

Review

Die Viskoelastizität parallelsträngigen Bindegewebes und ihre Bedeutung für die Funktion

Th. Nemetschek¹, H. Riedl¹, R. Jonak¹, H. Nemetschek-Gansler¹,
J. Bordas², M.H.J. Koch² und V. Schilling¹

¹ Pathologisches Institut der Universität Heidelberg, Abteilung für Ultrastrukturforschung,
Im Neuenheimer Feld 220–221, D-6900 Heidelberg, Bundesrepublik Deutschland

² Europäisches Laboratorium für Molekularbiologie DESY, D-2000 Hamburg,
Bundesrepublik Deutschland

Functional Properties of Parallel Fibred Connective Tissue with Special Regard to Viscoelasticity

Summary. A limited glide of overlapping subunits of collagen fibres under stretching forces represents a characteristic feature of the system. The viscoelastic behaviour of human and animal tendon collagen is described simultaneously by mechanical, morphological and X-ray data and correlated with the structural principle of the fibres.

The existence of gliding subunits is proven by retardation- and relaxation-experiments in combination with short-time-x-ray-measurements by synchrotron-radiation. This behaviour may explain the damping properties of tendons. The retractive force of deformed helical and nonhelical molecular chains is generally thought to be responsible for the elasticity of the system.

Length-increase of tendons during growth may be also correlated with the gliding processes.

The so called conditioning-effect is due to an improved arrangement of possible reacting groups by cyclic stretch which can be well demonstrated on low ordered samples and is therefore greater in the case of juvenile specimens than in older ones.

A quick first stretch causes greater molecular deformations than further stretches of the same strength, and may lead to disordered domains in the structure.

A mathematical model for the simulation of the mechanical properties is given and was used for the calculation of some examples.

Key words: Biomechanics – Cyclic loading – Collagen – Connective tissue – Disordered fibrillar structure – Electron-microscopy – Elongation-growth – Gliding mechanism – Mechanical analogy – Pathobiomechanics – Synchrotron radiation – Viscoelastic behaviour – X-ray diffraction – Tendons.

Zusammenfassung. Eine unter Zugbelastung begrenzte Parallelverschieblichkeit sich überlappender Untereinheiten (Fibrillen und Subfibrillen) wird

als ein wesentliches Merkmal des Ordnungsprinzips kollagener Fasern angegeben.

Das viskoelastische Verhalten von menschlichem und tierischem Sehnenkollagen wird anhand kombinierter mechanischer, röntgenographischer und morphologischer Meßdaten beschrieben und mit dem Ordnungsprinzip der Fasern korreliert.

Das Vorliegen parallel verschieblicher Untereinheiten wird durch Retardations- und Relaxationsversuche in Kombination mit Kurzzeitbeugungsmessungen unter Einsatz der Synchrotronstrahlung bewiesen und mit der dämpfenden Eigenschaft der Sehnenfasern in Zusammenhang gebracht.

Für die elastische Eigenschaft der Sehnenfasern wird die Rückstellkraft deformierter helikaler und nichthelikaler Molekülketten verantwortlich gemacht.

Das Längenwachstum von Sehnenfasern wird mit dem Gleitvermögen von Untereinheiten korreliert.

Der auf eine Verbesserung der Zueinanderausrichtung potentieller Bindungspartner beruhende Konditionierungseffekt einer zyklischen Faserbelastung ist an weniger gut formierten Einheiten besonders auffällig und entsprechend an jugendlichen Sehnenfasern größer als an alten.

Die stoßartige Belastung einer Sehnenfaser aus der Ruhephase führt zu größeren molekularen Deformationen als nachfolgende gleichhohe Belastungen und kann fibrilläre Gefügestörungen hervorrufen.

Es wird eine Modellkonstruktion zur Simulation mechanischer Eigenschaften von Kollagen beschrieben und für einige Beispiele durchgerechnet.

Einleitung

Die faserige Komponente menschlicher und tierischer Sehnen, das Biopolymer Kollagen, zeigt, ähnlich wie synthetische Hochpolymere, ein kompliziertes mechanisches Verhalten, das am besten mit Begriffen aus der Theorie der Viskoelastizität beschrieben werden kann (u.a. Viidik, 1973; Arnold, 1974; Riedl und Nemetschek, 1977). Im Unterschied zu ideal elastischen Stoffen ist nämlich das mechanische Verhalten dieser Proteinfaser zeitabhängig, d.h. es ändert sich mit der Belastungs- bzw. Deformationsgeschwindigkeit. Auf der hieraus resultierenden funktionsmechanischen Anpassungsfähigkeit kollagener Fasern beruhen z.B. die Dämpfungseigenschaften und damit die Widerstandsfähigkeit des parallelsträngigen Bindegewebes gegen impulsartige Beanspruchungen. Störungen in diesem Verhalten sind im Extremfall durch Sehnenrupturen widergespiegelt; über zugrunde liegende Ursachen besteht jedoch noch keine Klarheit (Arndt, 1976). Ebenso bereitet es noch Schwierigkeiten, die Gründe für das viskoelastische Verhalten allein anhand bereits bekannter mechanischer Meßergebnisse befriedigend darzustellen. Im folgenden liegt deshalb der Hauptakzent auf der Ergänzung mechanischer Meßwerte durch Kurzzeitröntgenbeugungsmessungen unter Einsatz der Synchrotronstrahlung zur Gewinnung von Aussagen über molekulare Deformationen. Weiterhin wird eine Korrelation der erzielten Ergebnisse mit dem Ordnungsprinzip der Fasern untersucht.

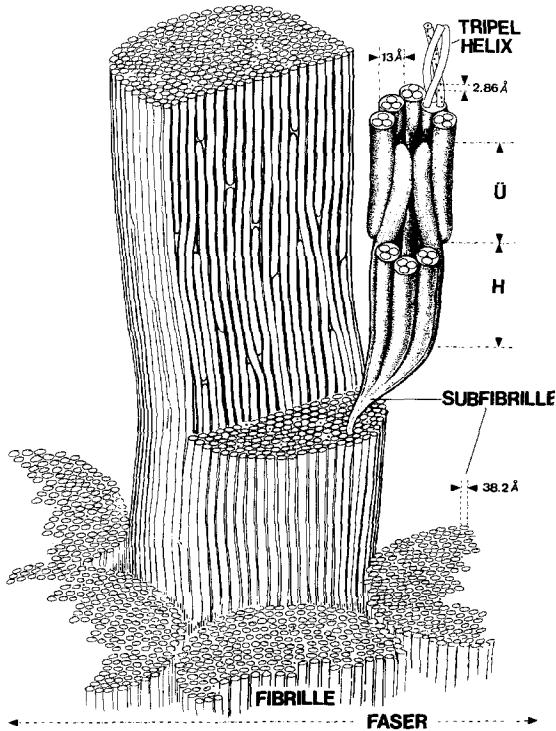


Abb. 1. Die Hierarchie des Ordnungsprinzips einer nativ feuchten Sehnenfaser. Acht Dreierschrauben assoziieren in der Art eines Schachtelhalmes (Hosemann, Dreissig und Nemetschek, 1974) zu sich überlappenden Subfibrillen. Diese bilden in annähernd tetragonaler Anordnung Fibrillen, die sich zu Fasern formieren und dabei ebenfalls überlappen. Die stark idealisierte vergrößerte Darstellung einer Subfibrille soll das Alternieren von intrasubfibrillärer Überlappungszonen (\ddot{U}) und Hohlräumen (H) (Hodge und Petruska, 1963) veranschaulichen

nisse mit morphologischen Daten, unter Einbeziehung des in Abb. 1 wiedergegebenen Ordnungsprinzips angestrebt. Im Vordergrund steht somit das Konzept eines Kollektivsystems (Kastelic et al., 1978) aus parallel angeordneten, sich überlappenden, linearen Untereinheiten (Subfibrillen und Fibrillen), deren Stabilisierung über quer zur Längsachse ausgerichtete kooperativ wirkende physikalische und chemische Bindungs Kräfte gewährleistet ist.

Material und Methoden

Als *Untersuchungsgut* dienten nativ feucht präparierte Rattenschwanz- und Rattenbeugesehnen unterschiedlichen Alters sowie oberflächlich verlaufende Fingerbeugesehnen vom Menschen. Das dermatosparaktische Kollagen wurde aus der Schwanzsehne eines 8 Tage alten Kalbes entnommen (Jonak et al., 1977).

Die *Aufbewahrung* der Proben erfolgte in Ringerlösung oder Haemaccel® bei 4° C; auch die Messungen wurden in einer dieser Flüssigkeiten durchgeführt. Soweit nicht anders angegeben, betrug die Meßtemperatur 20° C.

Der mechanische *Meßplatz* wurde bei Riedl und Nemetschek (1977) bereits beschrieben, ebenso die Einrichtung zur Registrierung der *Beugungsspektren* unter Einsatz konventioneller Röntgenstrahlung und der Synchrotronstrahlung, wie sie am Deutschen Elektronensynchrotron (DESY) in Hamburg zur Verfügung steht. Zur Auswertung der mit Synchrotronstrahlung erhaltenen und mit einem positionsempfindlichen Zähler registrierten Beugungsspektren wurde eine einfache Methode zur Peak-Ortbestimmung entwickelt (Riedl und Nemetschek, 1977). Sie besteht im wesentlichen darin, daß man die experimentell gewonnenen Peaks durch Gaußkurven approximiert.

Die *Einwirkung von Glutaraldehyd* erfolgte entweder an spannungsfrei ausgerichteten oder an um 2% gedehnten Fasern (Dehnungsgeschwindigkeit: 8%/min) bei konstant gehaltener Länge. Das eingesetzte Glutaraldehyd war vakuumdestilliert und entsprach dem für die Elektronenmikroskopie erforderlichen Reinheitsgrad (Serva, Heidelberg).

Die Einstellung der 2,5%igen Aldehydlösung auf pH 7,3 erfolgte mit 0,2 m Phosphatpuffer. Die optimale Vernetzungsdauer wurde anhand des Anstiegs der Schrumpfungstemperatur ermittelt.

Zur *Fasertrocknung* wurde ein dünnes Bündel zusammenhängender Einzelfasern aus einer 54jährigen menschlichen Fingerbeugesehne zunächst unter Ringerlösung in der Zug-Dehnungs-Apparatur konditioniert ($\varepsilon_0 = 3\%$).

Anschließend wurde bei entspannter Faser die umgebende Flüssigkeit abgezogen, die Faser durch Abtupfen soweit wie möglich von Flüssigkeitsresten befreit und an der Luft bei Raumtemperatur ($\sim 22^\circ\text{C}$) getrocknet. In kurzen Abständen (3 bis 5 min) wurden Spannungs-Dehnungs-Messungen zur Kontrolle des E-Moduls durchgeführt. Das Verstrecken der Faser erfolgte dabei immer bis zum gleichen Kraftwert. Zwischendurch wurde die Faser wieder ganz entspannt, damit sie sich kontrahieren konnte ($\sim 2\%$ Schrumpfung).

Um die Veränderung der Kurvenform der $\sigma - \varepsilon$ -Kurve während des Trocknens quantitativ zu erfassen, wurde eine Kurvenanpassung nach der Potenzfunktion $\sigma = a \cdot \varepsilon^b$ durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit einem „Digiplan“ (Kontron), wobei der Kurvenverlauf im Intervall bis $\varepsilon = 1,5\%$ durch ca. 15 Wertepaare ($\sigma - \varepsilon$ -Koordinaten) dargestellt wurde. Sinnvollerweise betrachtet man die sich ergebende Funktion nur für $\sigma \geq 0$ und $\varepsilon \geq 0$. Aufgrund der experimentellen Daten muß auch $b > 0$ sein.

Im Falle $b > 1$ nimmt $(d\sigma/d\varepsilon)$ mit wachsendem ε zu, für $b < 1$ nimmt der Differentialquotient ab und im Falle von $b = 1$ erhält man als Graph der Funktion die Gerade $\sigma = a \cdot \varepsilon$. Der Faktor „ a “ streckt oder staucht die Kurve in Richtung der σ -Achse (Ordinate).

Zur *elektronenmikroskopischen Untersuchung* der in Epon eingebetteten und mit einem Sorvall-Ultramikrotom MT II unter Einsatz von Diamantmessern geschnittenen Fibrillen stand ein Elmiskop Ia von Siemens zur Verfügung. Nachkontrastierung der Dünnschnitte mit PWS und $\text{UO}_2\text{-Ac}$.

