Manifestation der Kalzifizierung oder dem Einfluss der mechanischen Belastung eine simultane Untersuchung von mehreren Gelenken in einem Individuum notwendig wäre. Weiterhin sind bei der Analyse des Zusammenhangs zwischen der Kalzifizierung und der mechanischen Belastung der Gelenke in Form des BMI keine weiteren mechanischen Einflussfaktoren wie z.B. Gelenkachsen, repetitive Mikrotraumen, berufliche oder sportliche Tätigkeiten berücksichtigt worden.

Letztlich wurde keine Differenzierung der Kalzifizierungen im hyalinen Knorpel (BCP- oder CPPD-Kristalle) durchgeführt, die simultan im Knorpelgewebe auftreten können, sich jedoch pathophysiologisch unterscheiden. Eine Differenzierung dieser Calcium-Phosphat-Ablagerungen wäre im Hinblick auf die Assoziation mit der Entstehung der Arthrose sinnvoll und sollte in Zukunft evaluiert werden.

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden post-mortem Querschnittsstudie wurde die Prävalenz und das Ausmaß der Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels des Schulter- und Hüftgelenks in der Allgemeinbevölkerung mittels hochauflösender digitaler Kontaktradiographie untersucht und ihr Zusammenhang mit Alter, BMI und Degeneration des Knorpels festgestellt. Ziel war die Untersuchung eines Unterschieds zwischen lasttragenden Hüft- und nicht-lasttragendem Schultergelenk und ob es sich um einen lokalen (monoartikulären) oder um einen systemischen (polyartikulären) Prozess handelt. Insgesamt wurden 344 Gelenke (je 172 Hüft- und Schultergelenke) von 86 Patienten untersucht. Mittels digitaler Kontaktradiographie wurde die Menge an Kalzifizierung des hyalinen Knorpels gemessen, außerdem erfolgte die histologische Bestimmung des Grads der Arthrose (OARSI).

Es konnte eine sehr hohe Prävalenz (100%) von Kalzifizierungen in der Studienpopulation nachgewiesen werden. Insgesamt waren 90.7% aller Gelenke betroffen (Hüfte: 87.8%; Schulter 93.6%), unabhängig von Seite (Hüfte: $p=0.5$; Schulter $p=0.1$), Alter (Hüfte: $p=0.17$; Schulter: $p=0.54$), Geschlecht (Hüfte: $p=0.09$; Schulter: $p=0.55$) oder Last/BMI (Hüfte: $p=0.48$; Schulter: $p=0.06$), mit gleichzeitigem Befall der untersuchten Gelenke, auch in jungen Patienten und Patienten mit intaktem Knorpel.

Es konnte kein Zusammenhang zwischen Ausmaß der Kalzifizierungen und Geschlecht (Hüfte: $p=1.07$; Schulter $p=0.12$), Seite (Hüfte: $P=1.07$; Schulter $p=0.12$), Alter (Hüfte: $p=0.3$; Schulter $p=0.23$) oder Last/BMI (Hüfte: $p=0.23$; Schulter $p=0.32$).

Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Ausmaß der Kalzifizierungen und histologischen Grad der Arthrose nachgewiesen werden (Hüfte: $r=0.27$, $p<0.001$; Schulter $r=0.32$; $p<0.001$), auch Patienten mit makroskopisch intakten Knorpel.

Zusammenfassend zeigte sich eine hohe Prävalenz von Kalzifizierungen in Gelenken die unterschiedlichen mechanischen Belastungen ausgesetzt waren, unabhängig von Geschlecht, Alter oder Seite, dabei konnten Kalzifizierungen schon in einem jungen Alter und bei intaktem Knorpel mit simultanem Befallsmuster nachgewiesen werden. Das Ausmaß der Kalzifizierungen korrelierte signifikant zwischen den Gelenken ohne Einfluss des BMI. Damit zeigen sich deutliche

Hinweise, dass es sich bei Kalzifizierungen des hyalinen Knorpels des Schulter- und Hüftgelenks nicht um einen lokalen, monoartikulären Prozess, sondern um einen systemischen Prozess handelt.

Kalzifizierungen konnten schon in makroskopisch intakten Knorpel nachgewiesen werden, wobei das Ausmaß der Kalzifizierungen signifikant mit dem Grad der Arthrose korreliert. Dies zeigt, dass es sich bei den Kalzifizierungen nicht um ein lokales Epiphänomen der Arthrose handelt, sondern dass sie der Arthrose vorausgehen und Möglicherweise auslösen oder begünstigen können. Ein Kausalzusammenhang muss jedoch mittels longitudinalen Studien nachgewiesen werden

7. Abstract

The aim of this cross-sectional post-mortem study was to investigate the prevalence and amount of hyaline cartilage calcification of the shoulder and hip joint in the general population using high-resolution digital contact radiography and to determine the association between age, BMI and degeneration of the cartilage. Furthermore, potential differences in the manifestation of cartilage calcifications between the non-weight-bearing shoulder joint and the weight-bearing hip joint were analyzed and evaluated whether cartilage calcification is a local (monoarticular) or a systemic (polyarticular) process.