Ergebnisse

Während die Packungsdichte der Subfibrillen in einer unter Ausbildung annähernd tetragonaler Elementarzellen auch in unverspannten Fibrillen infolge intermolekularer Vernetzungen relativ hoch ist, liegen die Fibrillen einer unverspannten Faser in lockerer Anordnung vor (Abb. 2a). Werden hingegen verspannte Fasern eingebettet, so findet man nun als Äquivalenzbild einer stattgefundenen Querschnittskontraktion im Dünnschnitt (Abb. 2b) scheinbar miteinander verschmolzene Fibrillenquerschnitte. Entsprechend dicht angeordnete Fibrillen findet man auch im Längsschnitt. Mit einer Länge von 670 Å liegt die Identitätsperiode (Langperiode) oberhalb des präparationsbedingt geringeren Wertes, der sonst an Ultradünnschnitten nicht gedehnter Fibrillen registriert wird. Ein Anstieg über den Normalwert konnte an diesem im verspannten Zustand eingebetteten Objekt nicht ermittelt werden. An verspannten Fasern führte schließlich auch die konventionelle Röntgenbeugung zu keiner erhöhten Langperiode. Anders verhält es sich bei Kurzzeitbeugungsmessungen unter Einsatz der Synchrotronstrahlung (Abb. 3). Nunmehr gelingt es, eine Längung der Identitätsperiode

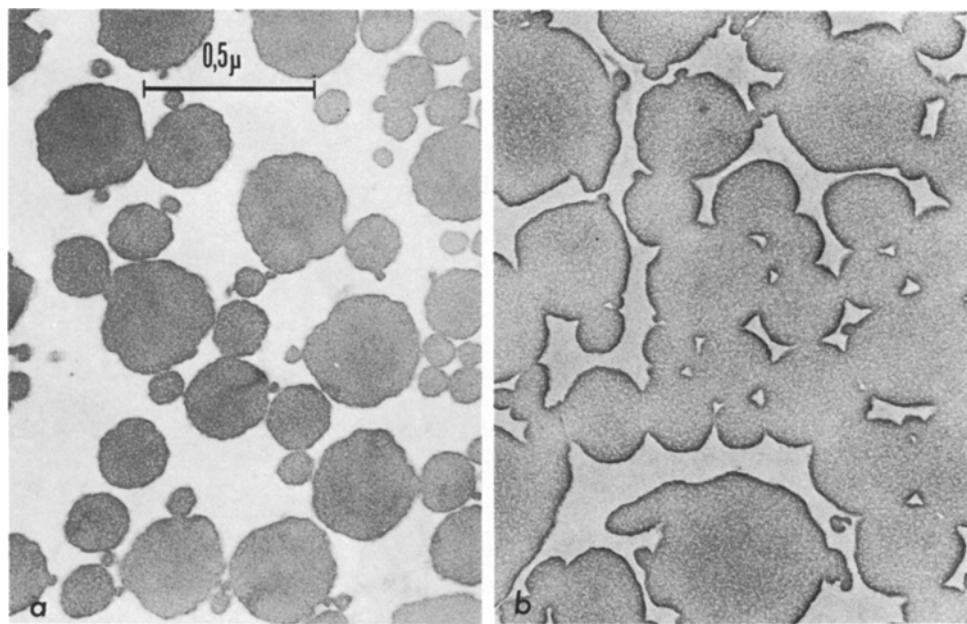


Abb. 2a und b. Packungsdichte der Fibrillen einer 24 Monate alten Rattenschwanzfaser, die in a im unverspannten und in b im verspannten Zustand eingebettet wurde. Man beachte als Folge einer Querschnittskontraktion der Faser das scheinbare Zusammenfließen der Fibrillenquerschnitte in b

[Å] Langperiode

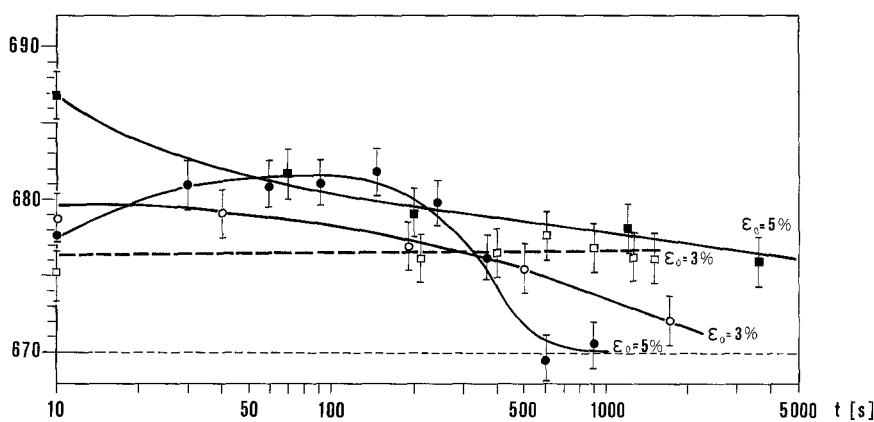


Abb. 3. Änderung der molekularen Identitätsperiode (Langperiode) als Funktion der Zeit bei konstanter Spannung (Retardation) bei Anfangsdehnungen von 3 und 5% an 6 (○, ●) und 24 Monate (□, ■) alten Fasern aus Rattenschwanzsehnen. Die Expositionzeiten lagen zwischen 50 s zu Beginn der Messungen und 200 s nach längeren Wartezeiten

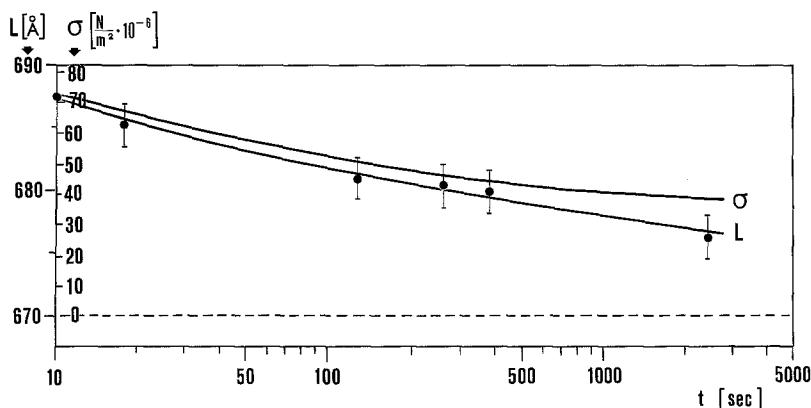


Abb. 4. Abnahme der Langperiode einer Faser mit konstanter Vordehnung als Funktion der Zeit in Gegenüberstellung mit der Relaxationskurve der gleichen Faser

an verspannten Fasern zu registrieren. Der Verlauf dieser Langperiodenänderung ist aber sowohl vom Alter der Proben als auch von deren Dehnung abhängig. So findet man an einer 24 Monate alten Faser bei einer 5%igen Anfangsdehnung und konstant gehaltener Spannung einen Anstieg der Langperiode auf 686 Å, gefolgt von einem sofort einsetzenden Rückgang. Bei einer 6 Monate alten Faser geht hingegen dem Rückgang der Identitätsperiode auf den Ausgangswert eine zeitlich auflösbare Anstiegsphase voraus. Bei einer zu Beginn des Retardationsversuches¹ 3%igen Dehnung bleibt bei der 24 Monate alten Faser der erhöhte Anfangswert während der ersten halben Stunde nach Anlegen der Spannung nahezu konstant. Hingegen erreicht die Langperiode der 6 Monate alten Probe unter den gleichen Bedingungen schon nach 1 000 s nahezu wieder den Ausgangswert, obwohl sie direkt nach Versuchsbeginn einen höheren Wert erreicht hatte als die Identitätsperiode der 24 Monate alten Faser.

Um über spannungsbedingte Deformationen der Dreierschrauben weitere Informationen zu erhalten, wurde ein Relaxationsversuch² durchgeführt, in dessen Verlauf die Langperiode wiederholt vermessen wurde (Abb. 4). Die ausgerichtete nativ feuchte Faser wurde hierzu um 6% vorgedehnt und für die Dauer der ersten Exposition (100 s) die Spannung konstant gehalten. Die nachfolgenden Aufzeichnungen wurden in kürzeren Zeiten (30 s) gemacht, um die Langperiodenänderung während der Exposition möglichst gering zu halten. In Abb. 4 wurde schließlich auch die Änderung der an der Faser anliegenden Spannung (Relaxationskurve) eingetragen. Man erkennt, daß die Spannung mit einer größeren Zeitkonstante abfällt als die Langperiode.

In Abb. 5 ist die Langperiodenänderung als Funktion der Dehnung bei Fasern aus unterschiedlich alten menschlichen Fingerbeugesehnen wiedergegeben. Um die Proben in einen definierten Ausgangszustand zu versetzen, wurden sie gleichmäßig vorkonditioniert, d.h. fünfmal um 4% verstreckt. Zwischen den

¹ *Retardation*: Zunahme der Deformation (Dehnung) mit der Zeit bei konstanter Spannung

² *Relaxation*: Abnahme der Spannung bei einer konstanten Deformation (Dehnung)

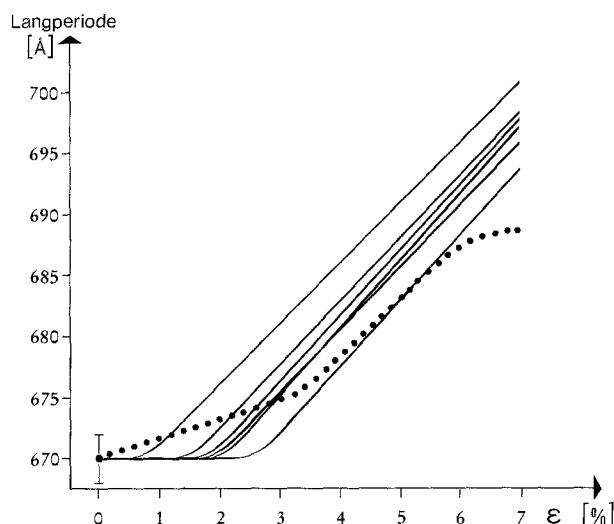


Abb. 5. Änderung der Langperiode menschlicher Fingerbeugesehnen unterschiedlichen Alters (9 Monate, 19 Jahre und 54 Jahre) als Funktion der Probendehnung. Die punktierte Kurve stellt die an einer 22 Monate alten Rattenschwanzsehne erhaltenen Ergebnisse dar

Expositionen, die jeweils 30 s dauerten, lagen Pausen von 20 s, in denen die Fasern auf den nächsthöheren Dehnungswert eingestellt wurden. Wie sich aus dem Diagramm ergibt, setzt eine Deformation der Molekülketten erst oberhalb einer Dehnung von 2% ein. Die Steigungen der Geraden, die die Änderung der molekularen Identitätsperiode in Abhängigkeit vom Verstreckungsgrad wiedergeben, liegen sehr dicht zusammen. Insbesondere ist keine Altersabhängigkeit festzustellen.

Erfolgt nun die Faserdehnung in rhythmischen Abständen öfters hintereinander ohne Überschreitung eines für ε_{\max} faserspezifischen Grenzwertes ($\sim 3\%$ bei Rattenschwanzsehnen), so registriert man im Sinne einer Konditionierung einen Anstieg des E -Moduls, mit dem in Abb. 6 wiedergegebenen Verlauf. Dabei erreichen sowohl E_1 als auch E_2 ³ nach fünf Dehnungen einen Grenzwert. Verfolgt man weiterhin die Konditionierung in Abhängigkeit vom Alter, so findet man an jungen Fasern einen höheren Effekt als an alten (Abb. 7). Bemerkenswerterweise verhalten sich dabei im unverspannten Zustand künstlich vernetzte Fasern bei der Konditionierung ähnlich wie natives Kollagen. Das rhythmische Dehnen an im verspannten Zustand vernetzten Fasern hat, wie aus Abb. 7 ersichtlich, nur einen geringen Anstieg des E -Moduls zur Folge.

Der relativ größte Konditionierungseffekt wurde an Schwanzsehnenfasern eines dermatosparaktischen Kalbes erzielt. Hier lag die maximale Zunahme des E -Moduls bei ca. 1200% (Abb. 8) und war jeweils am höchsten an dicken mehrsträngigen Fasern (Jonak et al., 1977).