In total 344 joints (172 shoulder and hip joints) of 86 patients have been examined. Digital contact radiography was used to measure calcification of the hyaline cartilage and the histological OA grade (OARSI) was determined.

A high prevalence of calcifications in the study population (100%) could be shown. In total 90.7% of joints were afflicted (hip 87.8%; shoulder: 93.6%), independent of side (hip: $p=0.5$, shoulder: $p=0.1$), age (hip: $p=0.17$, shoulder: $p=0.54$), sex (hip: $p=0.09$, shoulder: $p=0.55$) and joint load/BMI (hip: $p=0.48$, shoulder: $p=0.06$), with a concurrent affliction of the evaluated joints, including young patients and patients with intact cartilage.

There was no correlation between the amount of calcification and sex (hip: $p=1.07$, shoulder: $p=0.12$), side (hip: $p=1.07$, shoulder: $p=0.12$), age (hip: $p=0.3$, shoulder: $p=0.23$) or joint load/BMI (hip: $p=0.23$, shoulder: $p=0.32$). Correlation between the

amount of calcification and the histological grade of osteoarthritis could be shown (hip: $r=0.27$, $p<0.001$; shoulder: $r=0.32$, $p<0.001$), including patients with macroscopically intact cartilage.

In conclusion a high prevalence of calcifications in joints subjected to different mechanical stresses was observed independent of sex, age and side, with calcification occurring at a young age and in intact cartilage, showing a simultaneous pattern of joint infestation. The amount of calcification correlated between joints and an BMI-independent process was detected. Thus, there are clear indications that calcification of the shoulder and hip joint is not a monoarticular but a systemic process. Furthermore, calcifications could already be detected in intact cartilage and amount of calcification correlated with degree of degeneration, showing that calcifications are not an epiphenomenon of osteoarthritis, but rather precede the osteoarthritic process or even cause it. This causal relationship however needs to be confirmed in longitudinal studies.

8. Abkürzungsverzeichnis

ANKH: Progressive ankylosis protein homolog

BCP: Basische Calcium Phosphate

BMI: Body Mass Index

Ca²⁺: Calcium

CO: Calciumoxalate

CPPD: Calciumpyrophosphatdihydrat

CPPD-KA: Calciumpyrophosphatdihydrat-Kristallarthropathie

CT: Computertomographie

DCR: Digitale Kontaktradiografie

ENPP-1: Ektoonukleotidpyrophosphatase-1

EULAR: European League Against Rheumatism

hsCRP: hochsensitives C-reaktives Protein

IGF-1: Insulin-like growth factor 1

KI: Konfidenzintervall

IL-1 β : Interleukin-1 β

IL-6: Interleukin-6

MGP: Matrix Gla Protein

MMP: Matrixmetalloproteinasen

MNU: N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff

MRT: Magnetresonanztomographie

n: Stichprobenumfang

NALP3: NACHT, LRR and 12 PYD domains-containing protein 3)

OA: Osteoarthritis

OARSI: Osteoarthritis cartilage histopathology assessment system

OPG: Osteoprotegerin

p: Signifikanzwert

PGE2: Prostaglandin E2

Pit1: Sodium-dependend phosphate transporter 1

PPi: Pyrophosphat

r: Korrelationskoeffizient nach Pearson

SD: Standardabweichung

SASP: senescence-associated secretory phenotype

TGF- β : Transforming growth factor beta

TNAP: nichtgewebsspezifische alkalische Phosphatase

TNF α : Tumornekrosefaktor α

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1, S. 6: Minas T, Nehler S. Current concepts in the treatment of articular cartilage defects. Orthopedics. 1997 Jun;20(6):525-38.

Abbildung 2, S. 23: Mit freundlicher Genehmigung übersetzt und skaliert nach: Hawellek T, Hubert J, Hirschke S, Vettorazzi E, Wegscheider K, Bertrand J, Pap T, Krause M, Püschel K, Rütter W, Niemeier A. Articular Cartilage Calcification of the Humeral Head Is Highly Prevalent and Associated With Osteoarthritis in the General Population. J Orthop Res 2016;34:1984-1990

Abbildung 3, S. 23: Mit freundlicher Genehmigung übersetzt und skaliert nach: Hawellek T, Hubert J, Hirschke S, Krause M, Bertrand J, Pap T, Püschel K, Rütter W, Niemeier A. Articular cartilage calcification of the hip and knee is highly prevalent, independent of age but associated with histological osteoarthritis: evidence for a systemic disorder. Osteoarthritis Cartilage 2016;24:2092-2099

Alle hier nicht eigens nachgewiesenen Abbildungen stammen vom Autor.

10. Literaturverzeichnis

- Abhishek, A.; Doherty, S.; Maciewicz, R.; Muir, K.; Zhang, W.; Doherty, M. (2013): Evidence of a systemic predisposition to chondrocalcinosis and association between chondrocalcinosis and osteoarthritis at distant joints: a cross-sectional study. In: *Arthritis care & research* 65 (7), S. 1052–1058. DOI: 10.1002/acr.21952.
- Abhishek, Abhishek; Doherty, Michael (2016): Update on calcium pyrophosphate deposition. In: *Clinical and experimental rheumatology* 34 (4 Suppl 98), S. 32–38.
- Abhishek, Abhishek; Doherty, Sally; Maciewicz, Rose; Muir, Kenneth; Zhang, Weiya; Doherty, Michael (2012): Chondrocalcinosis is common in the absence of knee involvement. In: *Arthritis research & therapy* 14 (5), R205. DOI: 10.1186/ar4043.
- Abreu, M.; Johnson, K.; Chung, C. B.; Lima, J. E. de; Trudell, D.; Terkeltaub, R. et al. (2004): Calcification in calcium pyrophosphate dihydrate (CPPD) crystalline deposits in the knee: anatomic, radiographic, MR imaging, and histologic study in cadavers. In: *Skeletal radiology* 33 (7), S. 392–398. DOI: 10.1007/s00256-004-0767-9.
- Afoke, N. Y.; Byers, P. D.; Hutton, W. C. (1987): Contact pressures in the human hip joint. In: *The Journal of bone and joint surgery. British volume* 69 (4), S. 536–541.
- Al-Arfaj, A. S. (2002): The relationship between chondrocalcinosis and osteoarthritis in Saudi Arabia. In: *Clinical Rheumatology* 21 (6), S. 493–496. DOI: 10.1007/s100670200121.
- Becerra, José; Andrades, José A.; Guerado, Enrique; Zamora-Navas, Plácido; López-Puertas, José M.; Reddi, A. Hari (2010): Articular cartilage: structure and regeneration. In: *Tissue engineering. Part B, Reviews* 16 (6), S. 617–627. DOI: 10.1089/ten.TEB.2010.0191.
- Bergström, G.; Bjelle, A.; Sundh, V.; Svanborg, A. (1986): Joint disorders at ages 70, 75 and 79 years--a cross-sectional comparison. In: *British journal of rheumatology* 25 (4), S. 333–341. DOI: 10.1093/rheumatology/25.4.333.
- Bertrand, J.; Nitschke, Y.; Fuerst, M.; Hermann, S.; Schäfers, M.; Sherwood, J. et al. (2012): Decreased levels of nucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1 are associated with cartilage calcification in osteoarthritis and trigger osteoarthritic changes in mice. In: *Annals of the rheumatic diseases* 71 (7), S. 1249–1253. DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-200892.
- Bertrand, J.; Pap, T. (2012): Neues aus der Arthroseforschung. In: *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)* 137 (36), S. 1766–1768. DOI: 10.1055/s-0032-1305207.

- Borchardt-Ott, Walter (2009): *Kristallographie. Eine Einführung für Naturwissenschaftler*; mit 47 Tab. 7., überarb. und erw. Aufl. Berlin: Springer (Springer-Lehrbuch).
- Boström, Kristina I. (2016): Where do we stand on vascular calcification? In: *Vascular pharmacology* 84, S. 8–14. DOI: 10.1016/j.vph.2016.05.014.
- Conway, Richard; McCarthy, Geraldine M. (2018): Calcium-Containing Crystals and Osteoarthritis: an Unhealthy Alliance. In: *Current rheumatology reports* 20 (3), S. 13. DOI: 10.1007/s11926-018-0721-9.
- Couri, Carlos Eduardo Barra; da Silva, Geruza Alves; Martinez, José Antônio Baddini; Pereira, Francisco de Assis; Paula, Francisco José Albuquerque de (2005): Mönckeberg's sclerosis - is the artery the only target of calcification? In: *BMC Cardiovascular Disorders* 5, S. 34. DOI: 10.1186/1471-2261-5-34.
- Decker, Rebekah S.; Koyama, Eiki; Pacifici, Maurizio (2015): Articular cartilage: structural and developmental intricacies and questions. In: *Current osteoporosis reports* 13 (6), S. 407–414. DOI: 10.1007/s11914-015-0290-z.
- Dhollander, A. A. M.; Lambrecht, S.; Verdonk, P. C. M.; Audenaert, E. A.; Almqvist, K. F.; Pattyn, C. et al. (2012): First insights into human acetabular labrum cell metabolism. In: *Osteoarthritis and cartilage* 20 (7), S. 670–677. DOI: 10.1016/j.joca.2012.03.023.
- Dorozhkin, Sergey V. (2011): Calcium orthophosphates: occurrence, properties, biomineralization, pathological calcification and biomimetic applications. In: *Biomatter* 1 (2), S. 121–164. DOI: 10.4161/biom.18790.
- Ea, Hang-Korng; Chobaz, Véronique; Nguyen, Christelle; Nasi, Sonia; van Lent, Peter; Daudon, Michel et al. (2013): Pathogenic role of basic calcium phosphate crystals in destructive arthropathies. In: *PloS one* 8 (2), e57352. DOI: 10.1371/journal.pone.0057352.
- Ea, Hang-Korng; Lioté, Frédéric (2009): Advances in understanding calcium-containing crystal disease. In: *Current opinion in rheumatology* 21 (2), S. 150–157. DOI: 10.1097/BOR.0b013e3283257ba9.
- Ea, Hang-Korng; Nguyen, Christelle; Bazin, Dominique; Bianchi, Arnaud; Guicheux, Jérôme; Reboul, Pascal et al. (2011): Articular cartilage calcification in osteoarthritis: insights into crystal-induced stress. In: *Arthritis and rheumatism* 63 (1), S. 10–18. DOI: 10.1002/art.27761.
- Ea, Hang-Korng; Uzan, Benjamin; Rey, Christian; Lioté, Frédéric (2005): Octacalcium phosphate crystals directly stimulate expression of inducible nitric oxide synthase through p38 and JNK mitogen-activated protein kinases in articular chondrocytes. In: *Arthritis research & therapy* 7 (5), R915-26. DOI: 10.1186/ar1763.
- Eyre, David (2002): Collagen of articular cartilage. In: *Arthritis research* 4 (1), S. 30–35. DOI: 10.1186/ar380.