Die Kurzzeitregistrierung der Langperiode zyklisch belasteter Fasern führte zu den in Abb. 9 wiedergegebenen Meßdaten. Man erkennt, daß bereits bei einer kurzzeitigen Dehnung um 3% die Molekülketten gelängt werden und

³ Die E -Moduln E_1 und E_2 entnimmt man dem linearen Teil der Spannungs-Dehnungs-Kurven

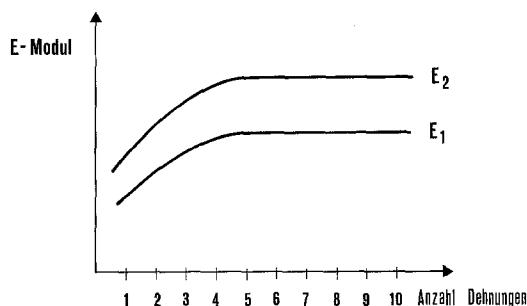


Abb. 6. Schematische Darstellung des Anstiegs der E_1 - und E_2 -Moduln (Bowitz et al., 1975) in Abhängigkeit der Anzahl Dehnungen

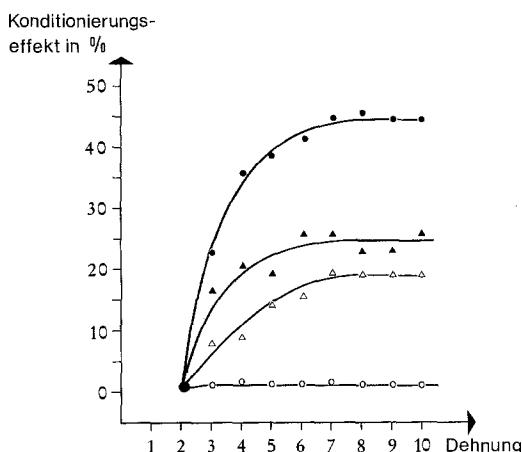


Abb. 7. E -Modul-Erhöhung durch Konditionieren bei nativen und verspannt vernetzten Fasern aus verschiedenen alten Rattenschwanzsehnen. ●: 9 Wochen; ▲: 12 Monate; △: $3\frac{1}{2}$ Jahre; ○: mit Glutaraldehyd bei pH 7,3 behandelt

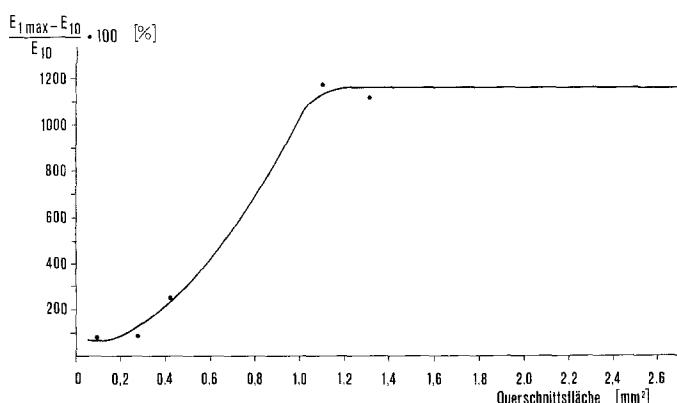


Abb. 8. Maximale durch Konditionierung erzielte E -Modul-Änderungen in Abhängigkeit vom Faserquerschnitt. Die E -Modul-Werte wurden aus Konditionierungskurven entnommen, die an Fasern aus Schwanzsehnen eines dermatosparaktischen Kalbes registriert wurden (Jonak et al., 1977)

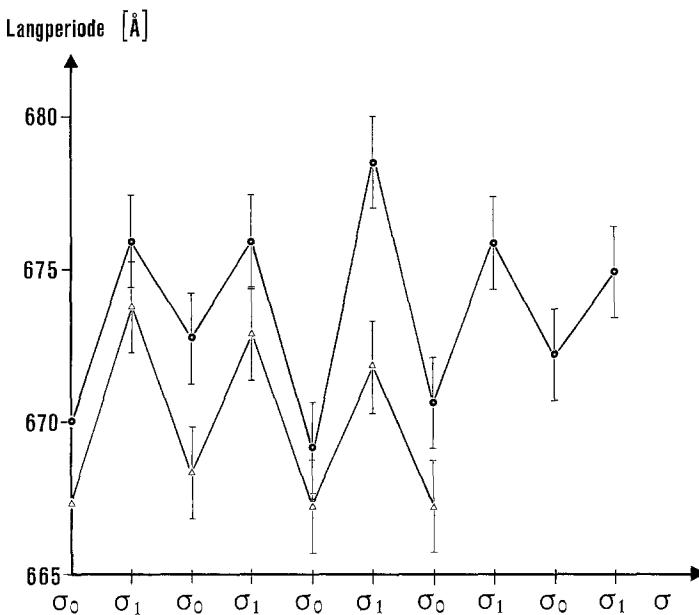


Abb. 9. Langperioden-Änderung nativer (○) und entspannt mit Glutaraldehyd vernetzter (Δ) Fasern aus Rattenschwanzsehnen beim Konditionieren ($\varepsilon_0 \approx 3\%$). Die Expositionzeiten lagen bei 30 s

Tabelle 1. Einfluß einer künstlichen Vernetzung auf die E -Moduln und die Thermostabilität von Fasern verschieden alter Rattenschwanzsehnen in Abhängigkeit vom Verstreckungsgrad

Alter	Aldehyd	ε	ΔE_1	ΔE_2	T_S [°C]
2 Monate	Formaldehyd	0 2-3%	— $92\% \pm 15$	— $72\% \pm 17$	79-80
2 Monate	Glutaraldehyd	0 2-3%	— $72\% \pm 36$	— $57\% \pm 24$	78-79
12 Monate	Formaldehyd	0 2-3%	— $74\% \pm 26$	— $71\% \pm 25$	79-80
12 Monate	Glutaraldehyd	0 2-3%	— $50\% \pm 7$	— $47\% \pm 8$	79-80
3,5 Jahre	Glutaraldehyd	2-3%	$39\% \pm 10$	$46\% \pm 9$	80

nach Entlastung annähernd auf den Ausgangszustand zurückgehen, widergespiegelt in einem Anstieg bzw. Abfall der Langperiode.

Um Klarheit über den Einfluß zusätzlicher Vernetzungen auf das Verhalten der Subfibrille bei dieser Belastungsart zu erhalten, wurden die gleichen Messungen auch an künstlich vernetzten Fasern ausgeführt. Zum Einsatz gelangten dabei nur im unverspannten Zustand mit Aldehyden behandelte Fasern (Abb. 9). Man erkennt, daß die Langperiodenänderung beim Konditionieren entspannt vernetzter Fasern in der gleichen Größenordnung liegt wie bei den nativen

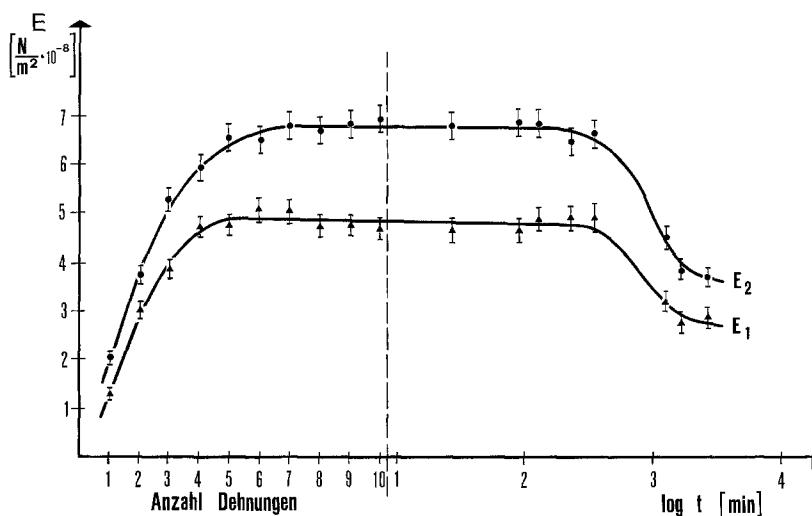


Abb. 10. Beispiel für einen Konditionierungsvorgang mit anschließendem Rückgang der E -Moduln (Dekonditionierung) als Funktion der Zeit. Zwischen der 400. und der 1400. min fielen die E -Moduln stark ab. (11 Monate alte Faser, Meßtemperatur 37° C, $\varepsilon_{\max} = 2\%$)

Objekten. Der Verlauf ist allerdings insgesamt regelmäßiger, und die registrierten Werte liegen niedriger, da der Konditionierung eine Verkürzung der Langperiode unter Glutaraldehyd vorausging (Jonak et al., 1979).

Das mechanische Verhalten künstlich vernetzter Objekte hängt vom Ausgangszustand der behandelten Fasern ab. So findet man an entspannt vernetzten Fasern keine Abweichungen gegenüber dem nativen Ausgangsobjekt, an verstreckt vernetzten Objekten jedoch einen deutlichen E -Modulanstieg (Tabelle 1). Die Erhöhung der Schrumpfungstemperatur (T_s) ist hingegen vom Spannungszustand der zu vernetzenden Fasern unabhängig.

Mit Hilfe mechanischer Messungen kann man schließlich auch eine Zeitabhängigkeit des Konditionierungsvorganges veranschaulichen. So nimmt der E -Modul während der Ruhepausen zwischen den Belastungen im allgemeinen wieder ab. Als Maß für die Dekonditionierung wurde die Differenz zwischen dem Maximalwert der Erstmessung und dem E -Modul der zweiten $\sigma - \varepsilon$ -Kurve der Folgebelastung nach der Ruhepause gewählt (Abb. 10). Einschränkend muß bemerkt werden, daß durch die Kontrollmessungen eine mechanische Belastung der Fasern gegeben war, gleichbedeutend mit einer Beeinflussung des E -Modul-Rückgangs. Die Dehnungsspannplitude der Kontrollmessungen wurde deshalb etwas geringer gewählt (ca. 2%) als bei der zuvor durchgeföhrten Konditionierung.

Der Dekonditionierungsablauf wurde auch bei verschiedenen Temperaturen verfolgt (Abb. 11) und dabei gefunden, daß im untersuchten Bereich mit ansteigender Temperatur die Zeit, die zur Dekonditionierung der Fasern erforderlich ist, zunimmt.

Das Ergebnis einer zyklischen Be- und Entlastung unterschiedlich alter menschlicher Fingerbeuge sehnen ist in Abb. 12 wiedergegeben. Die Maximalspannung hatte dabei einen konstanten Wert. Im ersten Belastungs- und Entla-

Abb. 11. Abhängigkeit der Dekonditionierung bei nativem Rattenschwanzsehnenkollagen von der Zeit und der Temperatur. Die Dekonditionierungszeit bezeichnet die Zeitspanne, in der der E -Modul vom Maximalwert auf den Ausgangswert abfällt

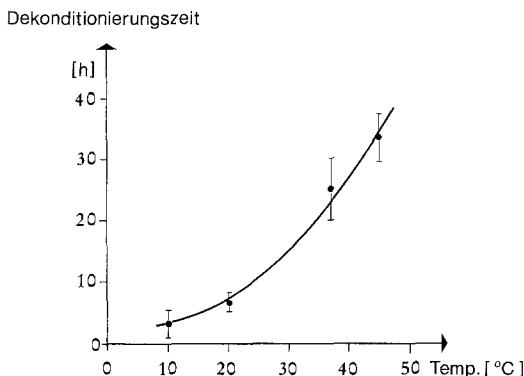
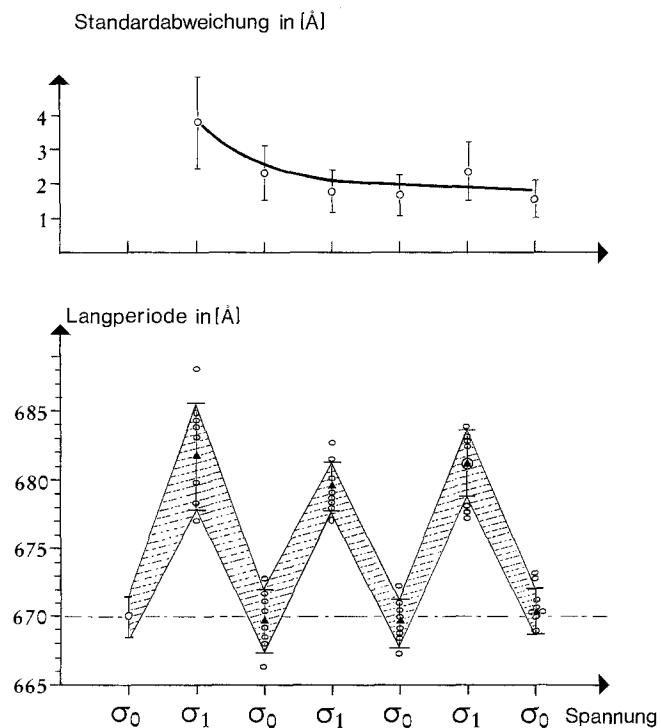


Abb. 12.
Langperiodenänderung menschlicher Fingerbeugesehnen unterschiedlichen Alters (9 Monate, 19 Jahre und 54 Jahre) beim Konditionieren ($\varepsilon_0 \approx 4\%$). Im oberen Bildteil ist die Standardabweichung der Meßwerte vom Mittelwert (Δ) der Meßwerte eines Zyklus dargestellt



stungs-Zyklus weisen die registrierten Langperiodenänderungen eine auffallend große Streubreite auf, und zwar ohne Signifikanz für irgendein Faseralter. Aus diesem Grunde wurden die Meßpunkte keinem bestimmten Alter zugeordnet. Die Streubreite der Meßwerte nimmt, wie ersichtlich, bereits mit dem zweiten Belastungszyklus ab.