- Felson, D. T. (1988): Epidemiology of hip and knee osteoarthritis. In: *Epidemiologic reviews* 10, S. 1–28.
- Felson, D. T. (1996): Weight and osteoarthritis. In: *The American journal of clinical nutrition* 63 (3 Suppl), 430S-432S. DOI: 10.1093/ajcn/63.3.430.
- Felson, D. T.; Anderson, J. J.; Naimark, A.; Kannel, W.; Meenan, R. F. (1989): The prevalence of chondrocalcinosis in the elderly and its association with knee osteoarthritis: the Framingham Study. In: *The Journal of rheumatology* 16 (9), S. 1241–1245.
- Felson, D. T.; Lawrence, R. C.; Dieppe, P. A.; Hirsch, R.; Helmick, C. G.; Jordan, J. M. et al. (2000a): Osteoarthritis: new insights. Part 1: the disease and its risk factors. In: *Annals of internal medicine* 133 (8), S. 635–646.
- Felson, D. T.; Lawrence, R. C.; Hochberg, M. C.; McAlindon, T.; Dieppe, P. A.; Minor, M. A. et al. (2000b): Osteoarthritis: new insights. Part 2: treatment approaches. In: *Annals of internal medicine* 133 (9), S. 726–737.
- Fuerst, M.; Bertrand, J.; Lammers, L.; Dreier, R.; Echtermeyer, F.; Nitschke, Y. et al. (2009a): Calcification of articular cartilage in human osteoarthritis. In: *Arthritis and rheumatism* 60 (9), S. 2694–2703. DOI: 10.1002/art.24774.
- Fuerst, M.; Haybaeck, J.; Zustin, J.; Rütther, W. (2009b): Kristallarthropathien. In: *Der Orthopade* 38 (6), S. 501–510. DOI: 10.1007/s00132-008-1397-z.
- Fuerst, M.; Zustin, J.; Rütther, W. (2011): Kristallarthropathien. In: *Der Pathologe* 32 (3), S. 193–199. DOI: 10.1007/s00292-011-1422-6.
- Fuerst, Martin; Lammers, L.; Schäfer, F.; Niggemeyer, O.; Steinhagen, J.; Lohmann, C. H.; Rütther, W. (2010): Investigation of calcium crystals in OA knees. In: *Rheumatology international* 30 (5), S. 623–631. DOI: 10.1007/s00296-009-1032-2.
- Fuerst, Martin; Niggemeyer, Oliver; Lammers, Lydia; Schäfer, Fritz; Lohmann, Christoph; Rütther, Wolfgang (2009c): Articular cartilage mineralization in osteoarthritis of the hip. In: *BMC Musculoskeletal Disorders* 10, S. 166. DOI: 10.1186/1471-2474-10-166.
- Gandhi, Rajiv; Wasserstein, David; Razak, Fahad; Davey, J. Roderick; Mahomed, Nizar N. (2010): BMI independently predicts younger age at hip and knee replacement. In: *Obesity (Silver Spring, Md.)* 18 (12), S. 2362–2366. DOI: 10.1038/oby.2010.72.
- Golub, Ellis E. (2011): Biomineralization and matrix vesicles in biology and pathology. In: *Seminars in immunopathology* 33 (5), S. 409–417. DOI: 10.1007/s00281-010-0230-z.
- Halverson, P. B.; Cheung, H. S.; McCarty, D. J.; Garancis, J.; Mandel, N. (1981): "Milwaukee shoulder"--association of microspheroids containing hydroxyapatite crystals, active collagenase, and neutral protease with rotator cuff defects. II. Synovial fluid studies. In: *Arthritis and rheumatism* 24 (3), S. 474–483.