In Abb. 13 ist der Ablauf einer Fasertrocknung an Luft im Zug-Dehnungs-Versuch wiedergegeben. Da sich der „Kurvenfuß“ der $\sigma - \varepsilon$ -Kurve bei der

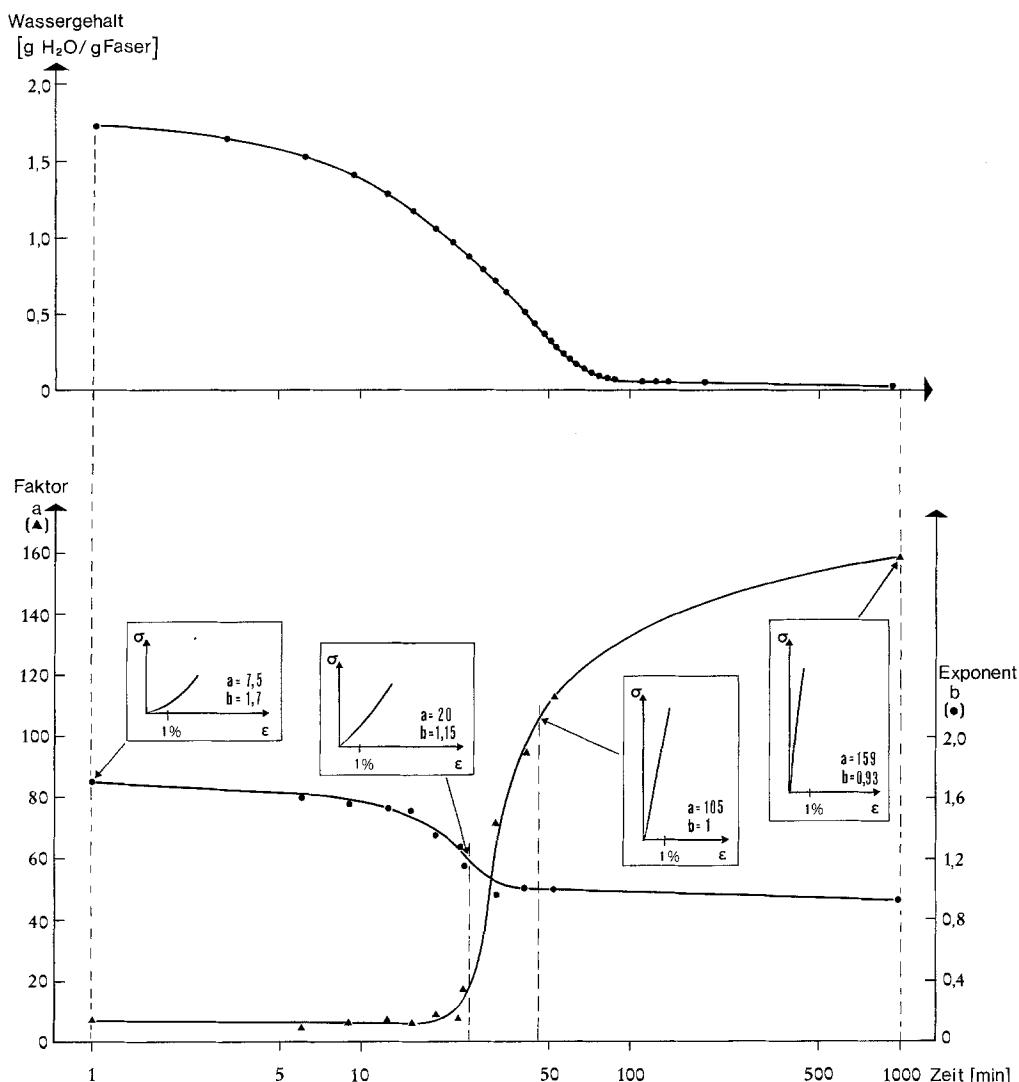


Abb. 13. Trocknungsvorgang einer nativen menschlichen Fingerbeugesehne (54 Jahre) an Luft bei Raumtemperatur. Aufgetragen ist der Verlauf des Faktors „a“ und des Exponenten „b“ der Funktion $\sigma = a \cdot \epsilon^b$ in Abhängigkeit der Zeit, welche den überlinearen Anstieg der Spannungs-Dehnungs-Kurve beschreibt. Die eingefügten Diagramme zeigen schematisch die Form des „Kurvenfußes“ der $\sigma - \epsilon$ -Kurven, während verschiedener Phasen der Fasertrocknung. Der obere Teil der Abbildung zeigt die relative Gewichtsabnahme als Funktion der Zeit

Trocknung auffällig verändert, wurde er näher untersucht und zu diesem Zweck eine Kurvenanpassung an die Potenzfunktion $\sigma = a \cdot \epsilon^b$ durchgeführt.

Die Korrelationskoeffizienten für die Anpassung lagen dabei zwischen 0,95 und 1. In der Abb. 13 wurde der Verlauf des Faktors a und des Exponenten b in Abhängigkeit von der Trocknungszeit aufgetragen. Die eingefügten Dia-

gramme zeigen die mit Hilfe der Größen a und b berechneten Formen des „Kurvenfußes“.

Diskussion

Parallelverschieblichkeit

Als Diskussionsbasis der erzielten Meßergebnisse dient das in Abb. 1 wiedergegebene System sich überlappender und parallelverschieblicher linearer Untereinheiten. Die mechanischen Dämpfungseigenschaften und die damit verbundene Anpassungsfähigkeit des parallelsträngigen Bindegewebes an impulsartige mechanische Beanspruchungen werden mit dem Gleitvermögen dieser Einheiten in Zusammenhang gebracht. Die Einzelkomponenten des hiervon mitgetragenen viskoelastischen Verhaltens lassen sich mit Hilfe der verschiedenen Abschnitte der Retardationskurve differenzieren (Abb. 14). Im Bereich „1“ erfolgt eine elastische Deformation der Probe, die dem stufenförmigen Spannungsanstieg zu Beginn der Retardation nahezu ohne Verzögerung folgt und bei Entlastung sofort zurückgeht. Den im Bereich „2“ gezeigten Verlauf, der für viskoelastische Substanzen typisch ist, bezeichnet man als „Kriechen“. Man kann es als durch Reibungskräfte behinderte Deformation elastischer Elemente interpretieren, die zwar reversibel verläuft, sich jedoch vom rein elastischen Verhalten dadurch unterscheidet, daß sowohl Längung wie auch Retraktion verzögert verlaufen, und daß in beiden Fällen mechanische Energie in Wärme umgesetzt (dissipiert) wird. Die Bereiche „3“ und „4“ schließlich stellen das Fließen der Kollagenfaser dar, dem im molekularen Bereich irreversible Gleitvorgänge entsprechen, die zu einer bleibenden Deformation der Probe führen. Ein weiteres Beispiel für viskoelastisches Verhalten stellt der überlineare Anstieg („Fuß“) der Spannungs-Dehnungs-Kurve dar, der mit der Glättung der Faserwelligkeit (Elliot, 1965; Dale et al., 1972; Viidik, 1973) und einer nachgeschalteten Parallelverschiebung sich überlappender Untereinheiten (Nemetschek et al., 1975 und 1978) erklärt wird. Durch die Welligkeit dürfte sich die Faser bei kleinen Dehnungen wie eine Feder mit variablem E -Modul verhalten, also elastische Eigenschaften besitzen. Dieses Verhalten wird durch Gleitvorgänge überlagert, die viskosen Verformungen entsprechen. Der elastische Anteil bei höheren Dehnungen beruht hingegen

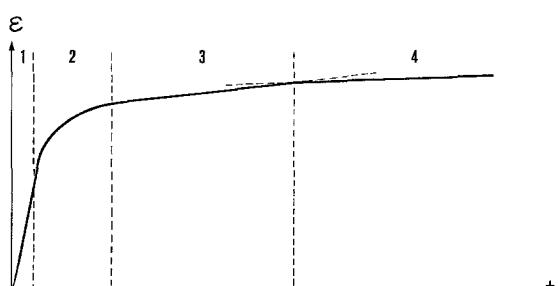


Abb. 14. Schema der Retardationskurve einer nativen Kollagenfaser

gen auf der Deformation helikaler und nichthelikaler Peptidketten (Bowitz et al., 1976). Diese Aussagen wurden möglich durch den Einsatz der Synchrotronstrahlung bei der Vermessung von Änderungen der für Kollagen charakteristischen Langperiode im Kurzzeitbeugungsspektrum definiert mechanisch belasteter Fasern.

Unter der Langperiode versteht man eine in Faserrichtung regelmäßig wiederkehrende Identitätsperiode von 670 Å. Jede Abweichung vom Normalwert stellt somit die Anzeige einer molekularen Deformation dar (Nemetschek et al., 1978 und 1979; Jonak et al., 1979).

Retardation

Das Konzept eines Systems aus sich überlappenden Untereinheiten wird gestützt durch den in Abb. 3 veranschaulichten Retardationsversuch, in dessen Verlauf trotz Aufrechterhaltung einer konstanten Faserspannung die gelängten Identitätsperioden sich als Funktion der Zeit verkürzen und hierdurch ein Aneinander-vorbeigleiten der Subfibrillen und Fibrillen anzeigen. Es bereitet allerdings noch Schwierigkeiten, eine voll befriedigende Erklärung dafür zu finden, daß trotz konstanter Spannung Fließvorgänge in der Kollagenfaser stattfinden können, die zum Rückgang der Langperiode auf den Ausgangswert führen. Einen Ausweg könnte ein System verschiedenartiger mechanischer Kopplungen zwischen den parallelverschieblichen Einheiten bieten. So wäre es denkbar, daß unmittelbar nach dem Anlegen einer (genügend großen) Spannung sowohl intersubfibrilläre Vernetzungen kurzer Reichweite, wie auch die Matrix aus Proteoglykanen und die Vernetzungsspeptide beansprucht werden, was zur Längung der Dreierschrauben führt. Diese Deformation geht im Laufe des Retardationsversuches jedoch wieder auf den Ausgangswert zurück, so daß die an der Probe anliegende Kraft nun von anderen Faserelementen aufgenommen werden muß. Eine alternative bzw. zusätzliche Erklärungsmöglichkeit besteht darin, daß sich unter Einfluß der konstant gehaltenen Spannung die mechanischen Eigenschaften der Subfibrille dahingehend ändern, daß sie bei gleicher Kraft in geringerem Maße verformt wird.

Im einzelnen zeigen junge Fasern einen langsameren Anstieg und einen schnelleren Abfall der Langperiode als Hinweis auf ein starkes Fließen bzw. eine intensive Parallelverschieblichkeit. Alte Fasern zeigen hingegen unter Zugbelastung einen schnelleren Anstieg der Identitätsperiode bei konstanter Spannung und im Sinne eines durch intermolekulare Stabilisierungen verlangsamten Fließens auch eine größere Zeitkonstante beim Abfall der Langperiode. Geringe Vorspannungen ($\varepsilon_0 = 3\%$) führen bei diesen Proben sogar zu einer Periodenlängung, die innerhalb des betrachteten Zeitraumes (etwa 1500 s) näherungsweise konstant bleibt und einer Zunahme von $\approx 1\%$ entspricht. Die 5%-Kurve einer gleichalten Probe nähert sich hingegen asymptotisch diesem Wert, der damit spezifisch für altes Rattenschwanzkollagen sein könnte. Der Anstieg der Langperiode bis zu einem Maximum läßt sich besonders gut bei stark verspanntem ($\varepsilon_0 = 5\%$) jungem Kollagen beobachten. Bei beiden Vorspannungen fällt die Periodenlängung jedoch innerhalb kurzer Zeit (≈ 500 s und ≈ 3000 s) wieder auf den Ausgangswert von 670 Å ab. Insgesamt lassen sich die Retardationsver-

suche so interpretieren, daß das mechanische Verhalten junger Fasern sehr stark durch Fließvorgänge bestimmt wird, unter deren Einfluß die Langperiode, d.h. die Dreierschraube, nur kurzzeitig gelängt wird. Aufgrund der relativ geringen Anzahl stabiler Vernetzungen kann die Dehnung der Subfibrillen nicht für längere Zeit aufrechterhalten werden.

Der Einfluß kovalenter intermolekularer und intersubfibrillärer Bindungen auf das Verhalten der Langperiode wird bei aldehydvernetzten Fasern besonders deutlich. Da in diesen Proben Fließprozesse nur in sehr beschränktem Umfang möglich sind, kann eine Dehnung der Dreierschrauben einer Subfibrille über lange Zeiträume hinweg (20 bis 40 h) aufrechterhalten werden.

Relaxation

Als weitere Stütze für die Annahme eines Kollektivsystems sich überlappender Einheiten dient schließlich der in Abb. 4 wiedergegebene Relaxationsversuch, wonach bei einer konstanten Vordehnung die Längung der Identitätsperiode schneller rückläufig ist als die makroskopische Spannung. Daraus folgt, daß innerhalb einer Faser keine durchgehenden Untereinheiten vorhanden sein können, sondern daß offensichtlich die an der Probe anliegenden Kräfte von den sich überlappenden Fibrillen bzw. Subfibrillen mittels einer mechanischen Koppelung übertragen werden. An diese Überbrückung dürften Wasserassoziate und nichtkollagene Komponenten (Viidik, 1967; Torp et al., 1974; Riedl und Nemetschek 1977) sowie Vernetzungspeptide (Nemetschek et al., 1975 und 1978) beteiligt sein.

Wiewohl nun eine Kraftübertragung durch Medien mit viskosen Eigenschaften geschwindigkeitsabhängig ist, nimmt die Langperiode im Bereich von 10 bis 200%/min. Dehnungsgeschwindigkeit bei gleichem Verstreckungsgrad jeweils denselben Wert an. Die mechanischen Eigenschaften dieser kraftübertragenden Zwischenstoffe müssen somit innerhalb dieses Geschwindigkeitsbereiches konstant bleiben.

An verspannt eingebetteten Fasern bzw. Fibrillen aus der Rattenschwanzsehne konnte elektronenmikroskopisch lediglich der Normalwert von 670 Å registriert werden; durch das Verspannen der Fasern wird offensichtlich eine sonst präparationsbedingte Verkürzung der Identitätsperiode verhindert. Höhere Werte wurden, ähnlich wie auch von Viidik und Ekholt (1968) angegeben, nur vereinzelt und ohne Signifikanz beobachtet als Anzeichen eines Fließens auch der mit dem monomeren Einbettungsmittel durchtränkten verspannten Fasern.

Längen- und Lateralwachstum

Ein Kollektivsystem aus sich überlappenden Faseruntereinheiten ist schließlich auch die Grundlage für eine plausible Erklärung des Längenwachstums von Sehnenkollagen. Würden nämlich die eine Sehnenfaser aufbauenden Fibrillen und Subfibrillen genauso wie die Fasern von einem Verankerungspunkt zum anderen reichen, müßte ein Längenwachstum am Fehlen freier Anknüpfungs-

punkte scheitern. Anders bei dem in Abb. 1 wiedergegebenen System. Nunmehr sollten unter dem Einfluß der durch das wachsende Hartgewebe erzeugten Wachstumsspannung (Bargmann, 1967) die sich überlappenden und noch nicht optimal vernetzten Fibrillen und Subfibrillen aneinander vorbeigleiten und so Anknüpfungsstellen für Monomereinheiten freilegen.

Eine auf die Sehne einwirkende Kraft könnte dann auch Auswirkungen auf das *laterale* Wachstum haben, wenn im Sinne eines Dickenausgleichs nicht nur die Biosyntheserate (Weiss, 1959), sondern auch die Anlagerung neuer Kollagenmoleküle spannungsabhängig ist. Liegt nämlich eine gegebene Kraft an einer ungleich dicken Sehne an, so werden im Bereich kleiner Querschnitte besonders hohe Spannungen erzeugt. Diese Betrachtungen sind in Übereinstimmung mit Erkenntnissen von Petersen (1935) und Elliot (1965), wonach durch eine Sehnenspannung Neubildung und Ausrichtung von Fibrillen begünstigt werden.

Daß ein System, welches unter dem Einfluß der Wachstumsspannung nachgibt, dennoch seiner mechanischen Beanspruchung standhält, ist auf das dynamisch-mechanische Verhalten „festweicher“ (Petersen, 1925) bzw. viskoelastischer Systeme zurückzuführen. So ist bekannt, daß z.B. bei hochviskosen Flüssigkeiten, die nahezu den Eindruck eines Festkörpers machen, der Stoff einer langanhaltenden Krafteinwirkung beliebig weit nachgibt, während er einer kurzen stoßartigen gegenüber wie ein starrer Körper reagiert. Entsprechend kann man selbst noch am erwachsenen Kollagen im Bereich der Dehnungsgeschwindigkeiten von 8% bis 230%/min einen Anstieg des *E*-Moduls um ca. 10% registrieren. Andererseits werden durch den viskosen Anteil des Kollagens die Dämpfungseigenschaften einer Sehne verbessert. Dieser Anteil nimmt zu Beginn einer Belastung, bei kleinen Dehnungen, die Verformungsenergie auf, bevor elastische Elemente in Gestalt helikaler und nichthelikaler Polypeptidketten angesprochen werden.

Gleitmechanismus und Kraftübertragung

Der mit einer Kraftübertragung verbundene Gleitmechanismus dürfte molekular gesehen mit einer Vielzahl von Platzwechselvorgängen zwischen benachbarten Gruppierungen korreliert sein, die ähnlich wie bei Hochpolymeren (Bonart et al., 1973) dazu führen, daß sich physikalische Vernetzungen (z.B. Wasserstoff-Brücken und van-der-Waalssche-Wechselwirkungen) lösen oder wie im Falle der Vernetzungspeptide dabei verspannen (Nemetschek et al., 1975 und 1978). Sowohl die innere Energie wie auch die Entropie eines solchen aus der Gleichgewichtslage entfernten Systems werden hierbei verändert und tragen zur Entstehung einer Rückstellkraft bei. Das Ausmaß der zu erwartenden Platzwechselvorgänge wird von der Parallelverschieblichkeit der Fibrillen und Subfibrillen abhängen und mit wachsender Dichte kovalenter Vernetzungen abnehmen. Erwartungsgemäß zeigt deshalb stärker vernetztes, also älteres Kollagen ein vermindertes Fließverhalten.

Das von diesen Gleitvorgängen mitbestimmte viskoelastische Verhalten der Sehnenfasern dürfte auch der Grund für den von Arnold (1977) beschriebenen Spannungsrückgewinn sein. Hierunter versteht man den Spannungsanstieg, den

man an einer im Relaxations- oder Retardationsversuch stehenden Probe registrieren kann, sofern nur auf einen Teil der Ausgangsspannung entlastet wurde. Die Größe des Effekts hängt sowohl von der Entlastungsgeschwindigkeit wie auch vom Verhältnis zwischen Ausgangs- und Endspannung ab. Bei völligem Entspannen der Faser wird kein Spannungsrückgewinn und entsprechend auch keine Langperiodenänderung beobachtet.

Wie ersichtlich stellt die direkte Registrierung von Langperiodenänderungen unter dem Einfluß mechanischer Belastungen eine sichere Anzeige einer erfolgten Kraftübertragung auf die Dreierschrauben des Kollagens dar und dient zugleich als Hinweis auf das Überschreiten des durch den viskosen Anteil gegebenen dämpfenden Spielraumes der Fasern. Auffälligerweise findet eine solche Kraftübertragung am Rattenschwanzkollagen bereits bei kleinen Dehnungen statt. Demgegenüber findet man an Fasern aus der menschlichen Fingerbeugesehne bei Dehnungen unter 2% noch keine Anzeichen für eine Deformation der Subfibrillen. Der dämpfende Bereich dieser Fasern muß somit größer als der von Rattenschwanzsehnen sein und ist darüber hinaus im untersuchten Altersbereich von 9 Monate bis 54 Jahren altersunabhängig (Abb. 12). Das voneinander abweichende Verhalten von Rattenschwanz- und Beugesehnenkollagen dürfte mit Unterschieden in den mechanischen Eigenschaften der zwischenfibrillären Substanzen zusammenhängen. So hat es den Anschein, als ob diese Matrix in der Rattenschwanzsehne eine besonders gute Kraftübertragung zwischen Faseruntereinheiten gewährleiste. Beim Beugesehnenkollagen hingegen sind diese Stoffe entweder niederviskoser oder liegen in dickeren Schichten vor. Sie können dadurch im Sinne eines höheren Dämpfungseffektes nur geringere Scherkräfte aufnehmen.

Über das Verhalten von Rattenbeugesehnen können noch keine abschließenden Aussagen gemacht werden, da die Untersuchungen des überlinearen Anstiegs am Fuß der Spannungs-Dehnungs-Kurve und die Kurzzeiröntgenbeugungsexperimente noch nicht abgeschlossen sind.

Gleitvermögen und Wassergehalt

Das Gleitvermögen der Untereinheiten einer Faser wird erwartungsgemäß nicht nur durch Vernetzungen, sondern auch durch den Wassergehalt der Sehnenfasern beeinflußt. Dem sogenannten Hydratwasser von Kollagen kommen neben stabilisierenden (Nemetschek, 1970) auch Weichmacherfunktionen zu, die im direkten Bezug zu den dämpfenden Eigenschaften des Faserkörpers stehen dürften. Eine H_2O -Abgabe aus inter- und intrafibrillären Räumen führt nämlich über eine Verkleinerung der Achsenabstände der Molekülketten und der interfibrillären Zwischenräume zu einem kompakteren Gefüge des Kollektivsystems. Dieser Vorgang ist widergespiegelt in einer Verschiebung der die Achsenabstände anzeigen den Äquatorreflexe im Röntgendiagramm zu kleineren d-Werten und in einer Einengung der Parallelverschieblichkeit der Untereinheiten, erkennbar an grundsätzlichen Änderungen in der Form der Spannungs-Dehnungs-Kurve (Abb. 13).

In Anlehnung an diese experimentellen Ergebnisse wäre es deshalb denkbar, daß eine mit zunehmendem Alter korrelierte Wasserverarmung der Sehnenfasern

und Zwischensubstanzen *in vivo* mit einem Verlust dämpfender Eigenschaften und so mit einer größeren Anfälligkeit gegenüber mechanischen Belastungen verbunden ist.

Konditionierung

Zyklische Belastungen von Rattenschwanzsehnen unterhalb von 3% Dehnung führen laut Rigby (1964) zu einer gesteigerten Ausrichtung der die Fasern aufbauenden Fibrillen, widergespiegelt in einer besseren Orientierung der Reflexe im Röntgenbeugungsdiagramm (Bowitz und Nemetschek, 1974) und einer Erhöhung der Thermostabilität. Parallel hierzu ist eine zyklische Belastung der Fasern, sofern diese unterhalb dieses faserspezifischen Grenzwertes bleibt, auch mit einem Anstieg des *E*-Moduls verbunden. Die *E*-Modul-Änderung nimmt dabei den in Abb. 6 wiedergegebenen Verlauf an. Verfolgt man nun die Konditionierung in Abhängigkeit vom Alter (Abb. 7), so findet man bei jüngeren Fasern einen höheren Effekt als bei älteren. Auffälligerweise verhalten sich Fasern, die im unverspannten Zustand mit Aldehyd vernetzt wurden, bei der Konditionierung ähnlich wie native Fasern. Die Belastungszyklen sind allerdings bei den vernetzten Fasern regelmäßiger (Abb. 9), was mit einer Einschränkung der Parallelverschieblichkeit der Faseruntereinheiten zusammenhängen dürfte. Verspannt vernetztes Kollagen erfährt hingegen eine künstliche Alterung in einem Ausmaß, wie sie *in vivo* nicht zu beobachten ist.

Besteht nun eine Faser nicht nur aus einem mehr oder weniger gut ausgerichteten Kollektiv aus ungleich langen Untereinheiten, sondern darüber hinaus, wie im Falle des dermatosparaktischen Kollagens aus extrem kurzen Fibrillen, so ist der erzielbare Konditionierungseffekt besonders hoch und umso größer, je dicker die Fasern sind (Abb. 8) (Nemetschek et al., 1977).