- Hawellek, T.; Hubert, J.; Hischke, S.; Krause, M.; Bertrand, J.; Pap, T. et al. (2016a): Articular cartilage calcification of the hip and knee is highly prevalent, independent of age but associated with histological osteoarthritis: evidence for a systemic disorder. In: *Osteoarthritis and cartilage* 24 (12), S. 2092–2099. DOI: 10.1016/j.joca.2016.06.020.
- Hawellek, Thelonius; Hubert, Jan; Hischke, Sandra; Vettorazzi, Eik; Wegscheider, Karl; Bertrand, Jessica et al. (2016b): Articular cartilage calcification of the humeral head is highly prevalent and associated with osteoarthritis in the general population. In: *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* 34 (11), S. 1984–1990. DOI: 10.1002/jor.23227.
- Hubert, Jan; Hawellek, Thelonius; Hischke, Sandra; Bertrand, Jessica; Krause, Matthias; Püschel, Klaus et al. (2016): Hyaline cartilage calcification of the first metatarsophalangeal joint is associated with osteoarthritis but independent of age and BMI. In: *BMC Musculoskeletal Disorders* 17. DOI: 10.1186/s12891-016-1324-0.
- Hubert, Jan; Weiser, Lukas; Hischke, Sandra; Uhlig, Annemarie; Rolvien, Tim; Schmidt, Tobias et al. (2018): Cartilage calcification of the ankle joint is associated with osteoarthritis in the general population. In: *BMC Musculoskeletal Disorders* 19 (1), S. 169. DOI: 10.1186/s12891-018-2094-7.
- Jones, A. C.; Chuck, A. J.; Arie, E. A.; Green, D. J.; Doherty, M. (1992): Diseases associated with calcium pyrophosphate deposition disease. In: *Seminars in arthritis and rheumatism* 22 (3), S. 188–202.
- Juchtmans, Nele; Dhollander, Aad A. M.; Coudenys, Julie; Audenaert, Emmanuel A.; Pattyn, Christophe; Lambrecht, Stijn; Elewaut, Dirk (2015): Distinct dysregulation of the small leucine-rich repeat protein family in osteoarthritic acetabular labrum compared to articular cartilage. In: *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)* 67 (2), S. 435–441. DOI: 10.1002/art.38930.
- Knudson, C. B.; Knudson, W. (2001): Cartilage proteoglycans. In: *Seminars in cell & developmental biology* 12 (2), S. 69–78. DOI: 10.1006/scdb.2000.0243.
- Kobayashi, Tsutomu; Takagishi, Kenji; Shitara, Hitoshi; Ichinose, Tsuyoshi; Shimoyama, Daisuke; Yamamoto, Atsushi et al. (2014): Prevalence of and risk factors for shoulder osteoarthritis in Japanese middle-aged and elderly populations. In: *Journal of shoulder and elbow surgery* 23 (5), S. 613–619. DOI: 10.1016/j.jse.2013.11.031.
- Krishnan, Yamini; Grodzinsky, Alan J. (2018): Cartilage diseases. In: *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology* 71-72, S. 51–69. DOI: 10.1016/j.matbio.2018.05.005.
- Kujala, U. M.; Kettunen, J.; Paananen, H.; Aalto, T.; Battié, M. C.; Impivaara, O. et al. (1995): Knee osteoarthritis in former runners, soccer players, weight lifters, and shooters. In: *Arthritis and rheumatism* 38 (4), S. 539–546.

- Lindberg, H.; Roos, H.; Gärdsell, P. (1993): Prevalence of coxarthrosis in former soccer players. 286 players compared with matched controls. In: *Acta orthopaedica Scandinavica* 64 (2), S. 165–167.
- Loeser, Richard F. (2011): Aging and osteoarthritis. In: *Current opinion in rheumatology* 23 (5), S. 492–496. DOI: 10.1097/BOR.0b013e3283494005.
- Lübbecke, Anne; Duc, Sylvain; Garavaglia, Guido; Finckh, Axel; Hoffmeyer, Pierre (2009): BMI and severity of clinical and radiographic signs of hip osteoarthritis. In: *Obesity (Silver Spring, Md.)* 17 (7), S. 1414–1419. DOI: 10.1038/oby.2008.663.
- MacMullan, Paul; McMahan, Gillian; McCarthy, Geraldine (2011): Detection of basic calcium phosphate crystals in osteoarthritis. In: *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme* 78 (4), S. 358–363. DOI: 10.1016/j.jbspin.2010.10.008.
- March, L. M.; Bachmeier, C. J. (1997): Economics of osteoarthritis: a global perspective. In: *Bailliere's clinical rheumatology* 11 (4), S. 817–834. DOI: 10.1016/s0950-3579(97)80011-8.
- Marti, B.; Knobloch, M.; Tschopp, A.; Jucker, A.; Howald, H. (1989): Is excessive running predictive of degenerative hip disease? Controlled study of former elite athletes. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 299 (6691), S. 91–93.
- McAlindon, T. E.; Jacques, P.; Zhang, Y.; Hannan, M. T.; Aliabadi, P.; Weissman, B. et al. (1996): Do antioxidant micronutrients protect against the development and progression of knee osteoarthritis? In: *Arthritis and rheumatism* 39 (4), S. 648–656.
- McCarthy, G. M.; Westfall, P. R.; Masuda, I.; Christopherson, P. A.; Cheung, H. S.; Mitchell, P. G. (2001): Basic calcium phosphate crystals activate human osteoarthritic synovial fibroblasts and induce matrix metalloproteinase-13 (collagenase-3) in adult porcine articular chondrocytes. In: *Annals of the rheumatic diseases* 60 (4), S. 399–406. DOI: 10.1136/ard.60.4.399.
- Mitsuyama, H.; Healey, R. M.; Terkeltaub, R. A.; Coutts, R. D.; Amiel, D. (2007): Calcification of human articular knee cartilage is primarily an effect of aging rather than osteoarthritis. In: *Osteoarthritis and cartilage* 15 (5), S. 559–565. DOI: 10.1016/j.joca.2006.10.017.
- Mönckeberg, J. G. (1903): Über die reine Mediaverkalkung der Extremitätenarterien und ihr Verhalten zur Arteriosklerose. In: *Virchows Arch. path Anat.* 171 (1), S. 141–167. DOI: 10.1007/BF01926946.
- Muir, H. (1995): The chondrocyte, architect of cartilage. Biomechanics, structure, function and molecular biology of cartilage matrix macromolecules. In: *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* 17 (12), S. 1039–1048. DOI: 10.1002/bies.950171208.
- Mulay, Shrikant R.; Anders, Hans-Joachim (2017): Crystal nephropathies: mechanisms of crystal-induced kidney injury. In: *Nature reviews. Nephrology* 13 (4), S. 226–240. DOI: 10.1038/nrneph.2017.10.

Musacchio, Estella; Ramonda, Roberta; Perissinotto, Egle; Sartori, Leonardo; Hirsch, Rosemarie; Punzi, Leonardo et al. (2011): The impact of knee and hip chondrocalcinosis on disability in older people: the ProVA Study from northeastern Italy. In: *Annals of the rheumatic diseases* 70 (11), S. 1937–1943. DOI: 10.1136/ard.2011.150508.

Nalbant, S.; Martinez, J. A. M.; Kitumnuaypong, T.; Clayburne, G.; Sieck, M.; Schumacher, H. R. (2003): Synovial fluid features and their relations to osteoarthritis severity: new findings from sequential studies. In: *Osteoarthritis and cartilage* 11 (1), S. 50–54.

Narayan, Sharmal; Pazar, Borbala; Pazar, Borbola; Ea, Hang-Korng; Kolly, Laeticia; Bagnoud, Nathaliane et al. (2011): Octacalcium phosphate crystals induce inflammation in vivo through interleukin-1 but independent of the NLRP3 inflammasome in mice. In: *Arthritis and rheumatism* 63 (2), S. 422–433. DOI: 10.1002/art.30147.

Nasi, Sonia; So, Alexander; Combes, Christèle; Daudon, Michel; Busso, Nathalie (2016): Interleukin-6 and chondrocyte mineralisation act in tandem to promote experimental osteoarthritis. In: *Annals of the rheumatic diseases* 75 (7), S. 1372–1379. DOI: 10.1136/annrheumdis-2015-207487.

Neame, R. L.; Carr, A. J.; Muir, K.; Doherty, M. (2003): UK community prevalence of knee chondrocalcinosis: evidence that correlation with osteoarthritis is through a shared association with osteophyte. In: *Annals of the rheumatic diseases* 62 (6), S. 513–518.

Nguyen, Christelle; Bazin, Dominique; Daudon, Michel; Chatron-Colliet, Aurore; Hannouche, Didier; Bianchi, Arnaud et al. (2013): Revisiting spatial distribution and biochemical composition of calcium-containing crystals in human osteoarthritic articular cartilage. In: *Arthritis research & therapy* 15 (5), R103. DOI: 10.1186/ar4283.

Oh, Joo Han; Chung, Seok Won; Oh, Chung Hee; Kim, Sae Hoon; Park, Sang Jae; Kim, Ki Woong et al. (2011): The prevalence of shoulder osteoarthritis in the elderly Korean population: association with risk factors and function. In: *Journal of shoulder and elbow surgery* 20 (5), S. 756–763. DOI: 10.1016/j.jse.2011.01.021.