Der durch eine Konditionierung erzielte Stabilitätsanstieg erklärt sich aus der unter Belastung verbesserten Parallelagggregation der Faseruntereinheiten, die zusammen mit einer Querschnittsverjüngung die Ausbildung zusätzlicher physikalischer Bindungen begünstigt; ein Effekt, der an gestörten Fasern (Abb. 8) am auffälligsten ist und durch das sukzessive Spannen und Entspannen beim Konditionieren noch verstärkt wird. Durch die hierbei induzierten Platzwechselvorgänge wird nämlich die Wahrscheinlichkeit größer, daß potentielle Bindungspartner einander genügend nahekommen, um stabile Vernetzungen auszubilden. Die dazu notwendige Beweglichkeit und damit die Konditionierungsfähigkeit nimmt mit steigender Vernetzungsdichte ab. Beim sporttreibenden erwachsenen Menschen dürfte deshalb das Training einen relativ geringen Konditionierungseffekt speziell an den Sehnenfasern haben. So konnte Arndt (1976) zeigen, daß zum Zeitpunkt einer Sehnenruptur „sich hoch- und gut trainierte Athleten mit Sporttreibenden, die sich ungeübt der zur Ruptur führenden Belastung aussetzten, die Waage hielten“.

Dekonditionierung

Verfolgt man die zeitliche Änderung der mit einer Faserkonditionierung verbundenen Stabilisierung des Systems nach Abschluß des Konditionierungsvorganges,

so fällt auf (Abb. 10), daß eine Destabilisierung bzw. Dekonditionierung nicht, wie ursprünglich erwartet, bei niedriger, sondern bei relativ höherer Temperatur mit der größeren Zeitkonstante abläuft (Abb. 11). Daraus kann geschlossen werden, daß die mit einer Konditionierung bei niedriger Temperatur verbundenen Platzwechselvorgänge z.B. günstiger bei 37° C als bei einer tieferen Temperatur verlaufen und zu stabilen Gleichgewichtszuständen führen. Über die Temperaturabhängigkeit der rheologischen Eigenschaften nichtkollagener Begleitkomponenten kann jedoch noch keine Aussage gemacht werden.

Gefügestörungen

Erfolgt die Belastung menschlicher Fasern bis zu einer Dehnung von ~4% in zyklischer Folge und bei konstanter Maximalspannung, so registriert man, wie aus Abb. 12 ersichtlich, für den ersten Zyklus stark streuende Werte für die Identitätsperiode. Die Schwankungen in der Größe der Langperiode dürften dabei zumindest zum Teil auf den unterschiedlichen mechanischen Eigenschaften der Probe bei Versuchsbeginn beruhen. Prinzipiell ist nämlich eine Kollagenfaser bei der ersten Belastung besonders leicht verformbar, während im Verlauf weiterer Dehnungen ihre Festigkeit im Sinne einer Konditionierung zunimmt. Unter der Voraussetzung, daß im untersuchten Bereich die Längenänderung der Proben derjenigen der Molekülketten annähernd proportional ist, entspricht demnach die maximale im ersten Zyklus gemessene Periodenänderung dem Fall einer völlig unkonditionierten Faser. Die große Streubreite der Werte erklärt sich aus der Tatsache, daß die Proben beim Einbringen in die Meßküvette offenbar unterschiedlichen Belastungen unterworfen und dabei vorkonditioniert werden. Aus den Röntgendiffraktionsdaten geht somit hervor, daß auch geringe *Erstbelastungen* einer Kollagenfaser, die längere Zeit ruhiggestellt war, zu hohen relativen Längenänderungen der Polypeptidketten und damit zu Schädigungen im molekularen Bereich führen können.

Anhand elektronenmikroskopischer Untersuchungen gelangte bereits Rollhäuser (1954) zu der Schlussfolgerung, daß zu Beginn einer scharfen Belastung eine Sehnenfaser sich in einer rißgefährdeten Umbauphase befinden soll.

Negative Änderungen der molekularen Identitätsperiode, die insbesondere beim ersten Entlastungsvorgang registriert wurden (Abb. 12), und deren Ausmaß knapp außerhalb der Fehlergrenze der Meßmethode liegt, deuten darüber hinaus auf eine Stauchung der Molekülketten hin. Die mit einer derartigen Deformation verbundenen Scherkräfte könnten submikroskopische Knickdeformationen (Nemetschek et al., 1977) einleiten in der Art wie in Abb. 15 veranschaulicht. Für das ätiologische Verständnis intrafibrillärer Gefügestörungen erscheint es somit wichtig, nicht nur einer Sehnenbelastung, sondern auch der nachfolgenden Entlastung Aufmerksamkeit zu widmen. Eine in diesem Zusammenhang gemachte Abschätzung der energetischen Bedingungen, die bei der Entstehung von Knickdeformationen erfüllt sein müßten, ergab für menschliche Sehnenfasern eine höhere Wahrscheinlichkeit und somit ein höheres Risiko für deren Auftreten als bei Rattenschwanzsehnen (Nemetschek et al., 1977).

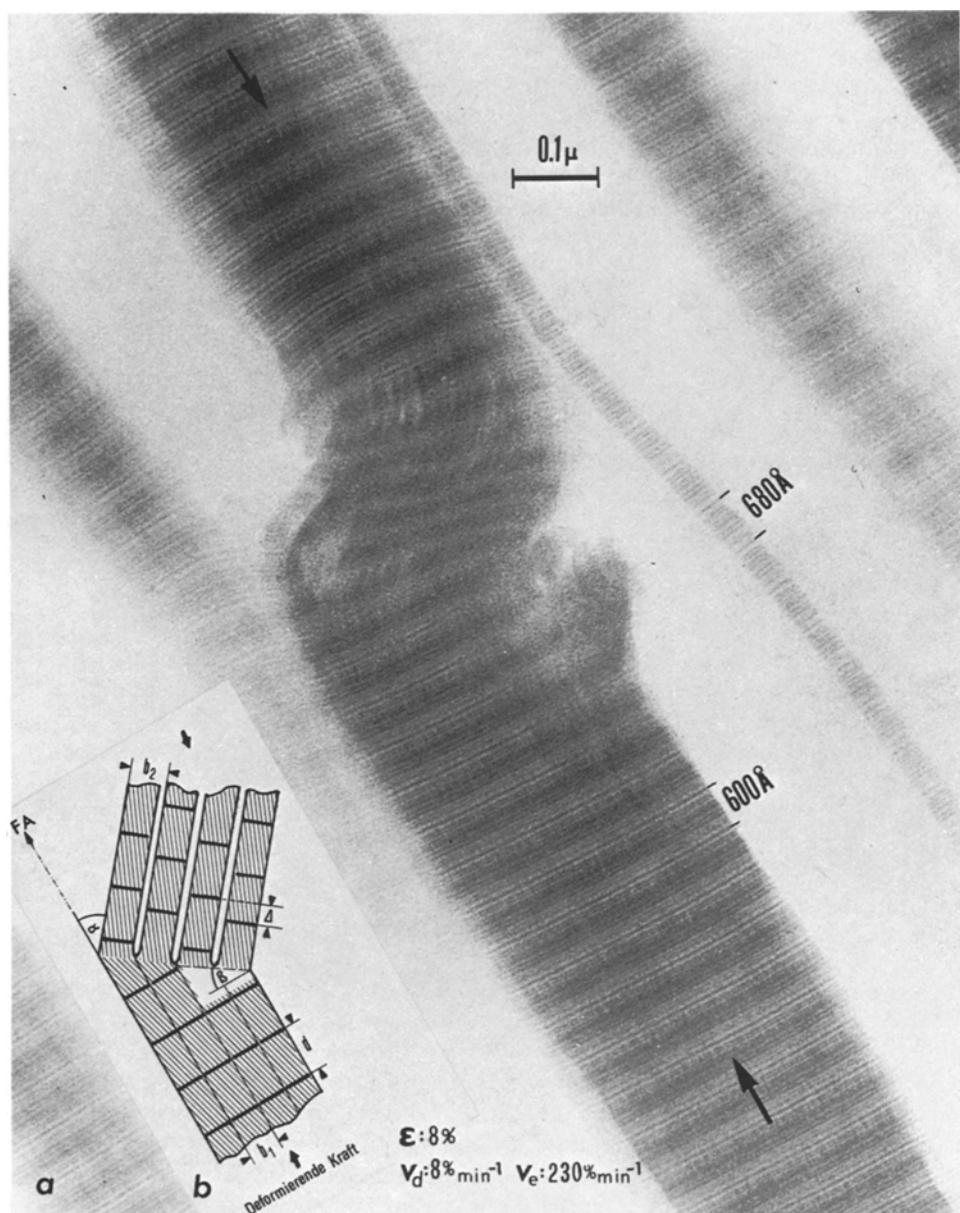


Abb. 15. a Gefügestörung einer um 8% gedehnten Fibrille aus einer 2jährigen Rattenschwanzsehne (→Richtung der deformierenden Kräfte). **b** Schematische Darstellung einer Fibrillenaufspaltung durch Knickdeformation (Nemetschek et al., 1977). FA, Fibrillenachse; b_1 und b_2 , Bündel aus Subfibrillen; D, Identitätsperiode; V_d , Dehnungs- und V_e = Entlastungsgeschwindigkeit

Wie aus Abb. 3 weiter hervorgeht, setzt unter einer Spannung, die einer Dehnung der konditionierten Fasern um 5% entspricht, schon kurz nach dem Anstieg der Langperiode ein Fließ- bzw. Gleitvorgang ein, in dessen Verlauf auf dem Wege einer Retraktion die Fibrillen und entsprechend auch die Subfibrillen ihre lateralen Verankerungsplätze wechseln und Gefügestörungen einleiten können. Im Wiederholungsfalle gelangt man schließlich zu im submikroskopischen Bereich erfaßbaren Störungen in Gestalt längszerfallener Fibrillen (Abb. 16a) (Nemetschek et al., 1977), die im Querschnitt ein bizarres Aussehen besitzen (Abb. 16b). Diese auf einer drastischen Gefügeauflockerung beruhende Zustandsform kollagener Fibrillen findet eine auffällige Parallele im sogenannten dysplastischen Kollagen, wie es z.B. im adventitiellen Bindegewebe zu beobachten ist (Abb. 16c) und dem eine Bedeutung für die sogenannte Bindegewebs- oder Gefäßwandschwäche beigemessen wird (Zwillenberg et al., 1971; Staubesand, 1977 und 1979).

In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß Knickdeformationen auch im Rupturbereich menschlicher Sehnen vorkommen (Meinel et al., 1977); indessen wurden auch an solchen Objekten nur selten ähnliche Gefügestörungen beobachtet wie in Abb. 16b und c wiedergegeben. Möglicherweise spielt hier der Ruhe-Tonus des Muskel-Sehnen-Systems eine ursächliche Rolle. Im Unterschied hierzu dürften überdehnte Fibrillen aus dem lockeren Bindegewebe, z.B. der Adventitia einer Gefäßwand, besonders günstige Voraussetzungen für das Auftreten sogenannter dysplastischer Fibrillen bieten, da die dort lokalisierten Einzelfibrillen wegen ihrer verdrillten Überstruktur bereits bei jeder Entlastung eine mit einer Gefügeauflockerung verbundene Entdrillung erfahren.

Daraus ließe sich ableiten, daß die mechanische Anfälligkeit kollagener Fibrillen im straffen Bindegewebe, von extremen Belastungen abgesehen, geringer ist als im lockeren Bindegewebe und daß ganz offensichtlich für letzteres die Entspannungsphase der Fibrillen bis zu Werten von $\sigma \approx 0$ von Bedeutung sein dürfte.

Modellkonstruktion

Abschließend wird mit der in Abb. 17 vorgestellten Modellkonstruktion (Nemetschek et al., 1978) versucht, das viskoelastische Verhalten von Kollagen zu simulieren und durch einfache Parameter und Zustandsgleichungen zu charakterisieren. Die rechte Seite dieses Modells (*PT*) soll dabei das makroskopische Verhalten einer Faser wiedergeben, während der linke *M*-Zweig vorwiegend die molekularen Abläufe beschreiben soll. Eine Trennung der beiden Betrachtungsebenen erweist sich als notwendig, da nur auf diese Weise das unterschiedliche zeitabhängige Verhalten von Faserspannung und Langperiodenänderung simuliert werden kann (siehe hierzu die Beispiele Retardation und Relaxation).

Das Dämpfungselement „ η_1 “ gibt die Reibungsverhältnisse zwischen den Subfibrillen in der Matrix wieder, die in diesem Fall aus einer nahezu monomolekularen Umhüllung aus Wasserassoziaten bestehen dürfte. Das mit „ η_2 “ bezeichnete Element beschreibt die Reibung der Fibrillen untereinander, sowie mit einer aus Proteoglykanen und feinsten Filamenten bestehenden Matrix. Eine mit

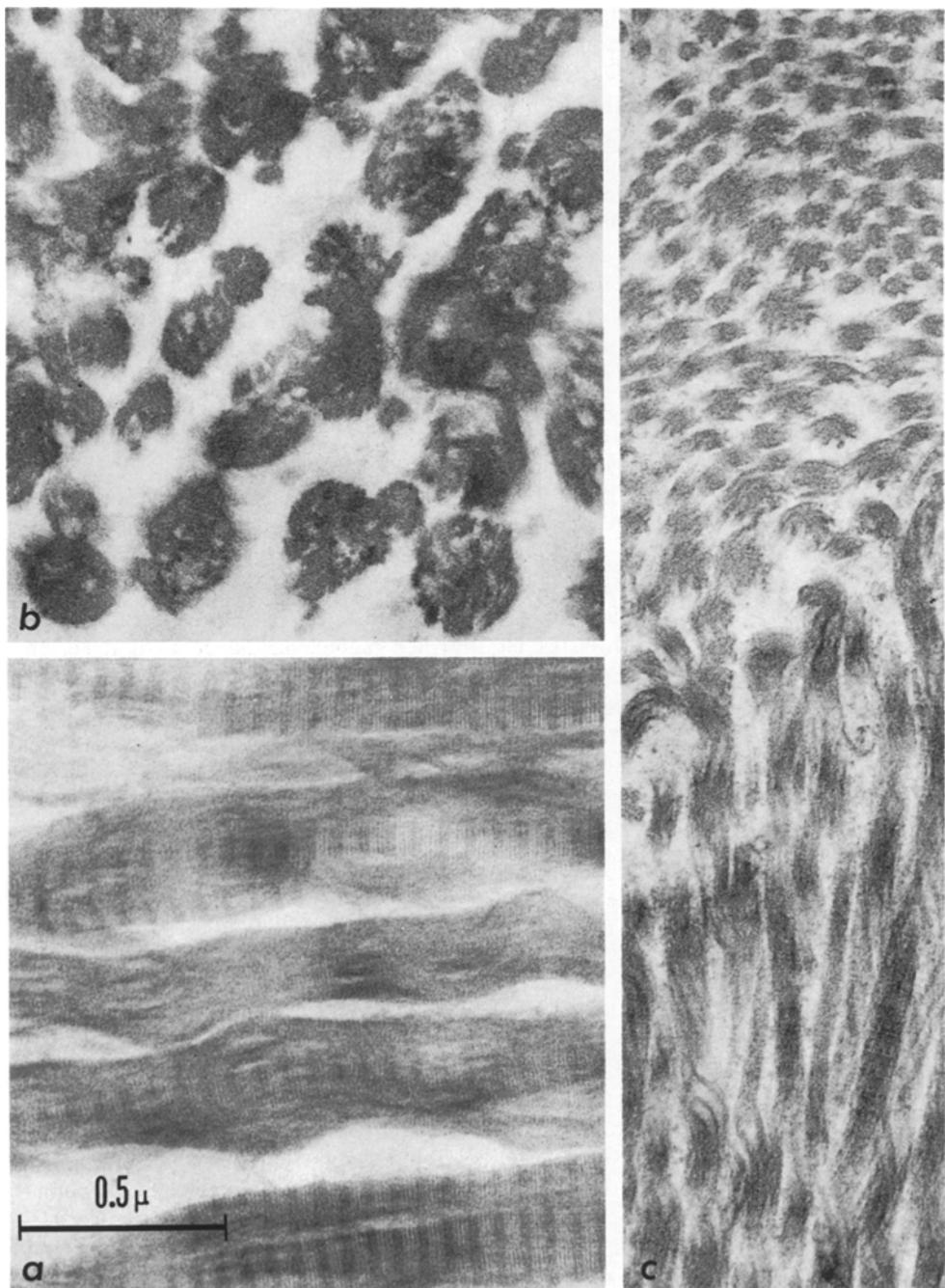


Abb. 16a-c. Längszerfallene Kollagenfibrillen in **a** und **b** aus 5 Wochen alten Rattenschwanzsehnen nach mehrmaliger 4%iger Dehnung bei 20° C; $\sigma_{\max} = 2,25 \cdot 10^7$ N/m². **c** Fibrillen aus der Adventitia einer Femoralarterie eines 26jährigen Mannes. Diese Fibrillen besitzen im Unterschied zu Abb. 16a eine deutlich hervortretende Überschraubenstruktur

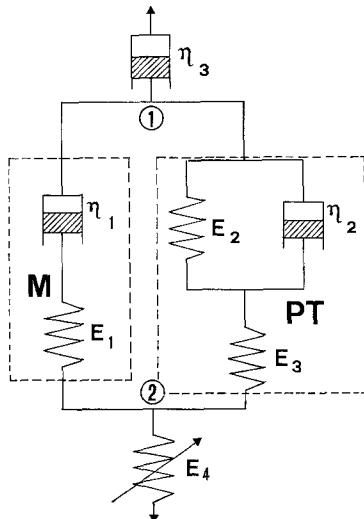


Abb. 17. Modellkonstruktion zur Simulation der mechanischen Eigenschaften von Kollagen bei Dehnungen <4%. E_1 , Subfibrillen bzw. darin enthaltene Dreierschrauben; E_2 , Intermolekulare Vernetzungen; E_3 , Elastizität zwischenmolekularer Substanzen; E_4 , Die Faserwelligkeit wiedergebende Feder mit variablem E-Modul; η_1 , Reibungskräfte zwischen Subfibrillen; η_2 , Reibungskräfte zwischen Fibrillen und Verschiebung der Fibrillen in der Matrix aus nichtkollagenen Komponenten (Proteoglykanen); η_3 , Langzeitfließen; M , Maxwell-Element; PT , Pointing-Thomson-Element (Nemetschek et al., 1978)

der Faserdehnung verbundene Querschnittskontraktion (s. Abb. 2b) wird dabei zu einer Erhöhung der zu erwartenden Reibungskräfte führen.

Zu Beginn einer Dehnung wird die Feder „ E_4 “ verformt; sie besitzt einen variablen E -Modul, der mit wachsendem Dehnungsbetrag zunimmt. Bei einer Dehnung von 1 bis 2% (gestreckte Faser) ist die Spannung so groß geworden, daß nun auch das aus „ E_1 “, „ E_2 “, „ E_3 “, „ η_1 “ und „ η_2 “ bestehende System in zunehmendem Maße verformt wird. Da nun bei jugendlichem Kollagen die intramolekulare Stabilisierung der Dreierschrauben einer Subfibrille noch nicht abgeschlossen ist, besitzt die Federkonstante „ E_1 “ einen niedrigeren Wert als bei alten Fasern. Bei gleicher Dehnungsgeschwindigkeit längt sich daher „ E_1 “ bei 6 Monate alten Fasern stärker als bei 24 Monate altem Kollagen. Bei Konstanthalten einer Spannung (*Retardation*) fließen „ η_1 “ und „ η_2 “ ebenfalls. „ η_2 “ fließt solange, bis die auf das Gesamtsystem einwirkende Spannung auch an den Federn „ E_2 “, „ E_3 “ und „ E_4 “ anliegt. Parallel hierzu kann ein Anstieg der Langperiode erfolgen (ausgeprägter als bei der Relaxation); sobald das System jedoch in die Nähe des Gleichgewichtszustandes kommt und der Abstand der Punkte ① und ② sich nurmehr langsam vergrößert, überwiegt das Fließen von „ η_1 “ und die Feder „ E_1 “ kontrahiert sich, d.h. die Langperiode geht auf den Ausgangswert zurück. Im Gleichgewichtszustand ($\sigma=\text{const.}$) bleibt der Abstand zwischen ① und ② konstant; das nach längeren Zeiten (Stunden) beobachtbare minimale Fließen kann auf eine Deformation von „ η_3 “ zurückgeführt werden.

Hält man nun den Dehnungsbetrag konstant (*Relaxation*), so fließen die Dämpfungselemente „ η_1 “ und „ η_2 “. Hierbei fließt „ η_2 “ so lange, bis die an den Federn „ E_2 “, „ E_3 “ und „ E_4 “ anliegenden Kräfte gleichgroß sind. Zu Beginn dieses Vorganges kann sich die Langperiode geringfügig längen, da sich durch das Fließen der Abstand zwischen den Punkten ① und ② vergrößert, was zur Dehnung von „ E_1 “ führen kann. In der Nähe des Gleichgewichtszustandes gewinnt jedoch der Fließvorgang in „ η_1 “ das Übergewicht, die Feder „ E_1 “ entspannt sich auf die Spannung 0, d.h. die Langperiode geht auf den Ausgangswert zurück. Ein Spannungsabfall nach langen Zeiten kann schließlich auf das Fließen von „ η_3 “ zurückgeführt werden.

Modellrechnungen

Bei der mathematischen Behandlung⁴ des Modells aus Abb. 17 wurden die Feder E_4 und das Dämpfungsglied η_3 durch starre Verbindungen ersetzt. Diese

⁴ Riedl et al. (im Druck)

Vereinfachungen beschränken den Geltungsbereich auf Dehnungen > 2% und vernachlässigen das Langzeitfließen. Um das Modellverhalten unter bestimmten Belastungsarten zu ermitteln, müssen die Zustandsgleichungen des *PT*- und des *M*-Elements simultan gelöst werden. Die Zustandsgleichungen lauten:

PT-Element:

$$\sigma_{PT} + \frac{\eta_2}{E_2 + E_3} \cdot \dot{\sigma}_{PT} = \frac{E_2 \cdot E_3}{E_2 + E_3} \left(\varepsilon_{PT} + \frac{\eta_2}{E_2} \dot{\varepsilon}_{PT} \right). \quad (1)$$

M-Element:

$$\sigma_M + \frac{\eta_1}{E_1} \cdot \dot{\sigma}_M = \eta_1 \cdot \dot{\varepsilon}_M. \quad (2)$$

Retardation (Längenänderung bei konstanter Spannung)

Es wird davon ausgegangen, daß die Längenänderung während der Retardation ($\sigma = \text{const.}$) durch das *PT*-Element bestimmt wird, während das *M*-Element passiv verformt wird.

Die Spannung am *M*-Element, die nach der Definition von E_1 der Langperiodenänderung proportional ist, kann bei bekannter Zeitabhängigkeit der Deformationsfunktion $\varepsilon_M(t)$ mit Hilfe von (2) berechnet werden. Zur Bestimmung von $\dot{\varepsilon}_M(t)$ löst man Gl.(1) für $\sigma_{PT} = \sigma_{0,PT} = \text{const.}$ Es ergibt sich:

$$\varepsilon_{PT}(t) = \frac{\sigma_{0,PT}}{E_3} + \frac{\sigma_{0,PT}}{E_2} \left[1 - \exp \left(-\frac{E_2}{\eta_2} \cdot t \right) \right]. \quad (3)$$

Diese Beziehung stellt in guter Näherung den zeitlichen Verlauf der Dehnung einer Kollagenprobe unter konstanter Spannung dar.

Differenziert man (3) nach der Zeit und setzt die so ermittelte Deformationsgeschwindigkeit $\dot{\varepsilon}_{PT}$ für $\dot{\varepsilon}_M$ in (2) ein, so erhält man die DGL:

$$\frac{\dot{\sigma}_M}{E_1} + \frac{\sigma_M}{\eta_1} = \frac{\sigma_{0,PT}}{\eta_2} \cdot \exp \left(-\frac{E_2}{\eta_2} \cdot t \right) \quad (4)$$

mit der Lösung

$$\sigma_M = \sigma_{0,PT} \cdot \frac{E_1 / \eta_2}{E_1 / \eta_1 - E_2 / \eta_2} \exp \left(-\frac{E_2}{\eta_2} \cdot t \right) + C \cdot \exp \left(-\frac{E_1}{\eta_1} \cdot t \right). \quad (5)$$

Da man zu Beginn eines Retardationsexperimentes die Probe meist mit konstanter Deformationsgeschwindigkeit verstrekt, kann man $\sigma_{0,PT}$ als die Spannung interpretieren, die man nach einem solchen Verstreckungsvorgang an der Faser misst. Sie berechnet sich für den Fall $\dot{\varepsilon} = \dot{\varepsilon}_0 = \text{const.}$ aus Gl.(1) zu:

$$\sigma_{0,PT} = \frac{E_3}{E_2 + E_3} \cdot \dot{\varepsilon}_0 \cdot \eta_2 \left[\left(1 - \exp \left(-\frac{E_2 + E_3}{\eta_2} \cdot t_0 \right) \right) \cdot \left(1 - \frac{E_2}{E_2 + E_3} \right) + \frac{E_2}{\eta_2} \cdot t_0 \right] \quad (6)$$

mit t_0 : Verstreckungszeit

In Übereinstimmung mit dem Experiment nimmt die beim Dehnen erzeugte Spannung mit der Deformationsgeschwindigkeit zu. Am *M*-Element (d.h. an der Subfibrille), das ja starr mit dem *PT*-Element gekoppelt ist und deshalb in gleicher Weise mit verstreckt wird, tritt nach dem Dehnungsvorgang eine Spannung auf, für die gilt:

$$\sigma_{0,M} = \dot{\varepsilon}_0 \cdot \eta_1 \left[1 - \exp \left(-\frac{E_1}{\eta_1} \cdot t_0 \right) \right]. \quad (7)$$

Hieraus folgt, daß auch die Langperiode sich bei höheren Dehnungsgeschwindigkeiten stärker ändern müßte; diese Frage konnte jedoch aus technischen Gründen noch nicht geklärt werden. Setzt man nun noch die Beziehung (7) als Anfangsbedingung für $t=0$ in (5) ein, so erhält man für die (zu σ_M proportionale) Änderung der Langperiode als Funktion der Zeit eine Abhängigkeit der Form:

$$\sigma_M = \dot{\varepsilon}_0 \cdot \eta_1 \left[1 - \exp \left(-\frac{E_1}{\eta_1} \cdot t_0 \right) \right] \cdot \exp \left(-\frac{E_1}{\eta_1} \cdot t \right) + \sigma_{0,PT} \cdot \frac{E_1/\eta_2}{E_1/\eta_1 - E_2/\eta_2} \underbrace{\left[\exp \left(-\frac{E_2}{\eta_2} \cdot t \right) - \exp \left(-\frac{E_1}{\eta_1} \cdot t \right) \right]}_{\Delta} \quad (8)$$

Um diese Beziehung analysieren zu können, ist es wichtig, das Größenverhältnis der beiden Quotienten E_1/η_1 und E_2/η_2 zu kennen. Aus dem Experiment ist bekannt (Abb. 4), daß bei konstanter Faserlänge die Spannung langsamer abfällt als die Langperiode; in Relaxationszeiten ausgedrückt bedeutet das $\tau_{Langp.} < \tau_{Spannung}$. Auf das Modell übertragen bedeutet das $\tau_M < \tau_{PT}$. Aus

$$\tau_M = \frac{\eta_1}{E_1} \quad \text{und} \quad \tau_{PT} = \frac{\eta_2}{E_2 + E_3}$$

folgt schließlich direkt

$$\frac{\eta_1}{E_1} < \frac{\eta_2}{E_2 + E_3} < \frac{\eta_2}{E_2}. \quad (9)$$

Damit ist bewiesen, daß der zweite Summand in (8) größer als 0 ist. Da außerdem im allgemeinen $\Delta > 0$ gilt, sowie $\Delta = 0$ für $t=0$ und $t \rightarrow \infty$, muß der Summand als Funktion von t ein Maximum durchlaufen. Da der erste Term der Gl. (8) die ungestörte Relaxation des M -Elementes beschreibt, läßt sich die Funktion als Überlagerung zweier Vorgänge interpretieren. Je nach Belastung und Vernetzungsgrad der Probe wird die Relaxation der Subfibrille in der Matrix während der Retardation mehr oder weniger „gestört“, d.h. die sonst monoton abfallende Kurve durchläuft kurz nach Anlegen der Spannung ein Maximum und geht für $t \rightarrow \infty$ ($\Delta \rightarrow 0$) in eine normale Relaxationskurve über. Beispiele für dieses Verhalten der Langperiode liefert das Diagramm in Abb. 3 für den Fall der 6 Monate alten Rattenschwanzsehne.

Ausblick

Die meisten der bisherigen Befunde wurden an Einzelfasern aus Rattenschwanzsehnen erzielt, da z.B. aus den relativ leicht zugänglichen menschlichen Achilles-Sehnen keine einheitlich kalibrierten Einzelfasern isoliert werden können. Für die Anwendung kombinierter mechanischer und röntgenographischer Meßverfahren sind jedoch Einzelfasern als Untersuchungsobjekte unerlässlich. Eine Alternative bieten nunmehr relativ gut präparierbare Fasern aus Finger-Beugesehnen des Menschen. Für die Zukunft eröffnen sich deshalb durch die direkte Erfassung belastungsrelevanter molekularer Parameter an diesen Objekten neue Wege für die Simulierung klinisch bedeutsamer pathobiomechanischer Zustände.

Herrn Prof. Dr. H.B. Stuhrmann, EMBL Hamburg, danken wir für Meßzeit am DESY, den Herren Drs. R. Mattern und A. Meinel für die Bereitstellung menschlicher Beugesehnen.

Frau B. Noetzel und Frau U. Pretzsch danken wir für ihre Mitarbeit, Frau K. Bienert für die Ausführung photographischer Arbeiten. Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ne 102/10) und das Bundesministerium für Forschung und Technologie.

Literatur

- Arndt, K.-H.: Achillessehnenruptur und Sport. Leipzig: J. A. Barth. 1976
- Arnold, G.: Biomechanische und rheologische Eigenschaften menschlicher Sehnen. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* **143**, 263–300 (1974)
- Arnold, G., Gross, F., Moll, C.: Gewebsmechanisches Verhalten von Sehnenfasern unter statischen und dynamischen Beanspruchungen. *Gegenbaurs morph. Jahrb. (Leipzig)* **123**, 857–866 (1977)
- Bargmann, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. 6. Auflage. Stuttgart: G. Thieme, 1967
- Bonart, R., Morbitzer, L., Schultze-Gebhardt, F.: Spann- und Fixiersysteme bei der Falschdrall-Texturierung synthetischer Endlosgarne. *Kolloid Z. Z. Polymere* **251**, 1015–1027 (1973)
- Bowitz, R., Nemetschek-Gansler, H., Nemetschek, Th., Schiller, O.: Biphasischer Funktionsverlauf elastisch gedeckter Kollagenfasern. *Naturwissenschaften* **62**, 493 (1975)
- Bowitz, R., Jonak, R., Nemetschek-Gansler, H., Nemetschek, Th., Riedl, H.: The elasticity of the collagen triple helix. *Naturwissenschaften* **63**, 580 (1976)
- Bowitz, R., Nemetschek, Th.: Struktur und Dehnungsverhalten von Kollagen. 7. Wissensch. Konf. der Ges. Dtsch. Naturforsch. u. Ärzte 125–135 (1974)
- Dale, W.C., Baer, E., Keller, A., Kohn, R.R.: On the ultrastructure of mammalian tendon. *Experientia* **28**, 1293–1295 (1972)
- Elliot, D.H.: Structure and function of mammalian tendon. *Biol. Rev.* **40**, 392–421 (1965)
- Hodge, A.J., Petruska, J.A.: Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen macromolecule. in: *Aspects of protein structure*, G.N. Ramachandran, (ed.) pp. 289–300. London, New York: Academic Press 1963
- Hosemann, R., Dreissig, W., Nemetschek, Th.: Schachtelhalm-structure of octafibrils in collagen. *J. Mol. Biol.* **83**, 275–280 (1974)
- Hosemann, R., Nemetschek, Th.: Reaktionsabläufe zwischen Phosphorwolframsäure und Kollagen. *Kolloid Z. Z. Polymere* **251**, 53–60 (1973)
- Jonak, R., Lapière, Ch.M., Meinel, A., Nemetschek-Gansler, H., Nemetschek, Th., Riedl, H.: Struktur und mechanische Eigenschaften dermatosparaktischen Kollagens. *Z. Naturforsch.* **32c**, 743–747 (1977)
- Jonak, R., Nemetschek-Gansler, H., Nemetschek, Th., Riedl, H., Bordas, J., Koch, M.: Glutaraldehyde-induced states of stress of the collagen triple helix. *J. Mol. Biol.* **130**, 511–512 (1979)
- Kastelic, J., Galeski, A., Baer, E.: The multicomposite structure of tendon. *Connect. Tiss. Res.* **6**, 11–23 (1978)
- Meinel, A., Nemetschek-Gansler, H., Holz, U., Jonak, R., Krah, H., Nemetschek, Th., Riedl, H.: Fibrilläre Gefügestörung bei Sehnenruptur. *Arch. orthop. Unfall-Chir.* **90**, 89–94 (1977)
- Nemetschek, Th.: Über die Bedeutung des Wassers für organische Strukturen, dargelegt am Beispiel des Kollagens. *Med. Welt* **21**, 102–104 (1970)
- Nemetschek, Th.: Ist die Alterung der Skleroproteine unerwünscht? *Z. Gerontologie* **4**, 328–335 (1971)
- Nemetschek, Th., Hosemann, R.: A kink model of native collagen. *Kolloid Z. Z. Polymere* **251**, 1044–1056 (1973)
- Nemetschek, Th.: Biosynthese und Alterung von Kollagen. *Sitzungsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math.-Naturwiss. Kl.*, S. 49–69, 3. Abh. (1974)
- Nemetschek, Th., Bowitz, R., Nemetschek-Gansler, H.: Alterung kollagener Fibrillen. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **59**, 34–43 (1975)
- Nemetschek, Th., Jonak, R., Meinel, A., Nemetschek-Gansler, H., Riedl, H.: Knickdeformationen am Kollagen. *Arch. orthop. Unfall-Chir.* **89**, 249–257 (1977)
- Nemetschek, Th., Jonak, R., Nemetschek-Gansler, H., Riedl, H.: Über die Bestimmung von Langperiodes-Änderungen am Kollagen. *Z. Naturforsch.* **33c**, 928–936 (1978)
- Nemetschek, Th., Riedl, H., Jonak, R.: Topochemistry of the binding of phosphotungstic acid to collagen. *J. Mol. Biol.* **133**, 67–83 (1979)

- Petersen, H.: Die Bedingungen für die Beweglichkeit der menschlichen Körperteile. *Naturwissenschaften* **13**, 313–317 (1925)
- Petersen, H.: *Histologie und mikroskopische Anatomie*. S. 107 und 168. München: J.F. Bergmann 1935
- Riedl, H., Jonak, R., Nemetschek, Th.: A mathematical model for the changes of the long period structure in collagen. In: *Biology of collagen*, A. Viidik and J. Vuust (eds.). London: Academic Press (im Druck).
- Riedl, H., Nemetschek, Th.: Molekularstruktur und mechanisches Verhalten von Kollagen. *Sitzungsber. Heidelberg. Akad. Wiss. Math.-Naturwiss. Kl.*, S. 217–248, 5. Abh. (1977)
- Rigby, B.J.: Effect of cyclic extension on the physical properties of tendon collagen and its possible relation to biological ageing of collagen. *Nature (London)* **202**, 1072–1074 (1964)
- Rollhäuser, H.: Funktionelle Anpassung der Sehnenfasern im submikroskopischen Bereich. *Anat. Anz.* **100**, 318 (1954)
- Staubesand, J.: Intracellular collagen in smooth muscle: The fine structure of the artificially occluded rat artery and ureter and human varicose and arteriosclerotic vessels. *Beitr. Path.* **161**, 187–193 (1977)
- Staubesand, J.: Ein neuer Aspekt zur Pathogenese der Mediadysplasie. *Münch. med. Wochenschr.* **121**, 57–62 (1979)
- Torp, S., Bear, E., Friedmann, B.: Effects of age and of mechanical deformation on the ultrastructure of tendon. *Proceedings of Colston Conference*, Department of Physics (1974)
- Viidik, A.: The effect of training on the tensile strength of isolated rabbit tendons. *Scand. J. plast. reconstruct. Surg.* **1**, 141–147 (1967)
- Viidik, A., Ekholm, R.: Light and electron microscopic studies of collagen fibers under strain. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* **127**, 154–164 (1968)
- Viidik, A.: Simultaneous mechanical and light microscopic studies of collagen. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.* **136**, 204–212 (1972)
- Viidik, A.: Functional properties of collagenous tissues. In: *Int. Rev. Connect. Tiss. Res.* Vol. 6 pp. 127–215. New York, London: Academic Press 1973
- Weiss, P.A.: Cellular dynamics. *Rev. Mod. Phys.* **31**, 11–20 (1959)
- Zwillenberg, L.O., Laszt, L., Zwillenberg, H.: Die Feinstruktur der Venenwand bei Varikose. *Angiologia* **8**, 318–346 (1971)

Accepted January 11, 1980