Olmez, N.; Schumacher, H. R. (1999): Crystal deposition and osteoarthritis. In: *Current rheumatology reports* 1 (2), S. 107–111.

Pazár, Borbála; Ea, Hang-Korng; Narayan, Sharmal; Kolly, Laeticia; Bagnoud, Nathalie; Chobaz, Véronique et al. (2011): Basic calcium phosphate crystals induce monocyte/macrophage IL-1 β secretion through the NLRP3 inflammasome in vitro. In: *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 186 (4), S. 2495–2502. DOI: 10.4049/jimmunol.1001284.

Pendleton, Adrian; Johnson, Michelle D.; Hughes, Anne; Gurley, Kyle A.; Ho, Andrew M.; Doherty, Michael et al. (2002): Mutations in ANKH cause chondrocalcinosis. In: *American journal of human genetics* 71 (4), S. 933–940. DOI: 10.1086/343054.

- Poole, A. R.; Kojima, T.; Yasuda, T.; Mwale, F.; Kobayashi, M.; Lavery, S. (2001): Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. In: *Clinical orthopaedics and related research* (391 Suppl), S26-33. DOI: 10.1097/00003086-200110001-00004.
- Pritzker, K. P. H.; Gay, S.; Jimenez, S. A.; Ostergaard, K.; Pelletier, J-P; Revell, P. A. et al. (2006): Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. In: *Osteoarthritis and cartilage* 14 (1), S. 13–29. DOI: 10.1016/j.joca.2005.07.014.
- Ramonda, R.; Musacchio, E.; Perissinotto, E.; Sartori, L.; Punzi, L.; Corti, M. C. et al. (2009): Prevalence of chondrocalcinosis in Italian subjects from northeastern Italy. The Pro.V.A. (PROgetto Veneto Anziani) study. In: *Clinical and experimental rheumatology* 27 (6), S. 981–984.
- Reyes, Carlen; Leyland, Kirsten M.; Peat, George; Cooper, Cyrus; Arden, Nigel K.; Prieto-Alhambra, Daniel (2016): Association Between Overweight and Obesity and Risk of Clinically Diagnosed Knee, Hip, and Hand Osteoarthritis: A Population-Based Cohort Study. In: *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)* 68 (8), S. 1869–1875. DOI: 10.1002/art.39707.
- Roemhildt, M. L.; Beynnon, B. D.; Gardner-Morse, M. (2012): Mineralization of articular cartilage in the Sprague-Dawley rat: characterization and mechanical analysis. In: *Osteoarthritis and cartilage* 20 (7), S. 796–800. DOI: 10.1016/j.joca.2012.04.011.
- Roemhildt, M. L.; Gardner-Morse, M. G.; Morgan, C. F.; Beynnon, B. D.; Badger, G. J. (2014): Calcium phosphate particulates increase friction in the rat knee joint. In: *Osteoarthritis and cartilage* 22 (5), S. 706–709. DOI: 10.1016/j.joca.2014.02.938.
- Rosenthal, A. K.; Ryan, LM (2005): Calcium Pyrophosphate Crystal Deposition Disease, Pseudogout, and Articular Chondrocalcinosis. In: William J. Koopmann (Hg.): *Arthritis and Allied Conditions*. Unter Mitarbeit von Larry W. Moreland. 15. Aufl., S. 2376–2380.
- Rózyło-Kalinowska, Ingrid; Złomaniec, Janusz; Jedrzejewski, Grzegorz (2002): Non-tumoral non-infectious intracranial calcifications. In: *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska. Sectio D: Medicina* 57 (2), S. 1–8.
- Sage, Andrew P.; Tintut, Yin; Demer, Linda L. (2010): Regulatory mechanisms in vascular calcification. In: *Nature reviews. Cardiology* 7 (9), S. 528–536. DOI: 10.1038/nrcardio.2010.115.
- Schinke, T.; McKee, M. D.; Karsenty, G. (1999): Extracellular matrix calcification: where is the action? In: *Nature genetics* 21 (2), S. 150–151. DOI: 10.1038/5928.
- Scotchford, C. A.; Greenwald, S.; Ali, S. Y. (1992): Calcium phosphate crystal distribution in the superficial zone of human femoral head articular cartilage. In: *Journal of Anatomy* 181 (Pt 2), S. 293–300.

Spector, T. D.; Cicuttini, F.; Baker, J.; Loughlin, J.; d. Hart (1996a): Genetic influences on osteoarthritis in women: a twin study. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 312 (7036), S. 940–943.

Spector, T. D.; Harris, P. A.; Hart, D. J.; Cicuttini, F. M.; Nandra, D.; Etherington, J. et al. (1996b): Risk of osteoarthritis associated with long-term weight-bearing sports: a radiologic survey of the hips and knees in female ex-athletes and population controls. In: *Arthritis and rheumatism* 39 (6), S. 988–995.

Speer, Mei Y.; Giachelli, Cecilia M. (2004): Regulation of cardiovascular calcification. In: *Cardiovascular Pathology* 13 (2), S. 63–70. DOI: 10.1016/S1054-8807(03)00130-3.

Stack, John; McCarthy, Geraldine (2016): Basic calcium phosphate crystals and osteoarthritis pathogenesis: novel pathways and potential targets. In: *Current opinion in rheumatology* 28 (2), S. 122–126. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000245.

Sturmer, T.; Brenner, H.; Koenig, W.; Gunther, K. (2004): Severity and extent of osteoarthritis and low grade systemic inflammation as assessed by high sensitivity C reactive protein. In: *Annals of the rheumatic diseases* 63 (2), S. 200–205. DOI: 10.1136/ard.2003.007674.

Sulzbacher, Irene (2013): Osteoarthritis: histology and pathogenesis. In: *Wiener medizinische Wochenschrift (1946)* 163 (9-10), S. 212–219. DOI: 10.1007/s10354-012-0168-y.

Thouverey, C.; Bechkoff, G.; Pikula, S.; Buchet, R. (2009): Inorganic pyrophosphate as a regulator of hydroxyapatite or calcium pyrophosphate dihydrate mineral deposition by matrix vesicles. In: *Osteoarthritis and cartilage* 17 (1), S. 64–72. DOI: 10.1016/j.joca.2008.05.020.

Valenzuela, Antonia; Chung, Lorinda (2015): Calcinosis: pathophysiology and management. In: *Current opinion in rheumatology* 27 (6), S. 542–548. DOI: 10.1097/BOR.0000000000000220.

Wilkins, E.; Dieppe, P.; Maddison, P.; Evison, G. (1983): Osteoarthritis and articular chondrocalcinosis in the elderly. In: *Annals of the rheumatic diseases* 42 (3), S. 280–284. DOI: 10.1136/ard.42.3.280.

World Health Organization (2000): Obesity. Preventing and Managing the Global Epidemic: World Health Organization.

Yin, Weihong; Park, Jong-In; Loeser, Richard F. (2009): Oxidative stress inhibits insulin-like growth factor-I induction of chondrocyte proteoglycan synthesis through differential regulation of phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt and MEK-ERK MAPK signaling pathways. In: *The Journal of biological chemistry* 284 (46), S. 31972–31981. DOI: 10.1074/jbc.M109.056838.

Zhang, W.; Doherty, M.; Bardin, T.; Barskova, V.; Guerne, P-A; Jansen, T. L. et al. (2011): European League Against Rheumatism recommendations for calcium

pyrophosphate deposition. Part I: terminology and diagnosis. In: *Annals of the rheumatic diseases* 70 (4), S. 563–570. DOI: 10.1136/ard.2010.139105.

Zitnan, D.; Sit'Aj, S. (1963): Chondrocalcinosis articularis Section L Clinical and radiological study. In: *Annals of the rheumatic diseases* 22 (3), S. 142–152. DOI: 10.1136/ard.22.3.142.

11. Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Rüther danke ich für die Bereitstellung dieser Arbeit und die Möglichkeit, an der Durchführung einer großen Studie mitzuarbeiten, sowie für die sehr gute Betreuung.

Herrn Prof. Dr. med. Michael Amling und Herrn Prof. Dr. med. Klaus Püschel möchte ich für die große Hilfe während der Sammlung und Bearbeitung der Proben sowie für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Materialien danken.

Meinen beiden Betreuern Herrn PD Dr. med. Thelonius Hawellek und Herrn PD Dr. med. Jan Hubert danke ich für die außerordentlich enge und gute Betreuung, die unendliche Geduld und die großartige Arbeitsatmosphäre.

Großer Dank auch an meinen Mitdoktoranden Dr. med. Alexander Wacker: Für die gegenseitige Unterstützung und die Gesellschaft in den ungezählten Stunden zwischen Butenfeld und Lottestraße – ohne Dich wären sie mit Sicherheit nicht so kurzweilig gewesen.

Allen Mitarbeiter:innen der Klinik und Poliklinik für Orthopädie, des Instituts für Rechtsmedizin und des Instituts für Osteologie und Biomechanik danke ich vielmals für die ungezählten Hilfestellungen und Ratschläge. Herrn André Strahl und Frau Janina Zahrt danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung und der Erstellung der zugehörigen Abbildungen.

Abschließend möchte ich von ganzem Herzen meinen Eltern, meinen Schwestern Dr. med. Christina Jebens und Charlotte Jebens und meiner Freundin Betül Sarikaya danken - ohne Euch und Eure bedingungslose Hilfe und Unterstützung wäre diese Arbeit sicherlich niemals fertig geworden.

12. Lebenslauf

Lebenslauf aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten

13. Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: