Aus dem Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie
Klinik für Orthopädie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

# Prävalenz von pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII in Serum und Synovia nach traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Mark Michael Ada Maxis

aus Baguio City / Philippinen

Datum der Promotion: 27.02.2015

Aus dem Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie
Klinik für Orthopädie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

# Zusammenfassung

## Prävalenz von pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII in Serum und Synovia bei traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung

**Fragestellung:** Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz selektierter Matrix-modulierender Proteasen, Protease-Inhibitoren und Knorpelmetaboliten bei traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung (OA) zu evaluieren. Zudem wurde die Prävalenz dieser Faktoren bei chronischer Kniegelenksschädigung bei unterschiedlichem Erkrankungsalter und die Korrelation dieser Marker im Serum und in der Synovia untersucht.

**Material und Methoden:** 69 Patienten, die einer Kniegelenksendoprothese bedurften wurden in folgende Gruppen unterteilt: 50–59 Jahre Frühe-OA-Gruppe (FOA), 60–69 Jahre Mittlere-OA-Gruppe (MOA) und 70–80 Jahre Späte-OA-Gruppe (SOA). Daneben wurden 61 Patienten nach traumatischer Kniegelenksschädigung (Trauma-Gruppe) untersucht.

Mittels Sandwich-ELISA wurden die Konzentrationen von MMP-3, pro-MMP-1, pro-MMP-13, TIMP-1 und TIMP-2 aus Synovia und Serum ermittelt. CPII diente als Marker für den Knorpelaufbau und C2C für den Knorpelabbau. Daneben wurde das Serum CRP und die Leukozyten bestimmt.

Präoperative Röntgenbilder wurden nach Kellgren & Lawrence klassifiziert, das subjektive Krankheitsempfinden mittels Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score bewertet und der Body-Mass-Index bestimmt.

**Ergebnisse:** In der Trauma-Gruppe war verglichen mit der OA-Gruppe MMP-3 und pro-MMP-1 in der Synovia signifikant erhöht und pro-MMP-13 signifikant erniedrigt. In der Trauma-Gruppe korrelierten MMP-3 mit pro-MMP-1 und -13 sowie pro-MMP-1 mit pro-MMP-13 jeweils signifikant. In der OA-Gruppe korrelierte MMP-3 mit pro-MMP-1.

In der Trauma-Gruppe war TIMP-2 in der Synovia signifikant höher als in der OA-Gruppe und TIMP-1 korrelierte umgekehrt proportional mit C2C. In der OA-Gruppe korrelierte TIMP-1 mit MMP-3 signifikant.

In der FOA war TIMP-2 signifikant niedriger als in der MOA und SOA. Eine niedrige Prävalenz von TIMP-2 korrelierte in der Synovia signifikant mit einem niedrigen Erkrankungsalter.

Eine Korrelation zwischen Serum und Synovia konnte nicht beobachtet werden.

**Schlussfolgerung:** Die niedrigeren Werte von pro-MMP-13 in der Trauma-Gruppe im Vergleich zur OA-Gruppe sind möglicherweise durch das unterschiedliche Ausmaß des Knorpelschadens bedingt, bei dem gemäß bisheriger Untersuchungen eine erhöhte Prävalenz von pro-MMP-13 eher mit einem fortgeschrittenen Knorpelschaden assoziiert ist. Eine erhöhten Prävalenz von MMP-3 und pro-MMP-1 scheint eher zu einer früheren Erkrankung einer endgradigen chronischen Kniegelenksschädigung zu führen.

Die Assoziation niedriger TIMP-2 Konzentrationen mit früherem Erkrankungsalter in der OA-Gruppe, sowie niedrige TIMP-1 mit hohen C2C Konzentrationen in der Trauma-Gruppe, lassen die Vermutung zu, dass TIMP-1 bei traumatischer sowie TIMP-2 bei der chronischen Kniegelenksschädigung eine Rolle spielt. Ob eine höhere Konzentration von TIMP-2 in der Synovia das Eintreten einer endgradigen chronischen Knieschädigung verzögert, ist durch weiterführende prospektive Studien zu untersuchen.

Die Prävalenz der Biomarker in der Synovia korrespondiert nicht mit dem Serum.

Aus dem Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie
Klinik für Orthopädie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

## Abstract

### Prevalence of proMMP-1, MMP-3, proMMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C and CPII in plasma and synovial fluid from patients with knee joint injury and osteoarthritis

**Objective:** To compare activity levels of selected matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases and cartilage metabolism between patients after knee injury and osteoarthritis (OA). Furthermore, to investigate the prevalence in diverse ages of osteoarthritis. To determine a correlation of these biomarkers between plasma and synovial fluid.

**Methods:** 69 patients who underwent total knee arthroplasty were subdivided into 3 groups: 50-59 years early-onset (FOA), 60-69 years middle-onset (MOA) and 70-80 years late-onset (SOA). Also, 61 patients were surveyed after knee injury (trauma group).

Plasma and synovial fluid levels of MMP-3, proMMP-1, proMMP-13, TIMP-1, TIMP-2, CPII and C2C were obtained and measured by sandwich enzyme immunoassays. CRP and leukocytes were determined in plasma.

Preoperative radiographs were classified by the Kellgren & Lawrence score. Knee disabilities were assessed with the Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score. Furthermore, the Body-Mass-Index was assessed.

**Results:** MMP-3 and proMMP-1 activities were significantly elevated in the trauma group in comparison to the OA group and proMMP-13 was demeaned. In the trauma group MMP-3 correlated significantly with proMMP-1 and -13 as well as proMMP-1 with proMMP-13. MMP-3 correlated significantly with proMMP-1 in the OA group.

TIMP-2 levels were significantly higher in the trauma group as in OA group and TIMP-1 correlated reciprocally proportionally with C2C. TIMP-1 correlated significantly with MMP-3 in the OA group.

Synovial fluid TIMP-2 levels were significantly lower in the FOA group as in MOA and SOA. Low TIMP-2 synovial fluid levels correlated significantly with an early disease onset.

A correlation between plasma and synovial fluid levels could not be verified.

**Conclusions:** Low levels of proMMP-13 in the trauma group in comparison to the OA group are potentially due to differing extent of articular degradation. In accordance with previous studies, high levels of proMMP-13 are associated with advanced articular damage. Patients with high levels of MMP-3 and proMMP-1 appear to suffer from early-onset OA.

Low levels of TIMP-2 in the OA group are associated with early-onset OA and low levels of TIMP-1 are associated with high levels of C2C. Thus the assumption can be made that after trauma TIMP-1 and in OA TIMP-2 is of relevance. Further prospective studies have to be investigated if higher levels of TIMP-2 in synovial fluid can prevent an early onset of OA.

The prevalence of the examined markers in synovial fluid do not correspond with Serum markers.

**Meiner Familie in Dankbarkeit gewidmet.**

Ein besonderer Dank gilt allen Patienten, die mich an ihrer Krankheit teilhaben lassen und mich dadurch Medizin gelehrt haben.

# Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung ..... 9

1.1 Makroskopie des Kniegelenks ..... 9

1.2 Mikroskopie des Kniegelenks ..... 10
1.2.1 Hyaliner Gelenkknorpel ..... 11
1.2.2 Kollagene ..... 12

1.3 Wirkung von Kompression auf den Gelenkknorpel ..... 13

1.4 Arthrose ..... 14
1.4.1 Ätiologie und Pathogenese ..... 14
1.4.2 Katabole und anabole Dysbalance ..... 15
1.4.3 Degradation des Kollagens ..... 16
1.4.4 Matrix-Metalloproteinasen und Tissue Inhibitor of Metalloproteinases ..... 17
1.4.5 Subchondraler Knochen ..... 21
1.4.6 Spezifische Rolle der Synovialis ..... 21
1.4.7 Arthrosediagnostik ..... 22
1.4.8 Therapie ..... 25

1.5 Studienansatz ..... 28

2 Material und Methoden ..... 29

2.1 Patientenkollektiv ..... 29

2.2 Verbrauchsmaterialien ..... 31

2.3 ELISA-Nachweispakete ..... 31

2.4 Probenentnahme und -lagerung ..... 32

2.5 Sandwich-Immunoassays ..... 32

2.6 Kompetitiver Immunoassay ..... 38

2.7 Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) ..... 42

2.8 Klassifikation nach Kellgren & Lawrence ..... 44

2.9 Statistische Methoden ..... 44

3 Ergebnisse ..... 45

3.1 Patientenkollektiv ..... 45

3.2 CRP und Leukozyten ..... 45

3.3 Body-Mass-Index ..... 47
3.3.1 Korrelation des BMI zu Biomarkern der Synovia ..... 48
3.3.2 BMI in OA-Subgruppen ..... 48

3.4 Prävalenz der Biomarker der Synovia ..... 49
3.4.1 Pro-MMP-1 ..... 49
3.4.2 MMP-3 ..... 50
3.4.3 Pro-MMP-13 ..... 51
3.4.4 TIMP-1 ..... 52
3.4.5 TIMP-2 ..... 53
3.4.6 CPII ..... 53
3.4.7 C2C ..... 54

3.5 Korrelationen der untersuchten Biomarker ..... 55

3.6 Unterschiede der Biomarker in Synovia und OA-Subgruppen ..... 57

3.7 Korrelation der Biomarker in Synovia und Serum (OA-Gruppe) ..... 59

3.8 Vergleich des KOOS in OA- und Trauma-Gruppe ..... 60
3.8.1 Korrelation des KOOS mit untersuchten Biomarkern und CRP ..... 61
3.8.2 Vergleich des KOOS bei unterschiedlichem Erkrankungsalter ..... 63

4 Diskussion ..... 64

4.1 Bewertung der Methoden ..... 66

4.2 Prävalenz der Biomarker in OA- und Trauma-Gruppe ..... 67
4.2.1 Pro-MMP-1 ..... 68
4.2.2 MMP-3 ..... 71
4.2.3 Pro-MMP-13 ..... 73
4.2.5 TIMP-1, TIMP-2, CPII und C2C ..... 75

4.3 Korrelation TIMP-2 in Synovia und Erkrankungsalter ..... 77

4.4 Korrelation untersuchter Marker in Serum und Synovia ..... 77

4.5 CRP nach traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung im Serum ..... 79

4.6 Bedeutung des BMI bei chronischer und traumatischer Kniegelenksschädigung ..... 79

4.7 Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Scores ..... 80

4.8 Schlussfolgerung ..... 82

5 Anhang ..... 83

5.1 Abkürzungsverzeichnis ..... 83

5.2 Literaturverzeichnis ..... 84

5.3 Danksagungen ..... 101

5.4 Tabellarischer Lebenslauf ..... 102

5.5 Eidesstattliche Versicherung ..... 103

# 1 Einleitung

Bevorzugt tritt die Arthrose an den großen und stark belasteten Gelenken des Körpers auf, insbesondere an Hüft- und Kniegelenken. Sie gehört weltweit zu einer der häufigsten muskuloskeletalen Erkrankungen [1]. Bis zum 50. Lebensjahr steigt die Prävalenz auf 14,9%, im 6. Lebensjahrzehnt weisen Frauen eine 30- und Männer eine 25%ige Prävalenz auf [1]. Ab dem 60. Lebensjahr waren die Hälfte der Frauen und 1/3 der Männer betroffen [1]. Bei 50 % der Betroffenen sind radiologische Arthrosezeichen nachweisbar [2]. Diese Zahlen machen die sozioökonomischen Belastungen deutlich, die durch diese Erkrankung verursacht werden [1]. Da die degenerativen Gelenkerkrankungen mit steigendem Lebensalter korrelieren, stehen die Gesundheitssysteme der Industrienationen wegen des auch in Zukunft weiter zunehmenden Anteils an älteren Menschen vor neuen Aufgaben [1].

Degenerative Erkrankungen des Kniegelenkes (femoro-tibial und femoro-patellar), die durch eine progressive Zerstörung des Gelenkknorpels unter Mitbeteiligung der Gelenkstrukturen wie Knochen, synovialer und fibröser Gelenkkapsel sowie periartikulärer Muskulatur gekennzeichnet sind, werden unter der Diagnose Kniegelenksarthrose zusammengefasst [128]. Bereits heute zählt die Kniegelenksarthrose zu den häufigsten Ursachen von Arbeitsunfähigkeit oder Frühberentung. Vor diesem Hintergrund wäre eine kausale Therapie mit strukturmodifizierender Wirkung wünschenswert. Eine solche Therapie existiert jedoch z.Z. noch nicht. Häufig bleibt daher als Ultima Ratio nur die Implantation einer Endoprothese.

## 1.1 Makroskopie des Kniegelenks

Das menschliche Kniegelenk ist ein Trochoginglymusgelenk, das größte und funktionell komplizierteste Gelenk des Menschen. In seiner Anatomie und Biomechanik hat sich, abgesehen von einigen geringfügigen Modifikationen, seit Millionen von Jahren kaum etwas verändert [4]. Die Femurkondylen haben exzentrische Radien (ventral oval und dorsal immer zunehmender sphärisch), wobei die Kondylen im Verhältnis zur Schaftachse retropositioniert sind. Zwischen den beiden Kondylen befindet sich die Trochlea ossis femoris, die als femoro-patellares Gleitlager dient. Das Tibiaplateau verfügt über eine medial konvex und lateral leicht konkav geformte Gelenkfläche.

Aufgrund ihres Oberflächenprofils sind die knöchernen Gelenkflächen von Femur und Tibia nahezu inkongruent. Eine Führung wie beim Hüftgelenk besteht beim Kniegelenk nicht, vielmehr erfolgt die Stabilisierung überwiegend muskulär und ligamentär. Das Tibiaplateau fällt nach dorsal ab, was als „posterior slope“ bezeichnet wird. Ebenso wie die Femurkondylen ist das Tibiaplateau zur Schaftachse retropositioniert. Die Gelenkflächen werden durch die Eminentia intercondylaris getrennt. Ventral und dorsal der Eminentia befinden sich die Insertionsstellen der Menisken und direkt an der Eminentia inserieren die Kreuzbänder.

Die Funktion der Menisken besteht in der Verteilung der Druck- und Scherkräfte auf das Tibiaplateau. Durch ihre Keil- und Halbmondform reduziert sich die Inkongruenz der Gelenkflächen und die Kontaktfläche wird um ca. 40–50 % vergrößert. Somit tragen die Menisken zu einem erheblichen Teil dazu bei, die Funktionalität des hyalinen Gelenkknorpels zu erhalten.

Die Patella läuft in dem femoro-patellaren Gleitlager und überträgt die Kraft des Musculus (M.) quadriceps femoris über das Ligamentum (Lig.) patellae auf die Tibia. Ca. 50 % der Quadricepssehnenfasern inserieren direkt an der Patella, die restlichen kontaktieren das Lig. patellae. Weiterhin dient die Patella als Hypomochlion und verstärkt die auf den Unterschenkel übertragene Kraft. Unterhalb des Lig. patellae befindet sich der Hoffa-Fettkörper, in dem freie Nervenendigungen der Propriozeption dienen. Die Kniegelenkskapsel umspannt das gesamte Kniegelenk und ist teilweise mit den Menisken, den Seitenbändern und der Patella verwachsen.

## 1.2 Mikroskopie des Kniegelenks

Die Gelenkkapsel besteht aus zwei Schichten:

1. Stratum fibrosum.
2. Stratum synoviale, wobei das Stratum synoviale noch in Intima und Subintima unterteilt werden kann [90].

Die zellulären Bestandteile des Stratum fibrosums sind Fibroblasten, die in Ketten von zwei bis vier Zellen angeordnet sind. Die Subintima ist vaskularisiert, enthält freie Nervenendigungen und verschiedene andere Zellen wie Lympho-, Leuko-, Plasmo-, Masto- und Lipozyten. Weiterhin sind in die Subintima Kollagene und Proteoglykane eingelagert [90]. Die Intima besteht aus einer zweireihigen Zellschicht aus Typ-A und Typ-B Synoviozyten.

Typ-A Synoviozyten werden dem Monozyten-Makrophagen-System zugeordnet. Sie können Immunglobuline und Komplementfaktoren binden [5].
Typ-B Synoviozyten ähneln den Fibroblasten. Sie sind für die Synthese einiger Bestandteile der Synovia u.a. den Matrix-Metalloproteinasen (MMP) und der Hyaluronsäure verantwortlich [5].
Neben Synthesefunktionen besitzt die Synovialis eine Barrierefunktion und verhindert die Diffusion von Makromolekülen aus dem Blut in die Synovia. Somit ist die Synovia ein Ultrafiltrat des Blutes und enthält Elektrolyte, Mikromoleküle wie Sauerstoff, Laktat und Glukose in ähnlicher Konzentration, jedoch keine Gerinnungsfaktoren und Fibrin. Das Transsudat der Synovia dient der nutritiven Versorgung nicht-vaskularisierter Teile der Menisken und des hyalinen Gelenkknorpels.

### 1.2.1 Hyaliner Gelenkknorpel

Obwohl nur wenige Millimeter dick, ist der hyaline Knorpel gegenüber Druck- und Scherkräften extrem widerstandsfähig und in der Lage Millionen von Belastungs- und Bewegungszyklen ein Leben lang zu überdauern. Aufgrund des niedrigen Reibungskoeffizienten und der Abriebfestigkeit werden die Scherkräfte zwischen den artikulierenden Knochen auf ein Mindestmaß verringert. Mikroskopisch besteht der hyaline Gelenkknorpel aus der extrazellulären Matrix und den darin eingebetteten Chondrozyten. Diese sind für die Kollagensynthese, den Stoffwechsel und damit für die Erhaltung der Matrix verantwortlich [9].
Die extrazelluläre Matrix ist ein Gerüst verschiedener Kollagenfibrillen und darin eingelagerten Proteoglykanen, nicht-kollagenen Proteinen und Glykoproteinen [9]. Diese bilden eine Matrix zwischen den Kollagenfibrillen aus, stellen Kontakte zwischen den Kollagenfibrillen her und stabilisieren dadurch das kollagene Netzwerk. Zu den Proteoglykanen gehören u. a. Chondroitinsulfat, Hyaluronsäure, Versican, Aggrecan, Decorin und Biglycan [18] [9].
Im Gelenkknorpel lassen sich vier verschiedene Zonen hinsichtlich ihrer Morphologie, Biochemie und Biomechanik unterscheiden. Diese werden als superfiziale, transitionale, radiäre und kalzifizierende Zone bezeichnet [3] [6].
Die dünne superfiziale Zone dient als Gleitschicht. Diese Eigenschaft wird durch einen sehr hohen Kollagen- und geringen Proteoglykangehalt gewährleistet. Die Chondrozyten sind parallel zur Oberfläche in verschiedenen Mustern ausgerichtet [132].

Dazwischen verlaufen maschenartig angeordnete Kollagenfasern, die zueinander parallel sind und zur Gelenkoberfläche einen tangentialen Verlauf nehmen. Ihre gesamte Anordnung hat eine arkadenförmige Struktur [56]. Diese Kollagenfasern sind in der kalzifizierenden Zone verankert. Die spezielle Anordnung verleiht der Zone ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Druck-, Scher- und Zugkräften [3] [6].
Die Transitionalzone liegt unterhalb der superfizialen Zone und stellt eine Übergangszone dar. Die Chondrone folgen in ihrer Ausrichtung der lokalen Kollagenarchitektur. Die Zusammensetzung der Matrix hat zur Folge, dass diese Zone eine verminderte Widerstandsfähigkeit gegenüber Scherkräften besitzt, jedoch eine höhere Druckfestigkeit aufweist [6].
Die tiefe Radiärzone liegt unterhalb der Transitionalzone. Die Ausrichtung der Kollagenfibrillen ist senkrecht zur Knorpeloberfläche. Die Chondrozyten sind parallel zu den Kollagenfasern angeordnet. Durch die hohe Konzentration an Proteoglykanen zeichnet sich dieser Teil des Knorpels durch eine gesteigerte Druckfestigkeit aus und kann daher auftretende Belastungen besser auf den subchondralen Knochen verteilen.
Die Kalzifizierungszone besteht aus kalzifiziertem Knorpel. Dieser stellt die Trennschicht zwischen Gelenkknorpel und subchondralem Knochen dar [6]. Die Chondrozyten sind hypertroph und liegen in nicht-kalzifizierten Lakunen. Sie synthetisieren Kollagen Typ X [6].

### 1.2.2 Kollagene

Im heterofibrillenären Gelenkknorpel findet man Kollagene vom Typ I, II, III, VI, IX, X, XI [Abb. 1] [27] [28] [29]. Dabei ist Kollagen vom Typ II das vorherrschende Kollagen [9]. Die makroskopisch sichtbare Form des Kollagens ist die Kollagenfaser. Sie lässt sich in Kollagenfibrillen und parallel zueinander angeordnete Mikrofibrillen unterteilen. Der mikroskopische Spalt zwischen den Fibrillen verleiht der Faser die charakteristische Querstreifung. Die Mikrofibrille setzt sich aus Kollagenmolekülen zusammen, die aus drei α-Ketten bestehen und eine Trippelhelix bilden. Durch variable Vernetzung der Kollagenfasern untereinander entstehen die jeweiligen mechanischen Eigenschaften [6].
Kollagen vom Typ IX befindet sich auf der Oberfläche vom Kollagen II und begrenzt zum einen das Dickenwachstum der Kollagenfibrillen, zum anderen bestehen kovalente Bindungen zum Kollagen Typ II [6].

Kollagen Typ XI gehört ebenso wie Typ II zur Gruppe der Fibrillen-formenden Kollagene. Beide Typen können miteinander polymerisieren und gemischte Fibrillen bilden. Dabei ist Kollagen Typ XI an der Limitierung des Fibrillendurchmessers beteiligt und bildet den Kern der Fibrille [30].

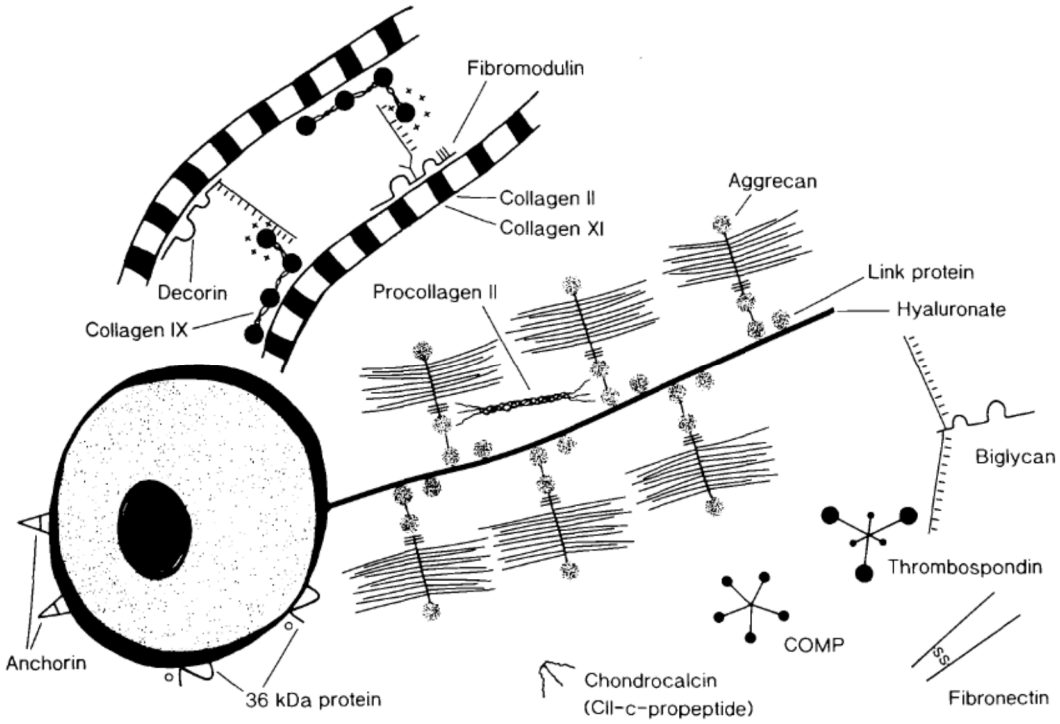


**Abb. 1:** Schematische Darstellung eines Chondrozyten (links unten) in der extrazellulären Matrix im Gelenkknorpel, sowie die Beziehung der Kollagene und Proteoglykane untereinander aus [32].
COMP = cartilage oligomeric matrix protein

## 1.3 Wirkung von Kompression auf den Gelenkknorpel

Bei der Bewegung von Gelenken treten Scher- und Druckkräfte auf. Eine wichtige Eigenschaft des Knorpels ist seine Stoßdämpferfunktion, die durch die Viskoelastizität des Knorpelmaterials erreicht wird. Axiale Stöße werden optimal auf den subchondralen Knochen verteilt, punktförmige Belastungsspitzen vermieden und der darunterliegende Knochen geschont. Die hohe Viskoelastizität beruht auf Wechselwirkungen zwischen den Kollagenen, Proteoglykanen und Wasser. In diesem Kontext ist das Aggrecan von besonderer Bedeutung, da es eine hohe osmotische Wirksamkeit hat und somit viel Wasser bindet. Dadurch wird im Gelenkknorpel ein Expansionsdruck erzeugt, der durch die Anziehung von Gegenanionen aus dem synovialen Milieu herrührt [9].

Kommt es zu einer Belastung, die den Quelldruck des Knorpels übersteigt, wird Wasser verdrängt. Dieses wird durch Poren gepresst, die durch die netzartige Anordnung der Makromoleküle der extrazellulären Matrix entstehen. Diese Poren verursachen für das hindurchfließende Wasser einen weiteren Widerstand, der überwunden werden muss. Dadurch wird die Energieabsorbtion zusätzlich erhöht. Bei zunehmendem Druck verändert sich die Größe der Poren, was zu einer automatischen Regulierung und natürlichen Beschränkung des Flüssigkeitsstroms führt [26].

Lässt die Druckbelastung nach, quillt der Knorpel wieder auf. Dies geschieht durch Rückstrom von Wasser in Kombination mit elektrisch aktiven Komponenten. Die negativ geladenen Seitenketten der Proteoglykane stoßen sich gegenseitig ab und verstärken das Aufquellen des Knorpels. Die Abstoßungskraft verhält sich reziprok zur Entfernung der Seitenketten und ist somit bei Kompression am größten [9].

So herausragend die Eigenschaften des Gelenkknorpels auch sind, so ungenügend sind die Reparaturmechanismen im Sinne der Restitution. Bei einem Trauma oder im Rahmen einer Arthrose werden die Kollagene und ihre Quervernetzungen abgebaut. Es kommt zu einer Auflockerung des Maschennetzwerks und zu einer Diffusion osmotisch wirksamer Bestandteile aus dem Knorpel. Dabei verschlechtern sich die mechanischen Eigenschaften des Knorpels. Die Porengröße nimmt zu, dadurch sinkt der Widerstand bei Kompression. Axiale Belastungen werden nicht mehr optimal auf den subchondralen Knochen verteilt und es kommt zu punktuellen Belastungsspitzen. Durch die fehlende Quervernetzung der Fibrillen sinkt der Quelldruck weiter und der Abstand zwischen den negativ geladenen Seitenketten der Proteoglykane steigt. Die Diffusion osmotisch wirksamer Bestandteile führt zu weiterem Wasserverlust. Diese Vorgänge verschlechtern insgesamt die mechanischen Eigenschaften und bilden einen Circulus vitiosus [33] [34].

## 1.4 Arthrose

### 1.4.1 Ätiologie und Pathogenese

Die Arthrose weist in ihrer Ätiologie eine multifaktorielle Genese auf, deren Mechanismen bis heute nicht vollständig verstanden sind. Die Erkrankung scheint das Ergebnis von Wechselwirkungen zwischen mechanischen, biologischen, genetischen und enzymatischen/biochemischen Faktoren zu sein, die zu einer Dysbalance zwischen Anabolismus und Katabolismus und letzten Endes zum Verlust des Gelenkknorpels

führen [16] [129]. Gegenstand der Forschung sind gegenwärtig u.a. Proteasen, Entzündungsmediatoren, Angiogenesefaktoren und Zytokine [10].
Bei der Arthrose wird zwischen einer primären Form ohne bekannte Genese und einer sekundären Form bekannter Genese unterschieden [62]. Präarthrotische Deformitäten, wie z. B. das Genu varum oder valgum, gehen mit einem erheblich erhöhten Risiko einher, an einer Arthrose zu erkranken [62]. Durch die Gelenkfehlstellung kommt es zu einer chronischen Überlastung des Gelenkknorpels in einem umschriebenen Bezirk und somit zu Mikrotraumata, die sich mit zunehmender Progredienz dann auch makroskopisch zeigen [58]. Ähnlich verhält es sich bei einem energetisch adäquaten Trauma [62]. Der Gelenkknorpel ist avaskulär und aneural, Chondrozyten sind in ihrer Mobilität und Proliferation stark eingeschränkt [59]. Dadurch sind Reparaturmechanismen limitiert. Bei einer tiefreichenden Läsion des Gelenkknorpels ist mit einer irreversiblen Zerstörung in diesem Bereich zu rechnen. Diese Vorgänge sind noch nicht mit einer Arthrose gleichzusetzen, solange die Läsion nicht die subchondrale Grenzlamelle erreicht [59]. Geht eine Läsion jedoch über die Grenzlamelle hinaus in den subchondralen Knochen hinein, werden die dortigen Gefäße eröffnet und es kommt zu einer Einwanderung mesenchymaler Zellen aus Blut und Knochenmark [60]. Die mit dem Blut in Kontakt kommenden Chondrozyten gehen dabei in die Apoptose [59]. In Folge der Reparatur bildet sich morphologisch minderwertiger Faserknorpel aus, der vorwiegend aus Kollagen Typ I besteht. Dieser besitzt nicht mehr die typische Struktur des hyalinen Knorpels [60]. Es besteht u. a. keine Verankerung des Faserknorpels mit dem umliegenden Gewebe. Aufgrund dieser strukturellen Unterschiede hat der Faserknorpel eine geringere mechanische Resistenz, was zum vorzeitigen Verschleiß und einem Wiederauftreten der Beschwerden führt [61]. Auf biochemischer Ebene kommt es zu einer vermehrten Expression von Proteasen, die die Hauptbestandteile des Knorpels degradieren [88] [129].
Die Arthrose des Kniegelenks hat eine erhöhte Prävalenz mit steigendem Alter, die Inzidenz liegt bei Frauen höher als bei Männern [1]. Eine Reihe von Risikofaktoren wie genetische Disposition [121], Adipositas [122] und Kniegelenksfehlstellungen [67].

### 1.4.2 Katabole und anabole Dysbalance

Biochemisch besteht eine Dysbalance zu Gunsten kataboler Prozesse und Degeneration von Matrixbestandteilen, insbesondere zur Degradation von Aggrecan

und dem kollagenen Netzwerk [118] [123] [129]. Auf der einen Seite werden verstärkt Entzündungsmediatoren wie Prostaglandin E2 (PGE2), Interleukin-1-beta (IL-1β) und Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α) freigesetzt, was zu einer gesteigerten Synthese von MMP´s, Aggrecanasen und zur Apoptose der Chondrozyten führt [123] [130]. Auf der anderen Seite wird die Expression der anabolen Faktoren wie IL-1-Rezeptorantagonist (IL-1RA), Insulin-like-growth-factor 1 (IGF-1), Transforming-growth-factor-beta TGF-β und Bone morphogenetic protein (BMP) gedrosselt [15] [19] [57] [130].

IL-1β beeinflusst den Knorpelstoffwechsel durch zwei verschiedene Mechanismen. Zum einen verringert es die Proteoglykansynthese auf der Ebene der Transkription, es kommt zur Abnahme der Boten-Ribonukleinsäure (engl. messenger ribonucleic acid, mRNA) des Proteinanteils der Proteoglykane [130] [131]. Zum anderen fördert es die Matrixdegradation, indem es die Synthese von MMP´s steigert [57] [131]. Diese Effekte lassen sich durch IL-1RA aufheben, wobei die Synthese von Matrixbestandteilen und Tissue Inhibitor Matrix-Metalloproteinases (TIMP´s) stimuliert werden [20] [21] [22] [31] [55].

Bei einer bestehenden Arthrose wird in den oberen Schichten des Gelenkknorpels weniger Kollagen Typ II und Aggregkan synthetisiert [68] [69]. Diese Veränderung wird auf die Umdifferenzierung der Chondrozyten zurückgeführt, die ein anderes Genmuster exprimieren. In der Progressionszone der Degradation befinden sich hypoaktive Chondrozyten mit verringerter Syntheseleistung. In den mittleren und tieferen Schichten des Gelenkknorpels wird dagegen reaktiv verstärkt Kollagen Typ II synthetisiert [68] [69]. Im Verlauf der Erkrankung bleibt die Synthese von MMP´s auf einem hohen Niveau, zusätzlich wird die Synthese ihrer Antagonisten, den TIMP´s verringert. Beides zusammen führt zu einer Verstärkung der Dysbalance [70] [88].

### 1.4.3 Degradation des Kollagens

Das kollagene Netzwerk hat zwei Hauptfunktionen. Zum einen ist es das Grundgerüst des Gelenkknorpels und verleiht ihm seine strukturelle Integrität und Reißfestigkeit. Zum anderen dient es aufgrund seiner molekularen Ladung und Netzstruktur der Bindung der Aggrecane [71]. Jede Schädigung dieses Netzwerkes bedeutet eine strukturelle Beeinträchtigung und damit eine Schwächung und Auflockerung des Knorpels. Die mechanische Widerstandsfähigkeit nimmt ab und der Gelenkknorpel wird

anfälliger für Traumata. Durch die Auflockerung verringert sich die Bindungsfähigkeit für Aggrecane, die sekundär aus dem Netzwerk diffundieren [71].
Im Rahmen der rheumatoiden Arthritis und Arthrose findet eine exzessive Degradation der Trippelhelices des Kollagens Typ II und seiner Querverbindungen durch Kollagen Typ IX statt [88]. Kompensatorisch werden in den tieferen Zonen vermehrt Kollagen und andere Matrixbestandteile synthetisiert, jedoch nicht in der superfiziellen Schicht. In der Summe überwiegen die katabolen Prozesse [72].
Die Synthese von Kollagen Typ II wird anhand der Prävalenz des Markers CPII bestimmt [73] [74]. Bei der Quervernetzung kollagener Fibrillen wird dieses Propeptid abgespalten und kann enzymatisch detektiert werden [73] [74] [76] [77] [68]. Aufgrund der Kompensation kataboler Prozesse durch eine erhöhte Synthese des Kollagens Typ II sind nach einem Trauma und während der Entstehung der Arthrose erhöhte Konzentrationen von CPII messbar [13].
Bei einer erhöhten Prävalenz Matrix-degradierender Faktoren steigen deren Stoffwechselprodukte und damit auch die Konzentration des Abbaumarkers C2C [17]. Durch Messung von C2C kann das Ausmaß der Degradation bestimmt werden. C2C entsteht bei der Spaltung kollagener Fibrillen und lässt sich via Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) nachweisen [78] [79]. Die Prävalenz von C2C korreliert mit der von MMP-1 (Kollagenase 1, siehe unten) [80]. Dies lässt vermuten, dass MMP-1 an der Degradation von Kollagen Typ II beteiligt ist [80]. Es wird von einer um das Fünffache erhöhten Konzentration an C2C im Vergleich mit gesunden Kontrollen berichtet [17]. Jedoch korreliert C2C nicht zwingend mit der Gelenkspaltverschmälerung von Kniegelenksarthrosepatienten [138].
Weiterhin wird in der Literatur eine Korrelation zwischen C2C und dem CRP im Serum aufgezeigt. Somit stellt C2C einen Indikator sowohl für eine systemische als auch für eine intraartikuläre Inflammation dar [80].

### 1.4.4 Matrix-Metalloproteinasen und Tissue Inhibitor of Metalloproteinases

Zur Gruppe der MMP´s zählen Enzyme, die primär für physiologische Umbauprozesse verantwortlich sind [88]. Jedoch sind sie auch an pathologischen Prozessen beteiligt [81]. Ihren Namen erhielten sie, weil sie in ihrem katalytischen Zentrum Zinkionen enthalten, daher werden sie teilweise auch als Metzincine bezeichnet. Die Familie der MMP´s umfasst z.Z. 25 Mitglieder, die in Kollagenasen (MMP-1, -8, -13, -18),

Gelatinasen (MMP-2, -9), Stromelysine (MMP-3, -10, -11), eine heterogene Gruppe von MMP´s (MMP-7, -12, -20) und membranständige MMP´s unterteilt werden [88]. Die MMP´s bestehen aus drei verschiedenen Domänen. Am carboxyterminalen Ende befindet sich eine Hämopexin-ähnliche Domäne. Dann folgt eine katalytische Domäne, die Zinkionen bindet, und am aminoterminalen Ende ein Propeptid, das zur Aktivierung abgespalten werden muss. Substrate der MMP´s sind Kollagene und Proteoglykane. Individuelle Unterschiede einzelner Domänen der jeweiligen MMP´s führen zur jeweiligen Substratspezifität [88].

Die MMP´s werden hauptsächlich von Chondrozyten und Synoviozyten als inaktive Proenzyme sezerniert. Aktivierte MMP´s sind in der Lage Matrixbestandteile zu degradieren und besitzen proteolytische Fähigkeiten. MMP-Gene sind u. a. durch Zytokine (IL-1ß, IL-6, TNF-α) induzierbar und durch Glukokortikoide, TGF-ß, IGF-1 sowie Fibroblast-growth-factor 18 (FGF-18) supprimierbar [88].

Ein Charakteristikum der Arthrose ist die Zerstörung des Gelenkknorpels. Aufgrund der Vielzahl der verschiedenen MMP´s ist es wahrscheinlich, dass die verschiedenen MMP´s unterschiedliche Aufgaben haben [94]. Da erhöhte Konzentrationen von MMP-1 (Kollagenase-1), MMP-3 (Stromelysin-3) und MMP-13 (Kollagenase-3) bei Kniegelenksarthrosepatienten sowie im Rahmen von Traumata in der Synovia beschrieben wurden, wird diesen Proteasen eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Arthrose zugeschrieben [23] [41] [43] [44] [46] [118] [119] [153] [159].

MMP-3 besitzt im Gegensatz zu MMP-1 und -13 eine geringere Substratspezifität [88]. Es ist in geringem Maße in der Lage das am häufigsten vorkommende Kollagen Typ II aber auch Typ IX zu degradieren [32] [88]. Darüber hinaus besitzt es die Fähigkeit Proteoglykane wie Versican und Aggrecan zu spalten [118]. Wie bereits oben beschrieben, bildet Kollagen Typ IX Quervernetzungen zum Kollagen Typ II. Werden diese Verbindungen gespalten, kommt es zu einer Auflockerung der Knorpelmatrix. Die Fragmente werden dann durch MMP-13 weiter degradiert [128]. Die daraus resultierenden Folgen sind im Kapitel 1.3 beschrieben. Obwohl MMP-3 in der Lage ist Kollagen Typ II zu degradieren, scheint seine wichtigere spezifische Aufgabe die Lockerung des kollagenen Netzwerks. Das Auftreten des Kollagen Typ II Abbauproduktes C2C korreliert daher mit der MMP-1-Aktivität und nicht mit der MMP-3-Aktivität [80]. Auf Grund der niedrigen Substratspezifität kann MMP-3 aber auch Kollagene vom Typ III, IV und V spalten [88]. In diesem Kontext scheint jedoch seine Eigenschaft Proteoglykane, insbesondere das Aggrecan, degradieren zu können,

wichtiger [88]. Der Abbau dieser Substrate verstärkt den negativen Effekt für den Gelenkknorpel (vergleiche Kapitel 1.3).
Neben diesen Eigenschaften ist MMP-3 aber auch in der Lage, inaktive MMP´s z. B. pro-MMP-1, -13, -9, -7 durch Abspaltung eines Peptides in ihre aktiven Formen zu überführen [88] [90].
Das gelockerte kollagene Netzwerk wird für MMP-1 und MMP-13 angreifbar. Diese spalten das Kollagen Typ II in charakteristische ¼- und ¾-Fragmente [siehe Abb. 2] [86] [87] [88] [89].

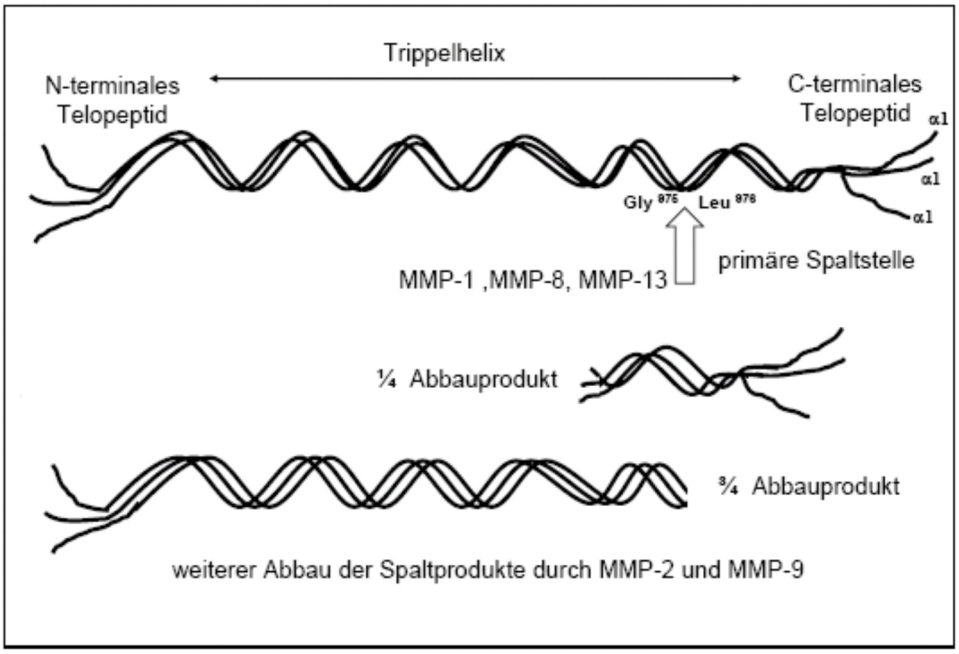


**Abb. 2:** Degradation von Kollagen Typ II durch MMP´s.

MMP-1 spaltet jedoch nicht nur Kollagen Typ II, sondern auch Typ I, III, VII, IX und X [88] [118]. Dabei besitzt MMP-13 eine fünf- bis zehnmal höhere Affinität zum Kollagen Typ II als MMP-1 [88]. Obwohl beide Proteasen das gleiche Substrat spalten, scheinen sie in unterschiedlichen Stadien der Arthrose aktiv zu sein und jeweils spezifische Aufgaben zu übernehmen [88]. Darüber hinaus ist die Konzentration der MMP´s innerhalb des Knorpels unterschiedlich. MMP-1 findet sich vermehrt in der superfiziellen Zone, wohingegen MMP-13 gehäuft in der Radiärzone auftritt [88].
Hohe Konzentrationen von MMP-1, MMP-3 und MMP-13 sind ein Indikator für eine Knorpeldestruktion, da wichtige Strukturproteine innerhalb des Knorpels zu ihren Substraten gehören. In zahlreichen Studien konnte eine Korrelation zwischen

Erkrankungen, deren Klinik ursächlich eine Knorpeldegeneration zugrunde liegt, bzw. Traumata, bei denen es im Verlauf zu einer Degeneration des Knorpels kommt, und erhöhten Konzentrationen dieser MMP´s nachgewiesen werden [87] [85] [90] [88]. Darüber hinaus wird in der Literatur von einem Zusammenhang zwischen der Prävalenz von MMP´s in der Synovia und im Serum berichtet [43] [65].

Die Regulation der MMP´s unterliegt einer fein abgestimmten Kontrolle. Neben den oben genannten Induktoren (z. B. Zytokine), die die Transkription der MMP´s beeinflussen, existieren weitere Regulationsmechanismen auf posttranslationaler Ebene [88]. Im Extrazellulärraum befinden sich antiproteolytische Proteine wie TIMP´s 1–4 und das $\alpha_2$-Macroglobulin [90]. TIMP´s kommen in vielen Geweben des Organismus vor, ihre Expression wird u. a. durch TGF-ß, IL-1ß und IGF-1 reguliert [88]. In den verschiedenen Geweben können sie unterschiedliche Funktionen übernehmen. Die vier TIMP´s werden auf unterschiedlichen Genen kodiert, besitzen untereinander jedoch eine große Strukturhomologie [88]. Im Stoffwechsel des Gelenkknorpels spielen sie eine zentrale Rolle und werden von den Chondrozyten sezerniert [88]. Das aminoterminale Ende ist für die Interaktion mit den MMP´s, das carboxyterminale Ende für die Interaktion mit anderen Proteinen verantwortlich [88]. TIMP´s haben eine hohe Affinität zu den MMP´s und binden über nicht-kovalente Bindungen in äquimolaren Verhältnissen an die Proteasen, wodurch diese inaktiviert werden [88] [118]. TIMP-1 und -2 spielen eine herausragende Rolle im Knorpelstoffwechsel [88]. Beide besitzen eine ähnliche Tertiärstruktur und stimmen in ca. 30 % ihrer Aminosäuresequenz überein [88]. Sie sind in der Lage sämtliche MMP´s im Knorpel zu inhibieren, wobei eine unterschiedliche Affinität zu einzelnen MMP´s besteht [118]. TIMP-1 inhibiert vorzugsweise MMP-1 und -3, TIMP-2 hingegen MMP-2 [93] [118].
Wie bereits beschrieben, steigert sich im Verlauf der Arthrose die Synthese der MMP´s [57]. Parallel dazu wird die Synthese der TIMP´s im Verlauf des Geschehens verringert [70]. Ebenso wird für Traumen berichtet, dass die nach dem Ereignis initial erhöhten TIMP-1- und TIMP-2-Konzentrationen im weiteren Verlauf signifikant sinken [24] [41] [46]. Diese beiden gegenläufigen Entwicklungen führen zu einer Dysbalance knorpelanaboler und knorpelkataboler Faktoren, in der Gesamtbilanz zu einer verstärkten Degradation der Matrix und somit zur Kniegelenksarthrose [85] [90].

### 1.4.5 Subchondraler Knochen

Nicht nur der Gelenkknorpel ist von Veränderungen betroffen, sondern auch der sich darunter befindliche subchondrale Knochen. Durch die Überexpression von Zytokinen und Wachstumsfaktoren verändern die Osteozyten ihren Metabolismus. Es kommt gleichzeitig zu einer gesteigerten Knochenbildung und Resorption, wobei die Balkenstruktur des Knochens verloren geht und eine subchondrale Sklerose entsteht [95]. Diese Veränderung tritt sehr früh im Krankheitsverlauf ein. Ist der Prozess weiter fortgeschritten, lassen sich radiologisch Nekrosezonen erkennen, die sich im Röntgenbild als subchondrale Knochenzysten zeigen [105].
Die Veränderungen finden nicht nur in mechanisch belasteten Bereichen statt. Im Perichondrium werden Stammzellen aktiviert, die sich in mesenchymale Zellen differenzieren und zunächst Kollagen synthetisieren. Im weiteren Verlauf verändern auch diese Zellen ihren Stoffwechsel und synthetisieren dann an der Oberfläche hyalinen Gelenkknorpel. Dabei entstehen die typischen Osteophyten [96].

### 1.4.6 Spezifische Rolle der Synovialis

Auch die Synovialis und die Gelenkkapsel sind an dem Arthroseprozess beteiligt. Entzündungsmediatoren und die in der Knorpelmatrix freigesetzten Spaltprodukte des Kollagens diffundieren in die Synovia und werden von Makrophagen in der Synovialis phagozytiert. Dies löst eine Entzündungsreaktion in der Synovialis aus [siehe Abb. 3], [57]. Histologisch zeigt sich eine Hyperplasie der Synovialis mit begleitender Infiltration durch Makrophagen. Im Rahmen dieser Entzündung werden wiederum Prostaglandine, Proteasen und Zytokine von den Makrophagen ausgeschüttet, die die entzündliche Reaktion in der Synovialis weiter verstärken. In der Klinik wird zwischen nicht-aktivierten und aktivierten Makrophagen bzw. zwischen einer aktivierten und nicht-aktivierten Kniegelenksarthrose differenziert [99]. Die von den Makrophagen sezernierten Entzündungsmediatoren diffundieren wiederum in die Synovia und von dort aus in den Knorpel. Dabei verstärken sie direkt und indirekt die Knorpeldegradation durch Proteolyse und Enzyminduktion. Die Mitbeteiligung der Gelenkkapsel macht sich klinisch als verdickte Kapsel, Kniegelenkserguss, Überwärmung und Schmerz bemerkbar [57].

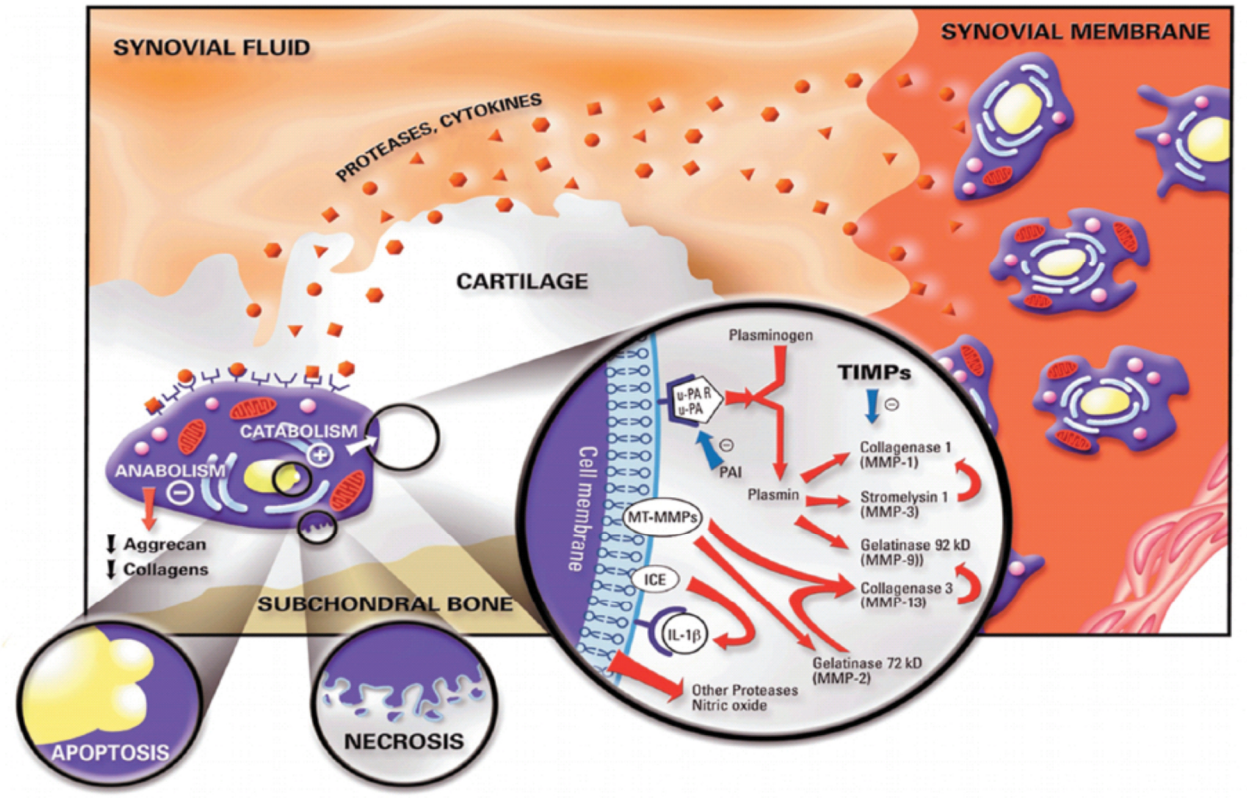


**Abb. 3:** Übersicht der Interaktions- und Regulationsmechanismen der MMP´s und deren Einfluss in Knorpel, Synovia und Synovialis aus [57].
ICE = Interleukin-1-beta-converting-enzyme; MT-MMP = Membrane-type-MMP; PAI = Plasminogen-Aktivator-Inhibitor; u-PA = Urokinase-Typ-Plasminogen-Aktivator; u-PAR = Urokinase-Typ-Plasminogen-Aktivator-Rezeptor

### 1.4.7 Arthrosediagnostik

Die Diagnostik der Arthrose stützt sich im Wesentlichen auf die Anamnese, klinische Untersuchung und bildgebende Verfahren. Differentialdiagnostisch werden zusätzliche Laborparameter hinzugezogen.
Die Arthrose lässt sich klinisch in vier Stadien einteilen [106]. Im Stadium der stummen Arthrose treten keinerlei Beschwerden auf. Danach folgt das Stadium der schmerzhaften, jedoch nicht aktivierten Arthrose. Hier klagen die Patienten über Schmerzen nach stärkerer oder ungewohnter Belastung. Typisch ist der Anlaufschmerz, der bei weiterer Bewegung nachlässt. Er kann vom Gelenk selbst herrühren oder durch Aktivierung periartikulärer Strukturen verursacht sein. Greift die Entzündung auf die Synovialis über, kann es zu einer Überwärmung, Schwellung und zum Gelenkerguss kommen. Klinisch können ein femoro-patellares Reiben oder retropatelläre Schmerzen

imponieren. Kennzeichen der Arthrose im Frühstadium bestehen aus der Trias Anlaufschmerz, Ermüdungsschmerz und Belastungsschmerz.
Im weiteren Verlauf kommt es zur aktivierten Arthrose, dem dritten Stadium. Dabei sind alle Kompartimente des Kniegelenks betroffen. Charakteristisch ist der Ruheschmerz. Es bestehen strukturelle Veränderungen des Knochens und der Muskeln sowie Ligamentosen, Tendinopathien und Bursitiden. Dies führt zu einer Dysfunktion und Schonhaltung und mündet letzten Endes in eine Schrumpfung der Gelenkkapsel. Die Folge der Schrumpfung der Gelenkkapsel sind Bewegungseinschränkungen. Häufig sind die Gelenke entzündet, geschwollen mit begleitendem Gelenkerguss.
Im Endstadium der dekompensierten Arthrose betreffen Schmerzen und Pathologien den gesamten Gelenkkapselbandapparat. Durch Deformierung des Gelenks und die eingenommene Schonhaltung atrophiert die Muskulatur. Ist der Gelenkknorpel aufgebraucht und der darunter liegende subchondrale Knochen ebenfalls zurückgewichen, entstehen Instabilitäten und Subluxationen durch bänderbedingte Insuffizienzen. Charakteristisch für späte Phasen der Arthrose ist die Trias aus Dauer-, Nacht- und Muskelschmerz [11].

**Konventionelles Röntgen**

Die apparative Diagnostik wird bei der Arthrose durch die Röntgenuntersuchung dominiert. Die Untersuchung wird beim stehenden Patienten am Kniegelenk in 30° Beugestellung mit an der Patella anliegender Röntgenplatte im p..-(posterior-anterior)-Strahlengang durchgeführt. Der Zentralstrahl führt direkt durch die Eminentia intercondylaris [113].
Das Frühstadium der Arthrose ist jedoch mit der Bildgebung nicht sicher zu diagnostizieren. Radiologische Zeichen werden oft erst bei einer klinisch manifesten Arthrose als subchondrale Sklerose erkennbar. Diese entsteht durch die Schädigung der kollagenen Matrix, wodurch punktuelle Druckspitzen auf den Knochen übertragen werden. Erst in fortgeschrittenen Stadien sind dann die typischen Veränderungen, wie eine Verschmälerung des Gelenkspalts, eine subchondrale Sklerose mit Zysten, Osteophyten und dem Druck nachgebende Knochen, detektierbar[113].
Diese Veränderungen wurden von Kellgren und Lawrence klassifiziert. Die Skala reicht von 0 keine Arthrose bis zu IV schwere Arthrose [105].

**Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT)**

Das MRT ist ein sensitives Verfahren, mit dem Veränderungen des Knorpels, der Menisken, der Ligamente und des Knochens nachgewiesen werden können und daher eine Arthrose früher erkennt als das Röntgenbild. Die Methode ist jedoch im Vergleich zum Röntgen zurzeit noch deutlich aufwändiger und teuer. Daher bleibt sie bislang noch speziellen Fragestellungen vorbehalten [113] [129].

**Sonographie**

Die Sonographie spielt eine zunehmend wichtige Rolle, da mit ihrer Hilfe zum Teil die Menisken, der Gelenkspalt und osteophytäre Anbauten beurteilt werden können. Weiterhin können Gelenkergüsse dargestellt und nachfolgend punktiert werden [113] [129].

**Labor und Synoviaanalyse**

Die Laborbefunde der primären Arthrose sind in der Regel unauffällig. Daher existieren in der Routineuntersuchung keine spezifischen Parameter. Laborbefunde sind zur Differentialdiagnose rheumatoider Erkrankungen, eines systemischen Lupus erythematodes, einer Gicht, Pseudogicht und eitrigen Arthritis hilfreich. Die Gelenkpunktion und folgende Synoviaanalyse dient zur Differentialdiagnostik. Die häufigste Ursache einer Synovitis ist die aktivierte Arthrose, wobei die oben genannten Erkrankungen ebenfalls zu einer Synovitis führen können. Die physiologische Synovia ist klar, zähflüssig, gelb und zellarm. Typische Veränderungen der Farbe, Trübung, Viskosität, Zell- und Leukozytenzahl sind für die Diagnostik der jeweiligen Erkrankungen zielführend [11].

**Arthroskopie**

Nach Ausschöpfung nicht-invasiver diagnostischer Verfahren, stellt das minimal-invasive Verfahren der Arthroskopie eine weitere Möglichkeit dar. Dabei wird die Diagnostik häufig mit therapeutischen Verfahren, wie mikrochirurgische Techniken z. B. Shave, Meniskusteilresektion, Mikrofrakturierung, Lavage, partielle Synovektomie und autologe Chondrozytentransplantation kombiniert [114].

### 1.4.8 Therapie

#### Konservative Therapie

Im Rahmen des konservativen Therapieregimes der Arthrose wird keine kausale Behandlung vorgenommen. Neuere Substanzen erheben den Anspruch, die Progredienz zu verlangsamen, jedoch stehen die Beweise dafür noch aus.

Zur Vermeidung der Krankheitsprogression und weiterer Traumata ist das Verhalten des Patienten im täglichen Leben entsprechend anzupassen. Inadäquate körperliche Belastung in Beruf und Sport, Übergewicht und Bewegungsmangel sollten vermieden werden. Zu einer multimodalen Therapie gehören darüber hinaus folgende Bestandteile:

1. Medikamentöse Therapie

   Die Routinemedikation besteht häufig aus Antiphlogistika und Analgetika. Steroide und Lokalanästhetika können lokal appliziert werden [114]. Die SYSADOA (Symptomatic Slow Acting Drugs in Osteoarthritis) und DMOAD (Disease Modifying Osteoarthritis Drugs) stellen weitere Optionen dar [7]. Bei den SYSADOA handelt es sich um Substanzen, die selbst keine direkte analgetische Wirkung besitzen. Der Wirkungseintritt ist verzögert, jedoch hält die Wirkung längere Zeit nach Absetzen des Mittels an [7]. DMOAD sollen die Knorpeldegradation verlangsamen und ein Remodeling des Knorpels begünstigen [7]. Zu beiden Substanzgruppen gehören Chondroitinsulfat, Glukosaminsulfat und Hyaluronan [7]. Die Studienlage zur Effektivität dieser Substanzen ist jedoch sehr inhomogen und eine eindeutige Empfehlung anhand von Ergebnissen aus Metaanalysen noch nicht möglich [7] [8].

2. Physikalische Therapie

   Zu den physikalischen Therapien gehören die Physio-, Thermo-, Hydro- und Elektrotherapie. Diese Verfahren können in bedingtem Maße die Schmerzen lindern. Weiterhin sollte eine Mobilisierung, Muskelkräftigung, Muskeldehnung und Koordinationsschulung des Patienten erfolgen. Diese Maßnahmen beugen zusätzlichen arthrotischen Prozessen durch Immobilisation und nicht-physiologische Bewegungsabläufe und damit einhergehenden ungünstigen Belastungen für das Gelenk vor [114].

3. Orthopädietechnik
   Durch Pufferabsätze, Schuhaußenranderhöhung bzw. Schuhinnenranderhöhung können die auftretenden Belastungen in eine andere Achse verlegt bzw. gemindert werden. Dies trägt zur Schmerzreduktion bei. Im fortgeschrittenen Stadium kommen Gehhilfen zum Einsatz, wodurch das jeweilige Gelenk entlastet werden kann [114].

**Operative Therapie**

Für die Arthrosebehandlung stehen unterschiedliche operative Methoden zur Verfügung. Bei der Arthroskopie werden unterschiedliche Techniken wie die Lavage, Synovektomie, Mikrofrakturierung oder autologe Knorpel-Knochen Transplantation (Osteochondral Autograft Transfer System; OATS) angewandt. Bei Achsfehlstellungen werden frühzeitig Umstellungsosteotomien durchgeführt. Bei fortgeschrittener Arthrose kommt der Oberflächenersatz zum Tragen [114].

Das gestufte operative Prozedere bei der therapeutischen Arthroskopie mit Debridement und Lavage bringt eine kurzzeitige Besserung der Beschwerden. Die Kombination mit anderen Verfahren, wie dem chondralen Shaving, bei dem aufgefaserte Knorpelanteile entfernt und der Knorpel damit geglättet wird, hat Vorteile gegenüber der reinen Lavage. Jedoch werden aufgrund der mangelnden Regenerationsfähigkeit des Knorpels keine befriedigenden Ergebnisse erzielt [97].
Neben den Techniken der Knorpelmodulation existieren Techniken, bei denen der subchondrale Knochen eröffnet wird, wobei es zu einer Einblutung aus dem Knochen kommt. Man unterscheidet zwei unterschiedliche Verfahren:

1. flächige Abrasion von Knorpel nach Magnusson [14],
2. punktuelle Eröffnung des subchondralen Knochens nach Pridie oder die Mikrofrakturierung nach Steadman [12].

Durch diese beiden Verfahren gelangen pluripotente Stammzellen in den defekten Bereich und füllen diesen aus.
Ein weiteres Verfahren zur Deckung von umschriebenen Knorpeldefekten ist die osteochondrale autologe Transplantation (OAT). Dabei werden Knorpel-Knochen Zylinder aus weniger belasteten Bereichen entnommen, um die Defektzone zu decken [98].

Als letztes Verfahren ist die autologe Chondrozytentransplantation (ACT) zu nennen. Dabei werden in einem ersten Eingriff autologe Knorpelzellen entnommen und vermehrt. In einem zweiten Eingriff werden diese in die Defektzone implantiert [25].
Allen Verfahren gemein ist, dass sie nur bei umschriebenen Knorpeldefekten einsetzbar sind. Der neu gebildete Faserknorpel ist im Vergleich zum hyalinen Gelenkknorpel minderwertig, da er nicht dessen mechanische Eigenschaften besitzt [33] [34]. Diese Verfahren können aber auch allein auf Grund der Ausdehnung nicht bei einer Pangonarthrose eingesetzt werden. Im letzten Fall bleibt nur die Versorgung mit einem vollständigen Oberflächenersatz, was im Vergleich zu den oben beschriebenen Verfahren einen deutlich invasiveren Eingriff darstellt.

Die aktuell zur Verfügung stehenden Therapieansätze zeigen, dass die Pathologie der Arthrose noch nicht vollständig verstanden ist und es an kausalen Therapiemöglichkeiten fehlt.
Die medikamentöse Therapie verfolgt das Ziel, Schmerzen zu lindern und so eine Verbesserung der Gelenkfunktion herbeizuführen. Eine Progression wird durch die Medikation jedoch nicht aufgehalten. Teilweise werden bei den SYSADOA krankheitsmodifizierende Effekte nachgewiesen, insbesondere für Glukosamin und Hyaluronan, jedoch wird das therapeutische Potenzial noch kontrovers diskutiert [8]. Physikalische Therapie und Orthopädietechnik wirken ebenfalls nur supportiv.

## 1.5 Studienansatz

Aktuell stehen in der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung der Arthrose keine Instrumente zur Verfügung, die den Beginn des Krankheitsprozesses vor dem Auftreten von irreparablen Gelenkschäden sicher kennzeichnen und eine frühzeitige Behandlung ermöglichen. Weiterhin setzen die zurzeit verfügbaren etablierten Therapieverfahren im Wesentlichen auf biomechanischer Ebene an und laufen mittel- bis langfristig auf einen Gelenkersatz anstelle einer Restitution bzw. Regeneration hinaus.
Wünschenswert wäre eine Therapie, die sich auf biologisch-immunologischer Ebene strukturverändernd auf das Knorpelgewebe auswirkt und dadurch zumindest die Progression der Erkrankung verlangsamt und die Umbauprozesse des Gelenkknorpels zu Gunsten der regenerativen Abläufe bzw. Faktoren zu unterstützt.
In diesem Kontext könnten Biomarker einen Ansatz bieten. Aktuell wird ein quantitativer oder qualitativer Nachweis solcher Marker in Serum oder Synovia kontrovers diskutiert. Einen Einzug in den klinischen Alltag haben diese Verfahren bislang noch nicht gefunden [103]. Bisher wurden in Studien Markerproteine in Serum und Synovia u. a. bei Arthrose, rheumatoider Arthritis, Gichtarthritis beurteilt z. T. mit divergierenden Ergebnissen. Die Prävalenz selektierter Markerproteine nach traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung sowie deren Prävalenz bei unterschiedlichem zeitlichem Auftreten bei chronischer Kniegelenksschädigung wurden bislang noch nicht hinreichend untersucht. Weiterhin ist unzureichend geklärt, ob eine Assoziation zwischen selbigen Markern in der Synovia und dem Serum besteht.

In der vorliegenden Studie wurden daher folgende Fragen untersucht:

1. Besteht ein Unterschied in der Prävalenz selektierter Matrix-modulierender Proteasen, Gewebeinhibitoren und Knorpelmetaboliten nach traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung?
2. Variiert die Prävalenz dieser Faktoren bei chronischer Kniegelenksschädigung in Abhängigkeit vom Alter des Patienten?
3. Lässt sich eine Korrelation dieser Marker zwischen Serum und Synovia nach traumatischer oder chronischer Kniegelenksschädigung nachweisen?

# 2 Material und Methoden

## 2.1 Patientenkollektiv

Das Kollektiv für die vorliegende Studie bestand zum einen aus Patienten, die an einer endgradigen primären Kniegelenksarthrose erkrankt waren und einer operativen Versorgung (künstlicher Oberflächenersatz) bedurften. Des Weiteren wurden Patienten rekrutiert, die an einer Meniskus- bzw. Kreuzbandläsion litten und auf Grund dessen einer operativen Therapie bedurften. Auf eine aus gesunden Probanden bestehende Kontrollgruppe wurde wegen des Risikos einer iatrogen-induzierten Kniegelenksinfektion nach Punktion verzichtet. Darüber hinaus war die Gewinnung einer ausreichenden Probenmenge bei gesunden Probanden zur vollständigen Untersuchung der Fragestellung dieser Studie fraglich.

Die Patienten mit Meniskus- und Kreuzbandläsion bildeten die Trauma-Gruppe. Die Patienten mit primärer Kniegelenksarthrose wurden als Arthrose-Gruppe (OA-Gruppe) zusammengefasst. Diese wurde wiederum in drei Untergruppen unterteilt.

1. Frühe-OA-Gruppe (Alter < 60 Jahre)
2. Mittlere-OA-Gruppe (Alter 60–69 Jahre)
3. Späte-OA-Gruppe (Alter 70–80 Jahre)

Dabei diente das Alter zum Zeitpunkt der Operation als Einteilungskriterium.

Zu Beginn der Studie wurden die Patienten über die Ursachen der Kniegelenksarthrose, den Verlauf, die Behandlungsmodalitäten, den aktuellen Stand der Forschung und die Ziele der Studie, inklusive der Veröffentlichung der Daten in anonymisierter Form, in Übereinkunft mit den Datenschutzbestimmungen informiert. Das positive Votum der Ethikkommission der Charité zur Durchführung der Studie lag vor.

Nach Erteilung der schriftlichen Einwilligung zur Teilnahme an der Studie wurde die Anamnese und folgende Daten erhoben: Vor- und Nachname, Geburtsdatum, Geschlecht, Haupt- und Nebendiagnosen, Größe, Gewicht, BMI, Erkrankungen am Kniegelenk, Voroperationen, Leukozyten (Leukozyten 4–10 /nl) und CRP (CRP 0,1–0,5 mg/dl) gemäß Routineuntersuchung.

Zusätzlich wurde der Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) ermittelt und die Röntgenbilder des Kniegelenks nach Kellgren & Lawrence klassifiziert [105].

Die Speicherung sämtlicher erhobenen Daten erfolgte in einer digitalen Patientenakte. Alle Patienten wurden mindestens einen Tag vor der Operation stationär aufgenommen.

**Einschlusskriterien**

Folgende Kriterien mussten die Patienten zur Aufnahme in die Studie erfüllen:

OA-Gruppe:

- geplante operative Behandlung mittels eines künstlichen Oberflächenersatzes des Kniegelenks bei symptomatischer primärer Kniegelenksarthrose
- radiologisch gesicherte endgradige Kniegelenksarthrose nach Kellgren & Lawrence
- unterschriebene Einverständniserklärung

Trauma-Gruppe:

- bildmorphologisch (im MRT nachgewiesenen) bestehende symptomatische Meniskus- oder vordere Kreuzband-Läsion (VKB) bzw. kombinierte Meniskus- und VKB-Läsion, die einer operativen Therapie bedurften
- unterschriebene Einverständniserklärung

**Ausschlusskriterien**

Folgende Kriterien führten zum Ausschluss der Patienten aus der Studie:

- Ablehnung der Teilnahme oder fehlendes Verständnis für die Studienbedingungen/-teilnahme
- sekundäre Kniegelenksarthrose
- Erkrankungen aus dem rheumatoiden Formenkreis
- Patienten mit psychiatrischen und/oder neurologischen Erkrankungen
- Teilnahme an einer Studie in den letzten drei Monaten und/oder gleichzeitige Teilnahme an einer anderen Studie
- Patienten mit einer anderen Gelenkerkrankung als Arthrose (Polyarthritis, Meniskusresektion, etc.)
- Patienten mit Voroperationen des Kniegelenks
- intraartikuläre Gelenkinjektion mit Steroiden oder Hyaluronsäure innerhalb der letzten sechs Monaten
- Medikamenteneinnahme mit Wirkung auf den Zellmetabolismus bzw. das Entzündungsgeschehen innerhalb der letzten zwei Wochen
- Substanzabhängigkeit

Es konnten insgesamt 130 Patienten der Charité Universitätsmedizin Berlin Campus Mitte in die Studie eingeschlossen werden: 69 Patienten aufgrund einer primären Kniegelenksarthrose, 30 Patienten wegen einer Meniskusläsion und 31 Patienten wegen einer vorderen Kreuzbandruptur. Der Operationszeitpunkt in der Trauma-Gruppe lag innerhalb eines Zeitfensters von sechs Wochen nach dem Trauma.

## 2.2 Verbrauchsmaterialien

| | |
|---|---|
| Pipet-Lite 10–100 µl | FA Mettler/Toledo, Rainin, Gießen, Deutschland |
| Pipet-Lite 20–200 µl | FA Mettler/Toledo, Rainin, Gießen, Deutschland |
| Pipet-Lite 100–1000 µl | FA Mettler/Toledo, Rainin, Gießen, Deutschland |
| Greenpak LTS 200 µl Filter tip | FA Mettler/Toledo, Rainin, Gießen, Deutschland |
| Greenpak LTS 1000 µl Filter tip | FA Mettler/Toledo, Rainin, Gießen, Deutschland |
| 1,5 ml Eppendorfgefäße | Eppendorf, Hamburg, Deutschland |
| Hettich Mikro 22 Tisch-Zentrifuge | FA Hettich, Tuttlingen, Deutschland |
| Jouan GR 412 Zentrifuge | FA Jouan GmbH, Hessen, Deutschland |
| Seac Sirio S | FA Radim diagnostics, Freiburg, Deutschland |
| 9 ml Serum-Gel-Monovette | Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland |
| Heidolph Titramax 1000 Mischgerät | FA Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland |

## 2.3 ELISA-Nachweispakete

| | |
|---|---|
| Quantikine human pro-MMP-1 dmp100 | FA R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA |
| Quantikine human MMP-3 dmp300 | FA R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA |
| Quantikine human pro-MMP-13 dm1300 | FA R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA |
| Quantikine human TIMP-1 dtm100 | FA R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA |
| Quantikine human TIMP-2 dtm200 | FA R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA |
| C2C Item# 60-1001-001 | Fa. Ibex Technologies, Montreal, Quebec, Canada |
| CPII Item# 60-1003-001 | Fa. Ibex Technologies, Montreal, Quebec, Canada |

## 2.4 Probenentnahme und -lagerung

**Serum**

Am Tag der Patientenaufnahme wurde vormittags neben der routinemäßigen Blutentnahme zusätzlich eine 9 ml Serum-Gel-Monovette (FA Sarstedt) befüllt. Nach 20-minütiger Lagerung bei Zimmertemperatur wurde die Probe ebenfalls bei Raumtemperatur mit einer Jouan GR 412 Zentrifuge (Jouan GmbH, Hessen, Deutschland) mit 800 g für 15 Minuten zentrifugiert. Aliquots des Serums wurden in Eppendorfgefäße bei -80 °C gelagert.

**Synovia**

Bei Operationsbeginn wurde das betroffene Kniegelenk punktiert und mindestens 2 ml Synovia gewonnen. Die Probe wurde bei 21 °C mit einer Hettich Mikro 22 Zentrifuge (Hettich, Tuttlingen, Deutschland) mit 15.000 g für 30 Minuten zentrifugiert. Aliquots des Überstandes wurden in Eppendorfgefäße bei -80 °C gelagert.

## 2.5 Sandwich-Immunoassays

Die Ermittlung der Werte für pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1 und TIMP-2 aus Serum und Synovia erfolgte mittels Sandwich-ELISA-Kits (FA R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA) nach dem Protokoll des Herstellers. Es wurden die Kits angewendet, die das aktive Enzym detektierte, bei pro-MMP-1 und pro-MMP-13 existierte zum Zeitpunkt der Studie keine ELISA-Kit das dieses erfüllte, daher wurde die Proenzyme untersucht.

Die Sandwich-ELISAs bedienten sich zweier monoklonaler Antikörper, die gegen zwei verschiedene Epitope des Antigens gerichtet waren. Ein Antikörper war bereits auf der Mikroplatte fixiert, der andere wurde später hinzugefügt.

Die zu untersuchende Probe wurde in das jeweilige Well pipettiert und inkubiert. Dabei bildeten sich Antigen-Antiköper-Komplexe, die fest mit der Mikroplatte verbunden waren. Im nächsten Schritt wurde das ungebundene Material in einem Waschvorgang entfernt. Der zweite Antikörper, an dem eine Peroxidase gebunden war, wurde hinzugegeben und inkubiert. Im letzten Waschvorgang wurde erneut ungebundenes Material entfernt, anschließend ein chromogenes Substrat hinzugefügt und inkubiert. Dabei katalysierte die Peroxidase eine Reaktion, so dass das Substrat in ein gefärbtes

Produkt überführt wurde. Nach Zugabe eines Stopp-Reagenzes wurde die Extinktion gemessen. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe. Eine schematische Darstellung der Reaktionen findet sich in Abbildung 4.

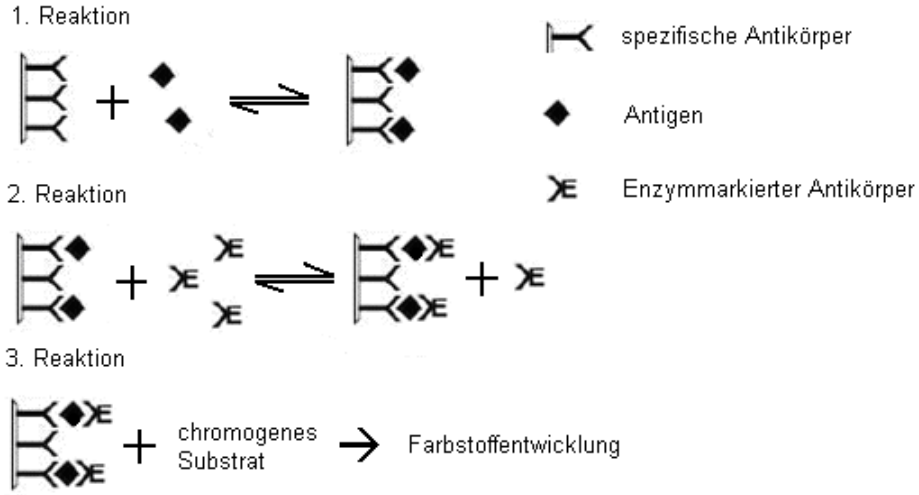


**Abb. 4:** Sandwich ELISA Schema.

**ELISA von pro-MMP-1 aus Serum und Synovia**

Zunächst wurden 500 ml Waschpuffer, das chromogene Substrat und der pro-MMP-1 Standard nach Herstellerangaben vorbereitet. Aus dem pro-MMP-1 Standard wurde mit Calibrator Diluent RD6-28 eine Verdünnungsreihe bekannter Konzentration erstellt (siehe Abb. 5), die bei der Extinktionsmessung als Standardkurve diente. Die höchste pro-MMP-1-Konzentration betrug 10 ng/ml, als Negativkontrolle diente RD6-28 Lösung

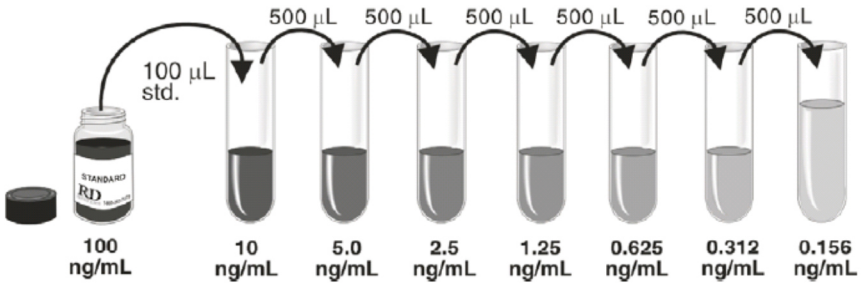


**Abb. 5:** Verdünnungsreihe bekannter Konzentration für pro-MMP-1 aus [35].

Damit das in der Probe vorhandene pro-MMP-1 an die Mikrotiterplatte binden konnte, wurden jeweils 100 µl des Assay Diluent RD1-52 und 100 µl einer Probe in ein Well

pipettiert und für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 500 rpm inkubiert. Danach wurden überschüssige Reaktanten entfernt, indem alle Wells jeweils viermal mit 400 µl Waschpuffer gespült wurden. Nun wurden 200 µl pro-MMP-1 Konjugate (Antiköper, an dem eine Peroxidase angeheftet war) in jedes Well pipettiert. Dabei konnte das pro-MMP-1 mit dem Antikörper reagieren. Die Inkubation erfolgte wiederum für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät bei 500 rpm. Der oben beschriebene Waschschritt wurde wiederholt, 200 µl chromogenes Substrat (Tetramethylbenzidine/TMB) in jedes Well pipettiert und lichtgeschützt für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es zeigte sich eine Farbreaktion von blau zu gelb. Um die Peroxidasereaktion zu stoppen, wurden 50 µl Stopp-Reagenz zu jedem Well hinzugefügt. Die Extinktion wurde mittels Seac Sirio S (FA Radim diagnostics, Freiburg, Deutschland) bei 450 nm und einer Korrektur bei 540 nm gemessen. Die Korrektur bei 540 nm glich Interferenzen mit der Mikrotiterplatte aus. Mit Hilfe der konstruierten Standardkurve wurde die Konzentration bestimmt.

**ELISA von MMP-3 aus Serum und Synovia**

Die Reagenzien wurden laut Herstellerangaben vorbereitet. Der MMP-3 Standard wurde mit 1 ml destilliertem Wasser rekonstituiert und daraus mittels RD5-10 analog zum Prozedere mit pro-MMP-1 eine Verdünnungsreihe erstellt. Die höchste pro-MMP-3-Konzentration betrug 10 ng/ml, als Negativkontrolle diente RD5-10 Lösung Die Verdünnungsreihe wurde bei der Extinktionsmessung als Standardkurve genutzt.

Damit das in der Probe vorhandene MMP-3 an die Mikrotiterplatte binden konnte, wurden jeweils 100 µl des Assay Diluent RD1-52 und 100 µl einer Probe in jedes Well pipettiert und für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 500 rpm inkubiert. Danach wurden überschüssige Reaktanten entfernt, indem die Wells viermal Mal mit 400 µl Waschpuffer gespült wurden. Nun wurden 200 µl MMP-3 Konjugate (Antikörper, an dem eine Peroxidase angeheftet war) in jedes Well pipettiert. Dabei konnte das MMP-3 mit dem Antikörper reagieren. Die Inkubation erfolgte erneut für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät bei 500 rpm. Der oben beschriebene Waschschritt wurde wiederholt. Danach wurden 200 µl chromogenes Substrat (Tetramethylbenzidine/TMB) in jedes Well pipettiert und lichtgeschützt für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es zeigte sich eine

Farbreaktion von blau zu gelb. Die Peroxidasereaktion wurde mittels Addition von 50 µl Stopp-Reagenz zu jedem Well beendet. Die Extinktion wurde mittels Seac Sirio S (FA Radim diagnostics, Freiburg, Deutschland) bei 450 nm und einer Korrektur bei 540 nm gemessen. Die Korrektur bei 540 nm glich Interferenzen mit der Mikrotiterplatte aus. Mit Hilfe der konstruierten Standardkurve wurde die Konzentration bestimmt.

**ELISA von pro-MMP-13 aus Serum und Synovia**

Die Reagenzien wurden laut Herstellerangaben vorbereitet. Der pro-MMP-13 Standard wurde mit 1 ml destilliertem Wasser rekonstituiert und daraus mittels RD5-10 analog zum Prozedere von pro-MMP-1 eine Verdünnungsreihe erstellt. Die höchste pro-MMP-13-Konzentration betrug 5000 pg/ml, als Negativkontrolle diente die RD5-10 Lösung. Dabei lag die durchschnittlich minimal detektierbare Konzentration bei 7,7pg/ml.
Damit das in der Probe vorhandene pro-MMP-13 an die Mikrotiterplatte binden konnte, wurden jeweils 100 µl des Assay Diluent RD1-34 und 50 µl einer Probe in jedes Well pipettiert und für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 500 rpm inkubiert. Danach wurden überschüssige Reaktanten entfernt, indem die Wells jeweils viermal mit 400 µl Waschpuffer gespült wurden. Nun wurden 200 µl pro-MMP-13 Konjugate (Antikörper, an dem eine Peroxidase angeheftet war) in jedes Well pipettiert. Dabei konnte das pro-MMP-3 mit dem Antikörper reagieren. Die Inkubation erfolgte erneut für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät bei 500 rpm. Der oben beschriebene Waschschritt wurde wiederholt, 200 µl chromogenes Substrat (Tetramethylbenzidine/TMB) in jedes Well pipettiert und lichtgeschützt für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es zeigte sich eine Farbreaktion von blau zu gelb. Die Peroxidasereaktion wurde mittels Addition von 50 µl Stopp-Reagenz zu jedem Well beendet. Die Extinktion wurde mittels Seac Sirio S (FA Radim diagnostics, Freiburg, Deutschland) bei 450 nm und einer Korrektur bei 540 nm gemessen. Die Korrektur bei 540 nm glich Interferenzen mit der Mikrotiterplatte aus. Mit Hilfe der konstruierten Standardkurve wurde die Konzentration bestimmt.

**ELISA von TIMP-1 aus Serum und Synovia**

Es wurden 500 ml Waschpuffer, das chromogene Substrat und der TIMP-1 Standard nach Herstellerangaben vorbereitet. Aus dem TIMP-1 Standard wurde mit Calibrator Diluent RD5P eine Verdünnungsreihe bekannter Konzentration erstellt (siehe Abb. 7), die bei der Extinktionsmessung als Standardreihe diente. Die 10 ng/ml Lösung stellte die höchste TIMP-1-Konzentration dar, reine RD5P Lösung wurde als Negativkontrolle benutzt.

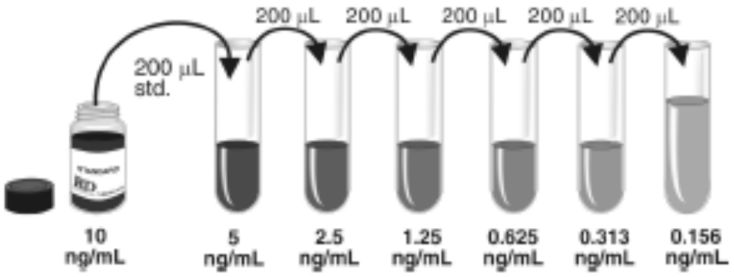


**Abb. 7:** Verdünnungsreihe bekannter Konzentration für TIMP-1 aus [37].

Damit das in der Probe vorhandene TIMP-1 an die Mikrotiterplatte binden konnte, wurden jeweils 100 µl des Assay Diluent RD1-X und 50 µl einer Probe in jedes Well pipettiert und für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 500 rpm inkubiert. Danach wurden überschüssige Reaktanten entfernt, indem alle Wells jeweils viermal mit 400 µl Waschpuffer gespült wurden. Nun wurden 200 µl TIMP-1 Konjugate (Antiköper, an dem eine Peroxidase angeheftet war) in jedes Well pipettiert. Dabei konnte das TIMP-1 mit dem Antikörper reagieren. Die Inkubation erfolgte für eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät bei 500 rpm. Der oben beschriebene Waschschritt wurde wiederholt, 200 µl chromogenes Substrat (Tetramethylbenzidine/TMB) in jedes Well pipettiert und lichtgeschützt für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es zeigte sich eine Farbreaktion von blau zu gelb. Um die Peroxidasereaktion zu stoppen, wurden 50 µl Stopp-Reagenz zu jedem Well hinzugefügt. Die Extinktion wurde mittels Seac Sirio S (FA Radim diagnostics, Freiburg, Deutschland) bei 450 nm und einer Korrektur bei 540 nm gemessen. Die Korrektur bei 540 nm glich Interferenzen mit der Mikrotiterplatte aus. Mit Hilfe der Standardkurve wurde die Konzentration in den Proben bestimmt.

**ELISA von TIMP-2 aus Serum und Synovia**

Die Reagenzien wurden laut Herstellerangaben vorbereitet. Der TIMP-2 Standard wurde mit 1 ml destilliertem Wasser rekonstituiert und daraus mittels RD5P analog zum Prozedere von TIMP-1 eine Verdünnungsreihe bekannter Konzentration erstellt (siehe Abb. 8). Diese diente bei der Extinktionsmessung als Standardkurve. Die höchste pro-TIMP-2-Konzentration betrug 10 ng/ml, als Negativkontrolle diente RD5P Lösung.

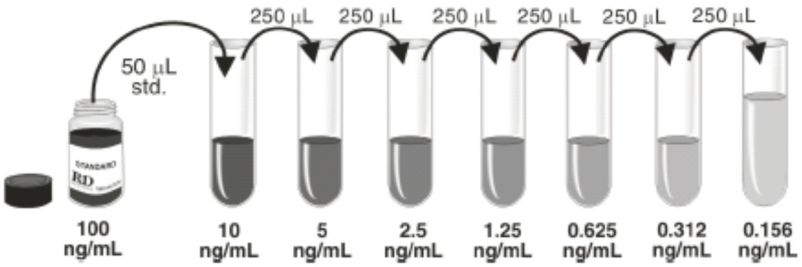


**Abb. 8:** Verdünnungsreihe bekannter Konzentration für TIMP-2 aus [40].

Damit das in der Probe vorhandene TIMP-2 an die Mikrotiterplatte binden konnte, wurden jeweils 100 µl des Assay Diluent RD1W und 50 µl einer Probe in jedes Well pipettiert und für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 500 rpm inkubiert. Danach wurden überschüssige Reaktanten entfernt, indem alle Wells jeweils viermal mit 400 µl Waschpuffer gespült wurden. Nun wurden 200 µl TIMP-2 Konjugate (Antikörper, an dem eine Peroxidase angeheftet war) in jedes Well pipettiert. Dabei konnte das TIMP-2 mit dem Antikörper reagieren. Die Inkubation erfolgte erneut für zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät bei 500 rpm. Der oben beschriebene Waschschritt wurde wiederholt, 200 µl chromogenes Substrat (Tetramethylbenzidine/TMB) in jedes Well pipettiert und lichtgeschützt für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es zeigte sich eine Farbreaktion von blau zu gelb. Die Peroxidasereaktion wurde mittels Addition von 50 µl Stopp-Reagenz zu jedem Well beendet. Die Extinktion wurde mittels Seac Sirio S (FA Radim diagnostics, Freiburg, Deutschland) bei 450 nm und einer Korrektur bei 540 nm gemessen. Die Korrektur bei 540 nm glich Interferenzen mit der Mikrotiterplatte aus. Mit Hilfe der Standardkurve wurde die Konzentration bestimmt.

## 2.6 Kompetitiver Immunoassay

Die Ermittlung der Werte für C2C und CPII aus Serum und Synovia erfolgte mittels kompetitiver ELISA-Kits der Fa. Ibex Technologies, Montreal, Quebec, Canada. Die Prozeduren wurden laut Protokoll des Herstellers durchgeführt.

Der kompetitive ELISA enthält zwei Antikörper und ein fest an die Mikrotiterplatte gebundenes Protein. Der erste Antikörper richtet sich gegen ein Epitop des an die Mikrotiterplatte gekoppelten Proteins, dabei handelt es sich um das gleiche Epitop, das sowohl im Kompetitor-Antigen als auch im Analyten vorkommt. Der zweite Antikörper, an dem eine Peroxidase gebunden war, richtete sich gegen den ersten Antikörper.

Kompetitor-Antigen und Probe wurden zu gleichen Teilen auf eine unbeschichtete Mikrotiterplatte aufgebracht und gründlich gemischt. Danach wurde die gleiche Menge des ersten Antikörpers hinzugefügt und inkubiert. Das Antigen in der Probe und das Kompetitor-Antigen konkurrierten um die Bindung mit dem Antikörper. Dabei bilden sich Antigen-Antikörper-Komplexe. Nun wurde eine definierte Menge des Ansatzes auf die ELISA-Mikrotiterplatte pipettiert und inkubiert. Dabei banden die noch freien Antikörper an das Protein auf der Mikrotiterplatte. Im folgenden Waschschritt wurden sämtliche Reaktionspartner, die nicht an die Mikrotiterplatte gebunden waren, entfernt. Nun wurde der zweite Antikörper mit der angehefteten Peroxidase hinzugefügt. Die Lösung wurde inkubiert und erneut gewaschen, um nicht gebundene Antikörper zu entfernen. Das chromogene Substrat wurde hinzugefügt und inkubiert. Die Farbreaktion wurde mit Stopp-Reagenz beendet und die Extinktion gemessen. Eine schematische Darstellung der findet sich in Abbildung 9.

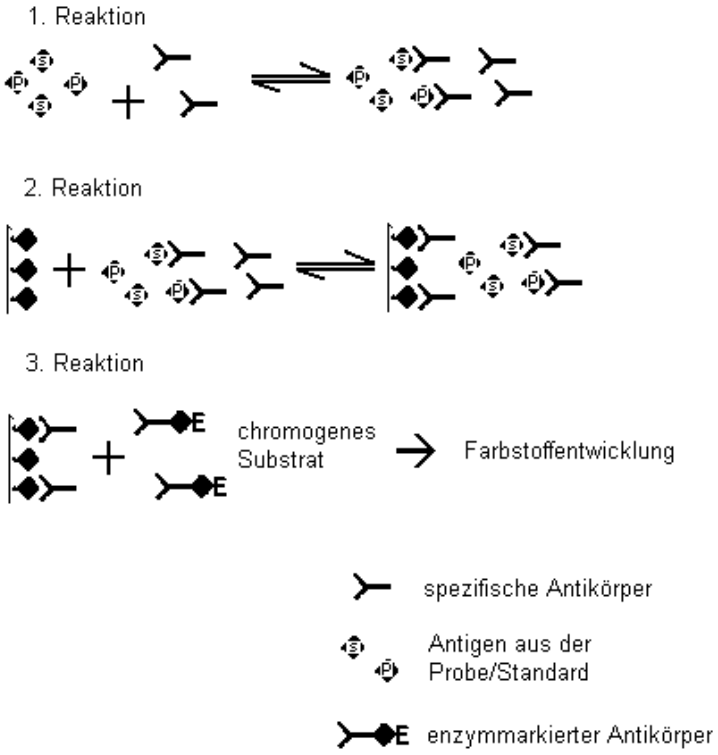


**Abb. 9:** Kompetitiver Sandwich ELISA Schema.
P = Probenantigen, S = kompetitor Antigen

**ELISA von C2C aus Serum und Synovia**

Die Reagenzien wurden laut Herstellerangaben vorbereitet. Entsprechend des Protokolls wurde eine Verdünnungsreihe bekannter Konzentration des C2C-Standards (10 µg/ml) mit Puffer III, wie in Tabelle 1 gelistet, hergestellt. Diese diente bei der Extinktionsmessung als Vergleichsreihe. Die höchste Konzentration betrug 10 µg/ml C2C, Puffer III Lösung war die Negativkontrolle.

**Tab. 1:** Verdünnungsreihe für die Standardkurve des C2C-ELISA aus [38].

| **C2C-Verdünnungsreihe** | | | |
|---|---|---|---|
| Standard Nr. | Konzentration | Mischverhältnis | Puffer III |
| 1. | 1 µg/ml | 50 µl vom 10 µg/ml Standard | 450 µl |
| 2. | 500 ng/ml | 25 µl vom 10 µg/ml Standard | 475 µl |
| 3. | 200 ng/ml | 100 µl vom 1 µg/ml Standard | 400 µl |
| 4. | 100 ng/ml | 50 µl vom 1 µg/ml Standard | 450 µl |
| 5. | 50 ng/ml | 50 µl vom 500 ng/ml Standard | 450 µl |
| 6. | 10 ng/ml | 50 µl vom 100 ng/ml Standard | 450 µl |
| 7. | 0 ng/ml | - | 0,5 ml |

Es wurden 50 µl einer mit Puffer III im Verhältnis 1:2 verdünnten Probe gemeinsam mit 50 µl des C2C-Standards (kompetitives Antigen) in jedes Well der unbeschichteten Mikrotitermischplatte pipettiert. 50 µl C2C-Antikörper wurden hinzugefügt und für 30 Minuten bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 600 rpm inkubiert. Dabei konkurrierten das Antigen in der Probe und das kompetitive Antigen des Standards um die Bindung an den Antikörper. Danach wurden 80 µl dieser Lösung in das entsprechende Well der ELISA-Mikrotiterplatte übertragen und für 1,5 Stunden bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 bei 600 rpm inkubiert. Dabei banden die noch freien Antikörper an das aufgebrachte C2C-Epitop der Mikrotiterplatte. Die überschüssigen Reaktionspartner wurden mittels eines Waschpuffers entfernt. Nun wurden 100 µl Peroxidase jedem Well zugefügt und erneut für 30 Minuten bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 bei 600 rpm inkubiert. Die überschüssige Peroxidase wurde im nachfolgenden Waschschritt entfernt und 100 µl des chromogenen Substrats (Tetramethylbenzidine/TMB) hinzugefügt. Die Inkubation erfolgte erneut für 30 Minuten bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 bei 600 rpm. Dabei zeigte sich ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Reaktion wurde mit 100 µl Stopp-Reagenz beendet und die Extinktion mit dem Seac Sirio S bei 450 nm gemessen. Mit Hilfe der konstruierten Standardkurve bekannter Konzentrationen wurde die Konzentration der Probe bestimmt. Dabei war die optische Dichte umgekehrt proportional zur Menge des in der Probe enthaltenen C2C.

**ELISA von CPII aus Serum und Synovia**

Die Reagenzien wurden laut Herstellerangaben vorbereitet. Entsprechend des Protokolls wurde eine Verdünnungsreihe bekannter Konzentration des CPII-Standards (2000 ng/ml) mit Puffer III, wie in Tabelle 2 gelistet, hergestellt. Diese dient bei der Extinktionsmessung als Vergleichsreihe, die höchste Konzentration betrug 2000 ng/ml CPII, Puffer III diente als Negativkontrolle.

**Tab. 2:** Verdünnungsreihe für die Standardkurve des CPII-ELISA aus [39].

| CP II Verdünnungsreihe | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Standard | Konzentration | Menge aus Stock/ Standard | Menge Buffer III | Verdünnung |
| 1. | 2000 ng/ml | 100 µL vom 10 µg/mL Stock | 400 µL | 1:5 |
| 2. | 1000 ng/ml | 50 µL vom 10 µg/mL Stock | 450 µL | 1:10 |
| 3. | 500 ng/ml | 25 µL vom 10 µg/mL Stock | 475 µL | 1:20 |
| 4. | 250 ng/ml | 60 µL vom 1. Standard | 420 µL | 1:8 |
| 5. | 100 ng/ml | 50 µL vom 2. Standard | 450 µL | 1:10 |
| 6. | 50 ng/ml | 50 µL vom 3. Standard | 450 µL | 1:10 |
| 7. | 0 ng/ml | ------- | 500 µL | |

Es wurden 50 µl einer mit Puffer III im Verhältnis 1:2 verdünnten Probe gemeinsam mit 50 µl des CPII-Standards (kompetitives Antigen) in jedes Well der unbeschichteten Mikrotitermischplatte pipettiert. 50 µl CPII-Antikörper wurden hinzugefügt und für 60 Minuten bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 Mischgerät (Heidolph Instruments, Schwabach, Deutschland) bei 600 rpm inkubiert. Dabei konkurrierten das Antigen in der Probe und das kompetitive Antigen des Standards um die Bindung mit den Antikörpern. Danach wurden 80 µl dieser Lösung in das entsprechende Well der ELISA-Mikrotiterplatte übertragen und für zwei Stunden bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 bei 600 rpm inkubiert. Dabei banden die noch freien Antikörper an das aufgebrachte CPII-Epitop der Mikrotiterplatte. Die überschüssigen Reaktionspartner wurden mittels eines Waschpuffers durch sechsmaliges Waschen entfernt. Nun wurden 100 µl Peroxidase jedem Well zugefügt und erneut für 30 Minuten bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 bei 600 rpm inkubiert. Die überschüssige Peroxidase wurde im nachfolgenden Waschschritt entfernt und 100 µl des chromogenen Substrats (Tetramethylbenzidine/TMB) hinzugefügt. Die Inkubation erfolgte erneut für 30 Minuten bei Zimmertemperatur auf einem Heidolph Titramax 1000 bei 600 rpm. Dabei zeigte sich ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Reaktion wurde mit 100 µl Stopp-Reagenz beendet und die Extinktion mit dem Seac Sirio S bei

450 nm gemessen. Mit Hilfe der konstruierten Standardkurve bekannter Konzentrationen wurde die Konzentration der Probe bestimmt. Dabei war die optische Dichte umgekehrt proportional zur Menge des in der Probe enthaltenen CPII.

## 2.7 Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)

Der KOOS stellt einen selbstanleitenden, krankheitsspezifischen Fragebogen dar, der für Patienten mit Verletzungen des vorderen Kreuzbandes sowie für Meniskus-, Knorpelschäden und Osteoarthrose entwickelt wurde [104]. Evaluiert wird die subjektive Beurteilung des Patienten zu Einschränkungen im Alltag und bei Freizeitaktivitäten [104]. Ein hoher KOOS-Wert deutet auf geringe Einschränkungen hin. Die Erhebung des KOOS-Wertes fand einen Tag vor der Operation statt.
Der KOOS-Fragebogen besteht aus fünf Subskalen (S1-7, P1-9, A1-17, SP1-5, Q1-4), wobei folgende Bereiche abgefragt werden:

- S1-7: Symptome (7 Items)
- P1-9: Schmerzen (9 Items)
- A1-17: Aktivitäten des täglichen Lebens (ADL) (17 Items)
- SP1-5: Sport und Freizeit (5 Items)
- Q1-4: Beeinflussung der Lebensqualität (engl. Quality of Life; Qol) durch das betroffene Knie (4 Items)

Die Subskalen beinhalten insgesamt 42 Items. Zu jeder Frage existieren fünf Antwortmöglichkeiten. Jede Antwortmöglichkeit wird mit Punkten von 0 bis 4 bewertet (von 0 = keine Beschwerden bis hin zu 4 = stärkste Beschwerden). Die Punktzahl ist die Summe der korrespondierenden Zahlenwerte der jeweiligen Items nach Umrechnung in eine Skala von 0–100.

Die Umrechnung wird anhand folgender Formeln durchgeführt.

$$Schmerz = 100 - \frac{SummeP1 - P9x100}{36} \qquad ADL = 100 - \frac{SummeA1 - A17x100}{68}$$

$$Symptome = 100 - \frac{SummeS1 - S7x100}{28} \qquad Sport = 100 - \frac{SummeSP1 - SP5x100}{20}$$

$$QoL = 100 - \frac{SummeQ1 - Q4x100}{16}$$

Der Gesamtpunktwert wird aus dem arithmetischen Mittel der Subskalen berechnet.

$$GesamtKOOS = \frac{SummeSubskalen}{5}$$

Niedrige KOOS-Werte bilden Kniegelenksbeschwerden und hohe Werte Beschwerdefreiheit ab.

## 2.8 Klassifikation nach Kellgren & Lawrence

1957 klassifizierten Kellgren & Lawrence die Arthrose radiologisch in fünf verschiedene Stadien (siehe Tab. 3). Die Einteilungskriterien sind ´´Osteophyten, Gelenkspaltverschmälerung, subchondrale Sklerose und Geröllzysten [105]. Die Klassifizierung wurde 1961 von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als Goldstandard anerkannt.

**Tab. 3:** Klassifikation der Arthrose nach Kellgren & Lawrence aus [105].

| Grad | Ausprägung | Radiologische Kriterien |
|---|---|---|
| 0 | Keine | keine Merkmale einer Arthrose |
| 1 | Zweifelhaft | minimale Osteophyten mit zweifelhafter klinischer Signifikanz |
| 2 | Minimal | deutliche Osteophyten ohne Beeinträchtigung des Gelenkspalts |
| 3 | Mäßig | mäßige Verminderung des Gelenkspalts |
| 4 | Stark | ausgeprägte Beeinträchtigung des Gelenkspalts mit subchondraler Sklerose |

## 2.9 Statistische Methoden

Die Untersuchungsparameter der einzelnen Gruppen wurden mittels des nicht-parametrischen, zweiseitigen, Mann-Whitney-U-Tests (MWU-Test) für zwei unabhängige Stichproben untersucht. Dieser Rangsummentest basiert auf dem Wilcoxon-Test und ist ein Homogenitätstest, zur Überprüfung der Signifikanz, der Übereinstimmung zweier Verteilungen.

Parametrische Tests wurden jeweils zweiseitig mit dem Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho durchgeführt. Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman-Rho misst den Zusammenhang zwischen zwei Variablen, ohne Annahmen über die Wahrscheinlichkeitsverteilung zu machen. Hierbei wurde von einer Äquidistanz der Werte ausgegangen.

Das Signifikanzniveau wurde mit $p < 0,05$ definiert.

# 3 Ergebnisse

## 3.1 Patientenkollektiv

Insgesamt konnten 130 Patienten, die zwischen 2005 und 2006 in der Klinik für Muskuloskeletale Chirurgie der Universitätsmedizin Charité Berlin, Campus Mitte operiert wurden, in die Studie eingeschlossen werden. 69 Patienten bildeten die OA-Gruppe und 61 Patienten die Trauma-Gruppe. Die OA-Gruppe wurde nach dem Patientenalter (siehe Kap. 2.1) zusätzlich in FOA- (n = 18), MOA- (n = 26) und SOA-Gruppen (n = 25) unterteilt.

Zur Altersbestimmung wurden die zum Zeitpunkt der Operation vollendeten Lebensjahre herangezogen. In der OA-Gruppe (n = 69) lag das Alter im Median bei 67 Jahren. In den Subgruppen der OA-Gruppe betrug das Alter im Median in der FOA-Gruppe 55 Jahre, in der MOA-Gruppe 65 Jahre, in der SOA-Gruppe 76 Jahre. In der Trauma-Gruppe lag das Alter im Median bei 34 Jahren.

Die Ratio von Männern zu Frauen war in der OA-Gruppe 31:38, in den Subgruppen, FOA-Gruppe 9:9, in der MOA-Gruppe 13:13 und in der SOA-Gruppe 9:16. In der Trauma-Gruppe lag das Verhältnis Männer zu Frauen bei 41:20.

Die Patienten der OA-Gruppe hatten nach Kellgren & Lawrence eine starke Ausprägung der Arthrose (entsprechend Grad 4). Dieses Ergebnis spiegelte sich in allen Subgruppen wider. Bei den Patienten der Trauma-Gruppe war dagegen die Arthrose (Kellgren & Lawrence Grad 1) nur gering ausgeprägt.

Die OA-Gruppe unterschieden sich in diesem Parameter signifikant von der Trauma-Gruppe ($p < 0,01$).

## 3.2 CRP und Leukozyten

Die Serum CRP-Werte und Leukozyten waren im Median in allen Gruppen im Normbereich.

Um Unterschiede in der CRP- oder Leukozyten-Serumkonzentration zwischen der OA- und Trauma-Gruppe aufzudecken, wurde der MWU-Test verwendet.

Die CRP-Werte waren in der OA-Gruppe (0,33 mg/dl) signifikant höher als in der Trauma-Gruppe (0,13 mg/dl) ($p < 0,01$), bei den Leukozyten unterschieden sich die Gruppen dagegen nicht ($p = 0,448$).

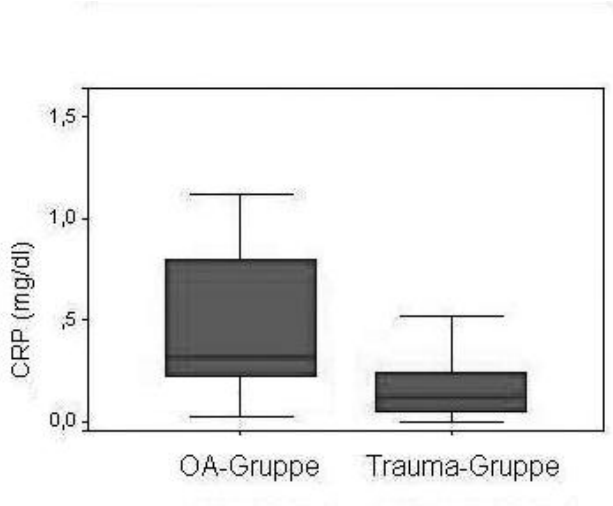


**Abb. 10: CRP-Konzentration (mg/dl) in der OA- und Trauma-Gruppe**
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### Korrelation des CRP zu Biomarkern der Synovia

Zur Analyse einer potenziellen Korrelation zwischen den untersuchten Markern pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII und dem Serum-CRP wurde der Spearman Rangkorrelationskoeffizient verwendet. Der CRP-Wert korrelierte in der OA-Gruppe signifikant mit der pro-MMP-1-Konzentration in der Synovia ($p = 0,047$; $r = 0,289$) und in der Trauma-Gruppe signifikant mit der pro-MMP-3-Konzentration in der Synovia ($p = 0,047$; $r = -0,325$; siehe Tab. 4).

**Tab. 4: Korrelation der Biomarker in der Synovia mit dem CRP im Serum mittels Spearman-Rangkorrelationskoeffizient in der OA- und Trauma-Gruppe**

| | **CRP der OA-Gruppe** | | **CRP der Trauma-Gruppe** | |
|---|---|---|---|---|
| | Korrelationskoeffizient r (zweiseitig) | Signifikanz p | Korrelationskoeffizient r (zweiseitig) | Signifikanz p |
| Pro-MMP-1 (Synovia) | 0,289 | 0,047* | 0,016 | 0,920 |
| MMP-3 (Synovia) | 0,197 | 0,161 | 0,166 | 0,318 |
| pro-MMP-13 (Synovia) | -0,014 | 0,934 | -0,325 | 0,047* |
| TIMP-1 (Synovia) | 0,188 | 0,186 | 0,234 | 0,544 |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,271 | 0,110 | -0,631 | 0,129 |
| C2C (Synovia) | 0,024 | 0,890 | -0,096 | 0,597 |
| CPII (Synovia) | 0,038 | 0,829 | 0,317 | 0,406 |

* auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant

### 3.2.2 CRP-Serumspiegel der OA-Subgruppen

**Tab. 5: CRP-Serumspiegel der OA-Gruppe unterteilt nach frühe mittlere und späte Erkrankung**
Angegeben sind Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | FOA | MOA | SOA |
|---|---|---|---|
| CRP (mg/dl) | 0,29 (0,15/1,25) | 0,19 (0,14/0,76) | 0,38 (0,16/0,53) |

| | FOA-/ MOA | FOA-/ SOA | MOA-/ SOA |
|---|---|---|---|
| p | 0,759 | 0,746 | 0,474 |

Zur Analyse potenzieller Unterschiede zwischen den CRP-Serumspiegeln in den OA-Subgruppen wurde der MWU-Test eingesetzt. Die Subgruppen der OA-Gruppe unterschieden sich nicht hinsichtlich ihrer CRP-Serumspiegel (siehe Tab. 5).

## 3.3 Body-Mass-Index

**Tab. 6: BMI in der OA- und Trauma-Gruppe**
Angegeben sind Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | OA-Gruppe | Trauma-Gruppe |
|---|---|---|
| BMI | 28,50 (25,95/34,95) | 24,20 (22,20/26,80) |

Potenzielle Unterschiede zwischen den BMI der Patienten der OA- und Trauma-Gruppe wurden mittels MWU-Tests untersucht. Die OA-Gruppe hatte gegenüber der Trauma-Gruppe einen signifikant höheren BMI ($p < 0,01$; siehe Tab. 6, Abb. 11).

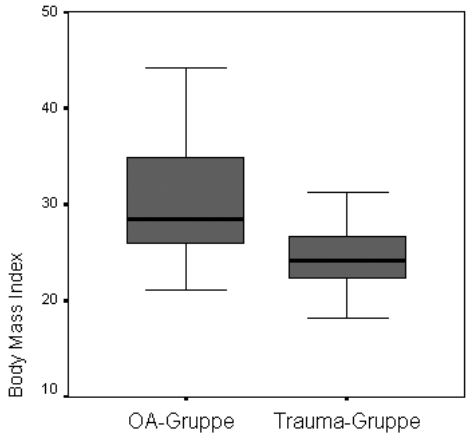


**Abb.11: BMI der OA- und Trauma-Gruppe.**
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.3.1 Korrelation des BMI zu Biomarkern der Synovia

Zur Analyse einer potenziellen Korrelation zwischen den untersuchten Markern pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII und dem BMI wurde der Spearman Rangkorrelationskoeffizient verwendet. In der OA-Gruppe konnte eine signifikante Korrelation zwischen dem BMI und der CPII-Konzentration in der Synovia festgestellt werden (p = 0,022; r = 0,404). In der Trauma-Gruppe verhielten sich die beiden Werte umgekehrt proportional, auch diese Beziehung war signifikant (p = 0,032; r = -0,645; siehe Tab. 7).

**Tab. 7: Korrelation der Biomarker in der Synovia mit dem BMI mittels Spearman-Rangkorrelationskoeffizient in der OA- und Trauma-Gruppe**

| | **BMI der OA-Gruppe** | | **BMI der Trauma-Gruppe** | |
|---|---|---|---|---|
| | Korrelations-koeffizient r (zweiseitig) | Signifikanz p | Korrelations-koeffizient r (zweiseitig) | Signifikanz p |
| pro-MMP-1 (Synovia) | 0,122 | 0,420 | -0,217 | 0,163 |
| MMP-3 (Synovia) | -0,001 | 0,996 | -0,202 | 0,204 |
| pro-MMP-13 (Synovia) | -0,199 | 0,252 | -0,235 | 0,144 |
| TIMP-1 (Synovia) | -0,284 | 0,050 | -0,209 | 0,537 |
| TIMP-2 (Synovia) | -0,214 | 0,239 | -0,068 | 0,681 |
| C2C (Synovia) | 0,165 | 0,352 | 0,248 | 0,151 |
| CPII (Synovia) | 0,404 | 0,022* | -0,645 | 0,032* |

* Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant

### 3.3.2 BMI in OA-Subgruppen

Zur Analyse potenzieller Unterschiede zwischen den BMI in den OA-Subgruppen wurde der MWU-Test eingesetzt. Der BMI war mit 29,4 in der Frühen-OA-Gruppe am höchsten (siehe Tab. 8). Die jeweiligen Subgruppen unterschieden sich jedoch nicht signifikant voneinander (siehe Tab. 8).

**Tab. 8: BMI in den OA-Subgruppen**
Angegeben sind Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | **Frühe-OA** | **Mittlere-OA** | **Späte-OA** |
|---|---|---|---|
| BMI | 29,40(25,70;37,10) | 28,9(27,10;36,08) | 27,00(24,15;30,46) |

| | **FOA-/ MOA** | **FOA-/ SOA** | **MOA-/ SOA** |
|---|---|---|---|
| p | 0,662 | 0,199 | 0,054 |

## 3.4 Prävalenz der Biomarker der Synovia

Tabelle 9 gibt eine Übersicht der Prävalenz der untersuchten Marker für die OA- und Trauma-Gruppe.

**Tab. 9: Prävalenz der untersuchten Marker in der Synovia der OA- und Trauma-Gruppe**
Angegeben sind Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | OA-Gruppe | Trauma-Gruppe |
|---|---|---|
| pro-MMP-1 (ng/ml) | 23,80(7,49;61,10) | 76,62(31,04;255,12) |
| MMP-3 (ng/ml) | 1007,00(391,50;2203,50) | 2946,00(886,00;7829,50) |
| pro-MMP-13 (pg/ml) | 305,31(86,22;872,55) | 108,00(0,00;230,25) |
| TIMP-1 (ng/ml) | 794,13(525,55;986,61) | 718,66(438,30;911,60) |
| TIMP-2 (ng/ml) | 174,21(27,00;232,40) | 287,40(213,70;412,10) |
| C2C (ng/ml) | 52,40(31,90;72,70) | 103,10(77,50;149,80) |
| CPII (ng/ml) | 311,61(178,85;485,50) | 722,72(247,88;902,12) |

Im Folgenden wurde mittels MWU-Test untersucht, ob es Unterschiede in der Prävalenz der untersuchten Marker bei chronischen und traumatischen Kniegelenksschädigung gab.

### 3.4.1 Pro-MMP-1

Patienten mit einer endgradigen Kniegelenksarthrose zeigten im Median mit 23,80 ng/ml eine signifikant niedrigere pro-MMP-1-Konzentration in der Synovia des betroffenen Gelenks als Patienten mit einer akuten Kniegelenksschädigung (76,62 ng/ml; $p < 0,01$; siehe Abb. 12). Dabei war die Streuung in der Trauma-Gruppe deutlich größer. Die 25% Perzentile lage bei 31,04 ng/ml, die 75%-Perzentile bei 255,12 ng/ml)

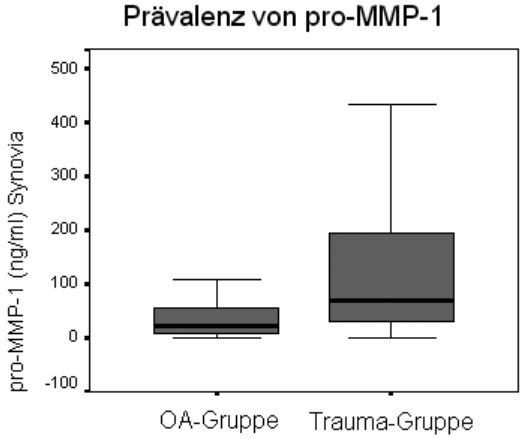


**Abb. 12: Pro-MMP-1 in der OA- und Trauma-Gruppe.**
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.4.2 MMP-3

Die OA-Gruppe wies im Median mit 1007,00 ng/ml eine signifikant niedrigere MMP-3-Konzentration in der Synovia des betroffenen Gelenks auf als die Trauma-Gruppe mit 2946,00 ng/ml auf ($p < 0,01$; siehe Abb. 13).

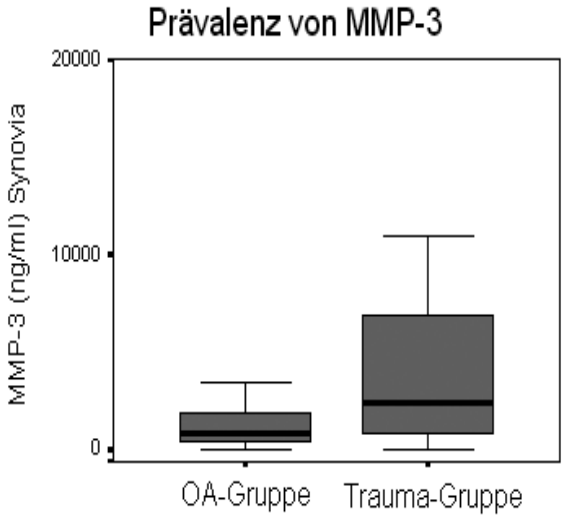


**Abb. 13:** MMP-3 der OA- und Trauma-Gruppe.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.4.3 Pro-MMP-13

In der OA-Gruppe lag die pro-MMP-13-Konzentration in der Synovia des betroffenen Kniegelenks mit 305,00 pg/ml signifikant höher als in der Trauma-Gruppe mit 108,00 pg/ml ($p < 0,01$; siehe Abb. 14).

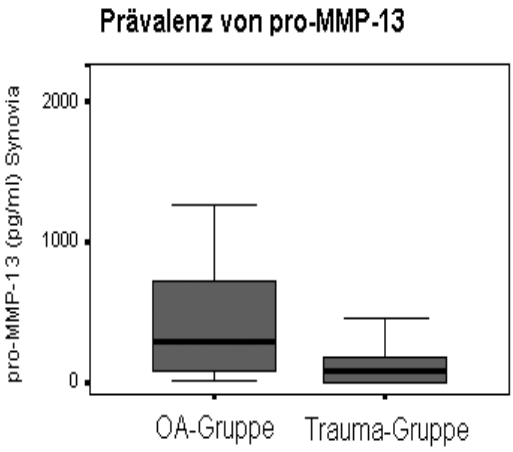


**Abb. 14:** Pro-MMP-13 der OA- und Trauma-Gruppe.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.4.4 TIMP-1

Die TIMP-1-Konzentrationen in der Synovia der betroffenen Kniegelenke unterschied sich nicht signifikant zwischen der OA- und Trauma-Gruppe. In der OA-Gruppe lag der Wert bei 794,00 ng/ml und in der Trauma-Gruppe bei 718,00 ng/ml (p = 0,722; siehe Abb. 15).

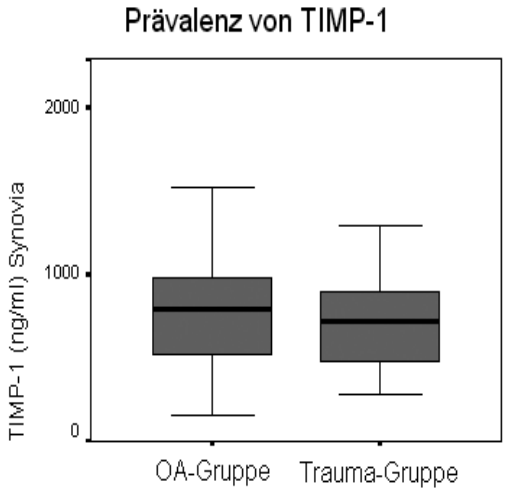


**Abb. 15:** TIMP-1 der OA- und Trauma-Gruppe.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.4.5 TIMP-2

Patienten der OA-Gruppe zeigten im Median mit 174,00 ng/ml eine signifikant TIMP-2-Konzentration in der Synovia des betroffenen Kniegelenks als Patienten der Trauma-Gruppe mit 287,00 ng/ml ($p < 0,01$; siehe Abb. 16).

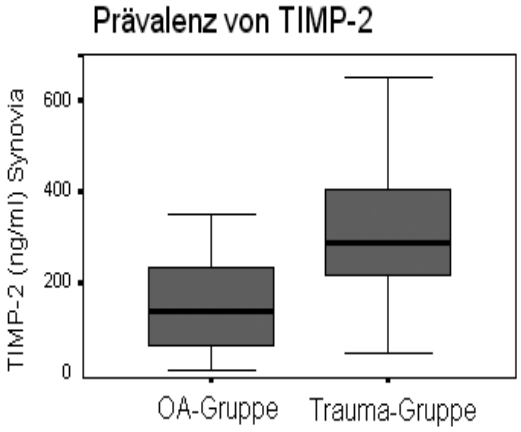


**Abb. 16:** TIMP-2 der OA- und Trauma-Gruppe.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.4.6 CPII

Patienten der OA-Gruppe zeigten mit 311,00 ng/ml im Median eine signifikant niedrigere Konzentration an CPII in der Synovia des betroffenen Kniegelenks als Patienten der Trauma-Gruppe mit 722,00 ng/ml ($p = 0,036$; siehe Abb. 17).

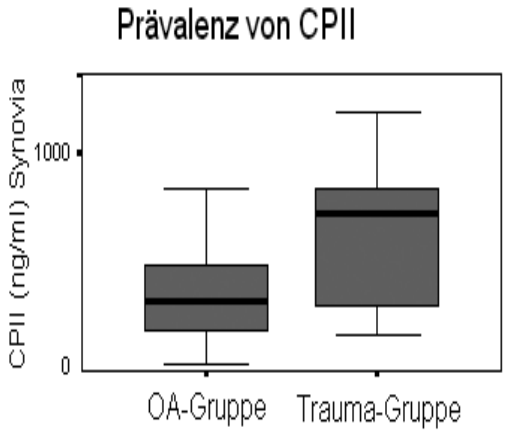


**Abb. 17:** CPII der OA- und Trauma-Gruppe.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

### 3.4.7 C2C

Patienten der OA-Gruppe zeigten im Median mit 52,00 ng/ml eine signifikannt niedrigere C2C-Konzentration in der Synovia des betroffenen Kniegelenks als Patienten Trauma-Gruppe mit 103,00 ng/ml ($p < 0,01$; s. Abb. 18).

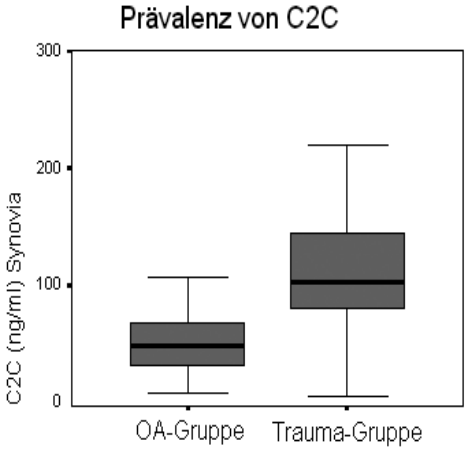


**Abb. 18:** C2C der OA- und Trauma-Gruppe.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

## 3.5 Korrelationen der untersuchten Biomarker

Zur Analyse einer potenziellen Korrelation zwischen den untersuchten Biomarkern pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII in der Synovia wurde der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient berechnet. Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse für die OA-Gruppe und Tabelle 11 für die Trauma-Gruppe.

**Tab. 10: Korrelationen zwischen den untersuchten Markern in der Synovia der OA-Gruppe mittels Spearman- Rangkorrelationskoeffizient**

| | Korrelationskoeffizient r | Signifikanz p |
|---|---|---|
| **pro-MMP-1 (Synovia) -** | | |
| MMP-3 (Synovia) | 0,824 | 0,001** |
| pro-MMP-13 (Synovia) | -0,034 | 0,836 |
| TIMP-1 (Synovia) | 0,026 | 0,857 |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,151 | 0,364 |
| C2C (Synovia) | -0,134 | 0,411 |
| CPII (Synovia) | -0,061 | 0,713 |
| | | |
| **MMP-3 (Synovia) -** | | |
| pro-MMP-13 (Synovia) | 0,029 | 0,857 |
| TIMP-1 (Synovia) | 0,268 | 0,048* |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,187 | 0,255 |
| C2C (Synovia) | -0,186 | 0,245 |
| CPII (Synovia) | 0,004 | 0,979 |
| | | |
| **pro-MMP-13 (Synovia) -** | | |
| TIMP-1 (Synovia) | 0,282 | 0,078 |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,218 | 0,189 |
| C2C (Synovia) | -0,072 | 0,682 |
| CPII (Synovia) | 0,030 | 0,865 |
| | | |
| **TIMP-1 (Synovia) -** | | |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,169 | 0,310 |
| C2C (Synovia) | -0,116 | 0,478 |
| CPII (Synovia) | 0,068 | 0,687 |
| | | |
| **TIMP-2 (Synovia) -** | | |
| C2C (Synovia) | -0,046 | 0,798 |
| CPII (Synovia) | 0,072 | 0,690 |
| | | |
| **C2C (Synovia) -** | | |
| CPII (Synovia) | 0,256 | 0,116 |

* Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant

** Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant

Es besteht eine signifikante Korrelation zwischen den Konzentrationen von MMP-3 und pro-MMP-1 ($r = 0,824$, $p = 0,001$) sowie zwischen den Konzentrationen von TIMP-1 und MMP-3 in der Synovia ($r = 0,268$; $p = 0,048$).

**Tab. 11: Korrelationen zwischen den untersuchten Markern in der Synovia der Trauma-Gruppe mittels Spearman- Rangkorrelationskoeffizient**

| | Korrelationskoeffizient r | Signifikanz p |
|---|---|---|
| **pro-MMP-1 (Synovia) -** | | |
| MMP-3 (Synovia) | 0,783 | 0,001** |
| pro-MMP-13 (Synovia) | 0,389 | 0,016* |
| TIMP-1 (Synovia) | 0,555 | 0,077 |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,103 | 0,544 |
| C2C (Synovia) | 0,133 | 0,453 |
| CPII (Synovia) | 0,309 | 0,355 |
| | | |
| **MMP-3 (Synovia) -** | | |
| pro-MMP-13 (Synovia) | 0,459 | 0,004** |
| TIMP-1 (Synovia) | 0,564 | 0,090 |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,047 | 0,783 |
| C2C (Synovia) | 0,174 | 0,334 |
| CPII (Synovia) | 0,336 | 0,312 |
| | | |
| **pro-MMP-13 (Synovia) -** | | |
| TIMP-1 (Synovia) | -0,214 | 0,645 |
| TIMP-2 (Synovia) | 0,073 | 0,658 |
| C2C (Synovia) | 0,182 | 0,310 |
| CPII (Synovia) | -0,300 | 0,433 |
| | | |
| **TIMP-1 (Synovia) -** | | |
| TIMP-2 (Synovia) | -0,393 | 0,383 |
| C2C (Synovia) | -0,857 | 0,014* |
| CPII (Synovia) | 0,250 | 0,589 |
| | | |
| **TIMP-2 (Synovia) -** | | |
| C2C (Synovia) | 0,023 | 0,903 |
| CPII (Synovia) | 0,571 | 0,139 |
| | | |
| **C2C (Synovia) -** | | |
| CPII (Synovia) | 0,227 | 0,502 |

* Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant
** Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant

In der Trauma-Gruppe wurde eine signifikante Korrelation zwischen pro-MMP-1 und MMP-3 (r = 0,783; p = 0,001), zwischen pro-MMP-1 und pro-MMP-13 (r = 0,389; p = 0,016) sowie zwischen MMP-3 und pro-MMP-13 nachgewiesen (r = 0,459; p = 0,004). Bei traumatischer Kniegelenksschädigung zeigte sich darüber hinaus eine signifikante umgekehrte Korrelation zwischen TIMP-1 und C2C (r = -0,857; p = 0,014; s. Tab. 11).

## 3.6 Unterschiede der Biomarker in Synovia und OA-Subgruppen

Zur Analyse, ob es eine Korrelation zwischen dem Erkrankungsalter und den untersuchten Biomarkern pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII gibt, wurden die Daten für die OA-Subgruppen getrennt ausgewertet und eine mögliche Korrelation mittels MWU-Test untersucht (siehe Tab 12 und 13).

**Tab. 12: Prävalenz der untersuchten Marker in der Synovia bei einer frühen, mittleren und späten Erkrankung (OA-Subgruppen)**
Angegeben sind Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | FOA-Gruppe | MOA-Gruppe | SOA-Gruppe |
|---|---|---|---|
| pro-MMP-1 (ng/ml) in Synovia | 53,20 (21,84;74,94) | 23,34 (9,00;43,41) | 23,08 (4,13;54,47) |
| MMP-3 (ng/ml) in Synovia | 1835,00 (742,75;4006,50) | 863,65 (341,25;1941,25) | 825,00 (367,50;1766,50) |
| pro-MMP-13 (pg/ml) in Synovia | 131,04 (14,13;776,20) | 305,31 (117,24;589.09) | 524,21 (108,16;1353,59) |
| TIMP-1 (ng/ml) in Synovia | 880,50 (646,10;1085,90) | 764,1 (359,30;906,14) | 826,60 (597,57;1040,01) |
| TIMP-2 (ng/ml) in Synovia | 117,55 (91,30;146,63) | 180,30 (148,45;257,03) | 179,45 (144,25;260,93) |
| C2C (ng/ml) in Synovia | 52,40 (26,50;130,80) | 67,1 (38,45;135,15) | 43,00 (28,10;62,50) |
| CPII (ng/ml) in Synovia | 302,32 (188,95;371,14) | 333,94 (228,60;476,87) | 256,67 (129,77;679,17) |

**Tab. 13: Signifikanzüberprüfung der Unterschiede in den Konzentrationen der untersuchten Biomarker in den OA-Subgruppen (MWU-Test)**

| | FOA- vs. MOA-Gruppe | FOA- vs. SOA-Gruppe | MOA- vs. SOA-Gruppe |
|---|---|---|---|
| pro-MMP-1 (ng/ml) in Synovia | 0,389 | 0,347 | 0,772 |
| MMP-3 (ng/ml) in Synovia | 0,133 | 0,096 | 0,981 |
| pro-MMP-13 (pg/ml) in Synovia | 0,284 | 0,175 | 0,489 |
| TIMP-1 (ng/ml) in Synovia | 0,160 | 0,545 | 0,217 |
| TIMP-2 (ng/ml) in Synovia | 0,010* | 0,005* | 0,890 |
| C2C (ng/ml) in Synovia | 0,393 | 0,664 | 0,045* |
| CPII (ng/ml) in Synovia | 0,414 | 0,935 | 0,441 |

* auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant

In der FOA-Gruppe war die pro-MMP-1- und MMP-3- Konzentration in der Synovia am höchsten und sinkt mit zunehmenden Erkrankungsalter. Bei pro-MMP-13 verhielt es sich umgekehrt, die Prävalenz stieg mit zunehmendem Erkrankungsalter (siehe Tab. 12). Im MWU-Test konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen

OA-Subgruppen hinsichtlich der pro-MMP-1-, MMP-3- und pro-MMP-13-Konzentration festgestellt werden (siehe Tab. 13).

Die Konzentration von TIMP-1 in der Synovia war in allen OA-Gruppen vergleichbar und unterschied sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Subgruppen (siehe Tab. 12 und 13).

Die Konzentration von TIMP-2 in der Synovia lag in der FOA-Gruppe um ca. 30 % niedriger als in der MOA-Gruppe, die beiden Werte waren zweiseitig signifikant verschieden (p = 0,05; Tab. 12, 13 und Abb. 19). Gleichzeitig korrelierte eine niedrige Prävalenz von TIMP-2 zweiseitig signifikant mit einem frühen Erkrankungsalter (p = 0,047, r = 0,305; siehe Abb. 19). Die Konzentration von TIMP-2 unterschied sich signifikant zwischen der FOA- und der MOA- sowie der SOA-Gruppe (siehe Tab. 12 und 13).

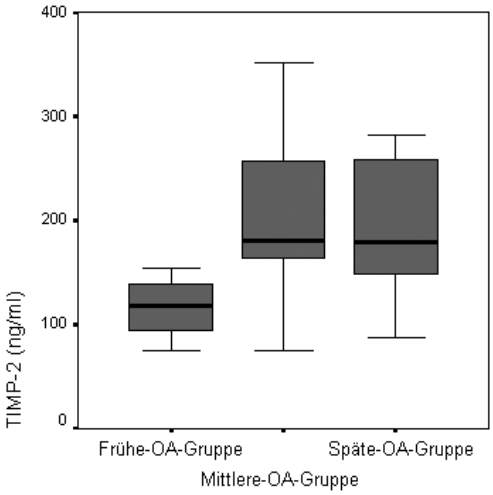


**Abb. 19:** TIMP-2 der untersuchten Gruppen.
Abgebildet sind der Median (schwarze Linie in der Box), das 25- bzw. 75 Quartil (Box) und die Extremwerte (Whisker).

Die höchste Konzentration von C2C konnte in der MOA-Gruppe detektiert werden, die niedrigste wurde in der SOA-Gruppe gemessen. Zwischen den beiden Altersklassen bestand ein zweiseitig signifikanter Unterschied (MWU-Test; p = 0,045; siehe Tab. 12 und 13).

Auch für CPII war die Konzentration in der MOA-Gruppe am höchsten. Die einzelnen Altersgruppen unterschieden sich hinsichtlich dieses Parameters im MWU-Test jedoch nicht signifikant voneinander (siehe Tab. 12 und 13).

## 3.7 Korrelation der Biomarker in Synovia und Serum (OA-Gruppe)

Zur Analyse einer potenziellen Korrelation der untersuchten Biomarker pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII in Synovia und Serum, wurde der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient ermittelt Dabei konnte kein Zusammenhang festgestellt werden (siehe Tab. 14).

**Tabelle 14: Konzentrationen der Biomarker im Serum und in der Synovia von OA-Patienten**

Konzentrationen als Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile
r = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman; p = Signifikanzniveau

| | **Synovia** | **Serum** | **Synovia vs. Serum** | |
|---|---|---|---|---|
| | | | **r** | **p** |
| pro-MMP-1 (ng/ml) | 23,80(7,49;61,10) | 5,98(4,38;9,80) | 0,117 | 0,530 |
| MMP-3 (ng/ml) | 1007(391,50;2203,50) | 11,80(5,53;27,95) | 0,278 | 0,117 |
| pro-MMP-13 (pg/ml) | 305,31(86,22;872,55) | * | -0,319 | 0,080 |
| TIMP-1 (ng/ml) | 794,13(525,55;986,61) | 220,00(190,40;262,50) | 0,134 | 0,473 |
| TIMP-2 (ng/ml) | 174,21(27,00;232,40) | 97,33(67,26;125,05) | -0,302 | 0,098 |
| C2C (ng/ml) | 52,4(31,90;72,70) | 35,10(28,15;55,73) | 0,279 | 0,176 |
| CPII (ng/ml) | 311,611(178,85;485,50) | 206,87(145,41;288,00) | 0,373 | 0,073 |

* unterhalb der Nachweisgrenze

## 3.8 Vergleich des KOOS in OA- und Trauma-Gruppe

Zur Klärung der Frage, ob OA- und Trauma-Patienten den Schweregrad ihrer Erkrankung unterschiedlich einschätzen, wurden die KOOS-Werte ermittelt und mittels MWU-Test verglichen. Niedrige KOOS-Werte bilden Kniegelenksbeschwerden und hohe Werte Beschwerdefreiheit ab.

Die OA-Gruppe unterschied sich signifikant von der Trauma-Gruppe in allen KOOS-Items sowie im Gesamt-Score. Einzige Ausnahme bildet das Item Sport. Hier unterschieden sich die Gruppen nicht (siehe Tab. 15).

**Tab. 15: Gesamt-KOOS und Subscores in der OA- und Trauma-Gruppe, sowie p-Werte des MWU-Tests zum Vergleich beider Gruppen**
KOOS-Werte als Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | OA-Gruppe | Trauma-Gruppe | OA- vs Trauma-Gruppe |
|---|---|---|---|
| Symptome | 39 (35;59) | 55 (37;79) | 0,035* |
| Schmerzen | 34 (19;44) | 61 (32;68) | 0,001** |
| ADL | 30 (21;49) | 71 (29;93) | 0,001** |
| Sport | 5 (0;15) | 15 (0;58) | 0,097 |
| QoL | 19 (6;25) | 25 (19;50) | 0,006** |
| Gesamt-KOOS | 31 (17;36) | 49 (27;71) | 0,001* |

* Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant
** Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant

### 3.8.1 Korrelation des KOOS mit untersuchten Biomarkern und CRP

Zur Analyse des potenziellen Zusammenhangs zwischen dem subjektiven Empfinden der Patienten und den untersuchten Biomarkern sowie dem CRP wurde der Spearman Rangkorrelationskoeffizient getrennt nach OA- und Trauma-Gruppe ermittelt (siehe Tab. 16 und 17).

**Tab. 16: Korrelation der KOOS-Subscores mit den untersuchten Biomarkern in der OA-Gruppe**

(angegeben sind die Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman)

| | Symptom | Pain | Activities | Sports | QoL | Gesamt-Score |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **pro-MMP-1** | -0,449** | -0,169 | 0,014 | -0,100 | 0,086 | -0,293 |
| **MMP-3** | -0,240 | 0,123 | 0,159 | 0,020 | 0,081 | -0,070 |
| **pro-MMP-13** | -0,114 | -0,167 | -0,158 | -0,391 | -0,452* | -0,217 |
| **TIMP-1** | 0,081 | 0,153 | -0,051 | 0,077 | -0,007 | -0,003 |
| **TIMP-2** | -0,062 | -0,096 | -0,253 | 0,173 | 0,039 | -0,201 |
| **C2C** | 0,065 | 0,160 | -0,038 | -0,112 | 0,064 | 0,092 |
| **CPII** | -0,327 | -0,258 | -0,118 | -0,180 | -0,007 | -0,205 |
| **CRP** | 0,027 | -0,153 | -0,020 | 0,101 | 0,233 | -0,037 |

* Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant
** Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant

Es korrelierten hohe pro-MMP-1 und pro-MMP-13 Konzentrationen mit starken Symptomen oder einer niedrigen Lebensqualität.

**Tab. 17: Korrelation der KOOS-Subscores mit den untersuchten Biomarkern in der Trauma-Gruppe**

(angegeben sind die Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman)

| | Symptom | Pain | Activities | Sports | QoL | Gesamt-Score |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **pro-MMP-1** | -0,041 | 0,007 | 0,136 | -0,019 | 0,222 | 0,113 |
| **MMP-3** | -0,170 | -0,113 | 0,077 | -0,111 | 0,185 | 0,022 |
| **pro-MMP-13** | 0,113 | 0,082 | 0,291 | 0,137 | 0,105 | 0,082 |
| **TIMP-1** | 0,257 | 0,429 | 0,086 | 0,377 | 0,435 | 0,429 |
| **TIMP-2** | 0,010 | -0,017 | 0,044 | 0,027 | 0,287 | -0,011 |
| **C2C** | -0,487* | -0,487* | -0,409 | -0,404 | -0,208 | -0,548* |
| **CPII** | -0,100 | 0,254 | 0,100 | 0,546 | 0,900* | 0,277- |
| **CRP** | 0,401* | 0,276 | 0,136 | 0,263 | 0,463** | 0,386** |

* Korrelation ist auf dem 0,05 Niveau zweiseitig signifikant
** Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant

Ein niedriges C2C korrelierte mit starken Symptomen, Schmerzen und einem schlechten Gesamt-Score. Ein hohes CPII korrelierte mit einer hohen Lebensqualität. Ein hohes CRP korrelierte mit starken Symptomen aber auch einer hohen Lebensqualität und Gesamt-Score.

### 3.8.2 Vergleich des KOOS bei unterschiedlichem Erkrankungsalter

Um herauszufinden, ob die OA-Subgruppen sich hinsichtlich der KOOS-Items unterscheiden, wurde der MWU-Test eingesetzt (siehe Tab. 18 und 19). Tendenziell haben jüngere Patienten im Median einen höheren KOOS-Wert als ältere, jedoch unterscheiden sich die Gruppen im Gesamt-KOOS und den jeweiligen Subscores nicht signifikant voneinander.

**Tab. 18: Gesamt-KOOS und Subscores in den OA-Subgruppen**
KOOS-Werte als Medianwerte und in Klammern die 25- und 75-%-Perzentile

| | FOA-Gruppe | MOA-Gruppe | SOA-Gruppe |
|---|---|---|---|
| Symptome | 39,30 (31,83;56,28) | 39,30 (30,35;51,80) | 50,00 (35,70;71,40) |
| Schmerzen | 43,05 (22,93;45,13) | 33,30 (23,60;44,40) | 33,30 (19,40;44,40) |
| ADL | 44,10 (25,33;52,98) | 32,35 (23,17;49,63) | 28,05 (15,80;38,60) |
| Sport | 10,00 (0,00;20,00) | 5,00 (0,00;15,00) | 5,00 (0,00;18,75) |
| QoL | 25,00 (4,69;26,55) | 18,75 (9,38;28,13) | 9,38 (0,00;23,45) |
| Gesamt-KOOS | 33,76 (16,04;38,07) | 31,79 (18,41;35,88) | 29,07 (17,50;31,46) |

**Tab. 19: Korrelation des Gesamt-KOOS und der Subscores in der OA-Subgruppen**
(p-Werte nach MWU-Test)

| | FOA- / MOA-Gruppe | FOA- / SOA-Gruppe | MOA- / SOA-Gruppe |
|---|---|---|---|
| Symptom | 0,902 | 0,349 | 0,378 |
| Schmerz | 0,639 | 0,426 | 0,677 |
| ADL | 0,586 | 0,107 | 0,324 |
| Sport | 1,000 | 0,974 | 0,983 |
| QoL | 0,786 | 0,346 | 0,166 |
| Gesamt | 0,856 | 0,314 | 0,451 |

# 4 Diskussion

Derzeit existiert in Klinik und Praxis keine differenzierte Betrachtung des Krankheitsbildes Arthrose, obwohl unterschiedliche Phenotypen zu beobachten sind [129]. Biochemische Marker stellen ein potenzielles diagnostisches und prognostisches Instrument dar, um Patienten mit einer frühen oder rasch progredienten Kniegelenksarthrose noch vor Eintritt der klinischen Beschwerden zu evaluieren. Weiterhin existiert derzeit keine Therapie mit strukturmodifizierender Wirkung (DMOAD) [129] [137] [134]. Es könnte möglich sein, über die Regulation dieser Marker den Krankheitsverlauf strukturell zu beeinflussen oder den Therapieerfolg zu überwachen [88]. Bereits heute sind pharmakologische Inhibitoren von MMP´s in Erprobung, scheitern jedoch an mangelnder Selektivität und daraus folgenden Nebenwirkungen wie der Arthrofibrose (MSS, musculoskeletal syndrom) [125] [127] [128]. Die Entwicklung selektiver Inhibitoren, insbesondere für MMP-13 ist Gegenstand aktueller Forschung [125] [127] [128]. Kritikwürdig dabei ist, die noch nicht vollständig verstandene Funktion von MMP-13 im Rahmen der Arthrosepathologie sowie die damit verbundenen Stoffwechselwege und deren Regulation. Auch in anderen Disziplinen, wie der Tumorgenese, ist die Rolle von MMP-13 Gegenstand aktueller Forschung. Systemische Wirkungen eines Inhibitors sind somit noch nicht abzuschätzen. Jedoch zeigte Schmidt-Rohlfing, dass sich MMP´s für die Verlaufsdiagnostik bei fortgeschrittener Kniegelenksarthrose eignen [109].

Dagegen ist die Datenlage zur Verlaufsbeurteilung der initialen Kniegelenksarthrose vor dem Eintreten konventionell radiologischer Kriterien noch unzureichend. Die Entwicklung wurde bisher weder auf molekularer Ebene noch durch andere gängige Diagnostikverfahren in vivo detailliert beobachtet und evaluiert. Aus diesen unzureichenden Kenntnissen über die Pathogenese der Kniegelenksarthrose resultieren Defizite in der Klassifikation, Diagnostik und Therapie.

Studien mit Patienten nach Kniegelenkstraumata könnten dieses Zeitfenster schließen, so Einblicke in die initiale Kniegelenksarthroseentwicklung gewähren und damit zum Verständnis der Pathogenese der Arthrose beitragen. Daher untersuchten wir die Pävalenz selektierter Matrix-modulierender Proteasen (pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13), deren Inhibitoren (TIMP-1, TIMP-2) sowie Kollagenstoffwechselprodukte (CPII, C2C) in der Synovia nach traumatischer (Trauma-Gruppe) und chronischer (OA-

Gruppe) Kniegelenksschädigung, um zu evaluieren, ob ein Markerprofil für dieses Kollektiv existiert.
Pro-MMP-13 war in der vorliegenden Studie in der OA-Gruppe signifikant gegenüber der Trauma-Gruppe erniedrigt, MMP-3 und pro-MMP-1 hingegen signifikant erhöht. Dabei korrelierten in der Trauma-Gruppe MMP-3 mit pro-MMP-1 und -13 sowie pro-MMP-1 mit pro-MMP-13. In der OA-Gruppe korrelierte MMP-3 mit pro-MMP-1 jeweils signifikant.
In der OA-Gruppe war das CRP im Serum signifikant höher als in der Trauma-Gruppe und das CRP korrelierte signifikant mit pro-MMP-1. In der Trauma-Gruppe korrelierte das CRP dagegen umgekehrt proportional mit pro-MMP-13.

Patienten, die bereits im jüngeren Alter das klinische und morphologische Endstadium der Kniegelenksarthrose erreichen, sind eher als Risikopatienten zu werten [54]. Aus diesem Grund untersuchten wir, ob sich für o.g. Marker ebenfalls ein Markerprofil in der OA-Gruppe feststellen läßt. Dabei wurden Subgruppen gebildet (FOA, Alter < 60 Jahre, MOA, Alter 60–69 Jahre und SOA, Alter 70–80 Jahre) und daraufhin überprüft, ob eine Korrelation dieser Marker mit dem Erkrankungsalter existiert.
In der FOA war TIMP-2 signifikant niedriger als in der MOA und SOA. Ebenfalls korrelierte TIMP-2 in der Synovia signifikant mit einem niedrigen Erkrankungsalter.
Bei der Analyse der Markerprofile in der Trauma- und OA-Gruppe untersuchten wir den potentiellen Nutzen einzelner Marker für Diagnose und Therapie.
Mit diesem Ansatz wollen wir weitere Einblicke in die Stoffwechselpfade dieser Biomarker in der Pathogenese der Arthrose schaffen und dadurch o.g. Defizite in Klassifikation, Diagnostik und Therapie verbessern.
Um die potentiell risikobehaftete artikuläre Punktion zu umgehen und durch eine risikoarme Blutentnahme zu substituieren, wurde eine Beziehung zwischen der Prävalenz der Marker im Serum und in der Synovia analysiert.
Eine signifikante Korrelation der untersuchten Marker in Serum und Synovia konnte nicht beobachtet werden.
Darüber hinaus untersuchten wir den BMI und eine Korrelation zwischen den untersuchten Markern in der OA- und Trauma-Gruppe. Zuletzt wurde das subjektive Patientenempfinden hinsichtlich der Kniegelenkbeschwerden und der damit assoziierten Einschränkungen anhand des KOOS evaluiert.

## 4.1 Bewertung der Methoden

Da zum Studienzeitpunkt nach unserem Erkenntnisstand keine direkten ELISA-Nachweiskits für MMP-1 und MMP-13 auf dem Markt existierten, wurde in der vorliegenden Arbeit ebenso wie in den zitierten Studien die Prävalenz der inaktiven Proenzyme (pro-MMP´s) evaluiert. Alle übrigen Biomarker konnten direkt nachgewiesen werden. Ebenfalls war es nicht möglich Komplexe aus MMP´s und TIMP´s zu messen. Aktivierte MMP´s sind in der Lage ihre Präkursoren zu aktivieren. Diese unterliegen ebenfalls einer noch nicht vollständig verstandenen komplexen Regulation durch Cytokine, Wachstumsfaktoren und Inhibitoren von Wachstumsfaktoren [80]. Daher wurde davon ausgegangen, dass aus einer erhöhten Prävalenz des Proenzyms eine erhöhte Prävalenz der aktivierten Form resultieren kann.

Auf eine aus gesunden Probanden bestehende Kontrollgruppe wurde wegen des Risikos einer iatrogen-induzierten Kniegelenksinfektion nach Punktion verzichtet. Darüber hinaus war die Gewinnung einer ausreichenden Probenmenge bei gesunden Probanden zur vollständigen Untersuchung der Fragestellung dieser Studie fraglich.

## 4.2 Prävalenz der Biomarker in OA- und Trauma-Gruppe

In zahlreichen Studien wurde bereits eine Vielzahl an MMP´s im Gelenkknorpel nachgewiesen und deren Funktion am physiologischen Umbau des Knorpels untersucht [81]. Aufgrund der Anzahl verschiedener MMP´s liegt die Vermutung nahe, dass sie distinkte Aufgaben haben [94]. In der Pathophysiologie der Arthrose nehmen MMP´s eine besondere Stellung ein, da sie in der Lage sind, den Gelenkknorpel zu degradieren. Dabei ist die gegenwärtige Studienlage zur Eignung von MMP´s als Markerproteine widersprüchlich. Einerseits war in Studien die Konzentration der MMP´s bei Arthrosepatienten gegenüber Kontrollen nicht signifikant erhöht [66] [48], andererseits wurden deutlich höhere Werte festgestellt [85] [86] [100] [101] [102] [111] [43] [44] [126] [48] [135] [136]. Überwiegend wird in der Literatur jedoch von einer erhöhten Prävalenz Matrix-degradierender Faktoren bei Patienten mit Kniegelenksarthrose gegenüber Kniegelenksgesunden berichtet. Auch bei Kniegelenkstraumata wurden erhöhte Konzentrationen dieser Markerproteine beschrieben [85] [41] [46].

MMP´s werden auf vielfältige Weise reguliert. Es wurden Mechanismen der Proteinbiosynthese, posttranskriptionaler Regulation, intra- und extrazelluläre Regulation beschrieben [88]. Die untersuchten TIMP´s gehören zu den extrazellulären Regulatoren.

Um in diesem Zusammenhang eine Abbildung des Kollagenstoffwechsels zu erhalten wurden das CPII als Marker für die Kollagenneusynthese sowie das C2C, als Marker für die Kollagendegradation herangezogen.

### 4.2.1 Pro-MMP-1

Pro-MMP-1 befindet sich präferentiell in der superfiziellen Zone des Knorpels [117]. Es wird als Proenzym sezerniert und durch proteolytische Spaltung aktiviert. Es besitzt eine hohe Substratspezifität für Kollagen Typ II und III und ist in der Lage Kollagen Typ II in charakteristische ¼- und ¾-Fragmente zu spalten [116]. Vorangehend findet eine Degradation des kollagenen Netzwerks durch MMP-3 statt, indem Kollagen Typ IX, welches Quervernetzungen ausbildet, gespalten wird [32]. Ein vermehrtes Vorkommen von MMP-1 in der Synovia kann daher zu einer gesteigerten Degradation des Gelenkknorpels führen [116]. Die genaue Funktion der Protease im Rahmen der initialen Arthrose ist weiterhin ungeklärt.

In dieser Arbeit konnte eine signifikant erhöhte Prävalenz von pro-MMP-1 in der Trauma-Gruppe im Vergleich zur OA-Gruppe beobachtet werden.

Schon geringe Schäden des Gelenkknorpels im Sinne einer Chondromalazie gehen mit einer erhöhten Prävalenz von pro-MMP-1 einher [108]. Dabei korreliert das Ausmaß des Knorpelschadens mit der Konzentration von pro-MMP-1 und die Prävalenz von pro-MMP-1 mit den Knorpelabbauprodukten signifikant [80] [108]. Dies zeigt, dass pro-MMP-1 unmittelbar an der Knorpeldegradation beteiligt ist und daß das Ausmaß der Degradation unmittelbar proportional mit der Konzentration von pro-MMP-1 zusammenhängt. Ähnliche Beobachtungen machten Tchetverikov et al. Sie wiesen einen signifikanten Anstieg von pro-MMP-1 in der Synovia bei Patienten nach Kniegelenkstrauma gegenüber der OA-Gruppe nach. Deren Prävalenz wiederum war signifikant höhere gengenüber Kniegelenksgesunden [46]. Dabei ist zu vermuten, dass es zu einer vermehrten Knorpeldegradation kommt. Gleichzeitig war eine erhöhte Prävalenz von pro-MMP-1 und -3 mit einer erhöhten MMP-1 Aktivität assoziiert [46]. Hieraus kann gefolgert werden, dass indirekte Rückschlüsse über die Konzentration von MMP-1 über die Konzentration von pro-MMP-1 gezogen werden können, was wir im Studienansatz postulierten. Ein Zusammenhang von pro-MMP-13 und MMP-13 ist ebenfalls naheliegend. Rübenhagen et al untersuchten die Prävalenz von MMP-1 im Verlauf einer Arthrose. Dabei zeigte sich eine Abnahme der Prävalenz im Krankheitsverlauf, die durch die Destruktion der superfiziellen Zone bedingt ist [117]. Dies begründet ebenfalls die in vorliegender Studie höhere Prävalenz von pro-MMP-1 in der Trauma- im Vergleich zur OA-Gruppe.

Pro-MMP-1 wird von verschiedenen Enzymen aktiviert. Insbesondere ist hier MMP-3 zu nennen. Wir wiesen eine signifikante Korrelation von pro-MMP-1 und MMP-3 in beiden Gruppen nach. In der Literatur wird dies ebenfalls bestätigt [88] [90]. Hervorzuheben ist die Tatsache, dass der Stoffwechselweg von plasminogen aktivator Urokinasetyp (u-PA) über MMP-3 zum pro-MMP-1 in der Arthrose- und Traumagruppe nachweisbar war. Dies bedeutet, dass sich beide Gruppen hinsichtlich dieses Stoffwechselweges nicht unterscheiden, wohl aber in der Korrelation mit dem Serum CRP.

MMP-3 ist nicht primär an der Degradation der Knorpelmatrix beteiligt, sondern hat eine Aktivatorfunktion für andere MMP´s [83] [84] [85]. Der Knorpelabbau findet vorwiegend in der superfiziellen Zone statt, was in der Studie von Fernandes et al. durch eine progrediente Zunahme der Prävalenz von pro-MMP-1 in dieser Zone belegt ist [63]. Diese Beobachtungen im Tiermodell decken sich mit den Befunden von Väätäinen et al. am Menschen [108]. Dabei geht die Knorpeldegradation mit einer Inflammation einher. Die entstandenen Knorpelabbauprodukte persistieren in der Synovia [92] [129] und es wird vermutet, dass dies zur Immigration von Makrophagen und T-Lymphozyten führt [129], welche wiederum pro-inflammatorische Mediatoren sezernieren [53] [64] [129]. Durch diesen Prozess kann es über eine lokale Inflammation zu einer Erhöhung des Serum-CRP´s kommen.

Wir beobachteten in der OA-Gruppe eine signifikante Korrelation zwischen pro-MMP-1 und dem CRP-Serumspiegel. In der Trauma-Gruppe ließ sich dies nicht nachweisen. Die Gruppen unterscheiden sich daher in diesem Punkt.

Fraser et al. wiesen ebenfalls bei der Arthrose eine signifikante Korrelation von pro-MMP-1 und pro-MMP-3 mit dem CRP nach [80]. Auch korrelierte die Prävalenz von pro-MMP-1 und C2C, jedoch nicht die von MMP-3 und C2C [80]. Aus der Beziehung zwischen CRP, pro-MMP-3 und pro-MMP-1 kann abgeleitet werden, dass eine Inflammation mit einer erhöhten Prävalenz von pro-MMP-3 assoziiert ist. Dabei ist zu vermuten, dass infolge dessen die Prävalenz von MMP-3 steigt und die nachgeschalteten Stoffwechselwege aktiviert werden. Daraus folgend könnte es zu einer Degradation des Knorpels kommen. Es würde vermehrt pro-MMP-1 aktiviert und der Abbau der Knorpelmatrix vorangetrieben. Diese Beobachtungen untermauern die These von Pelletier et al., wonach pro-MMP-1 eine Funktion in der inflammatorischen Phase besitzt [88].

Die Bedeutung von pro-MMP-1 bei der initialen Kniegelenksschädigung und der Kniegelenksarthrose ist nicht vollständig geklärt. Es kann jedoch davon ausgegangen

werden, dass pro-MMP-1 am Prozess der Knorpeldegradation nach traumatischer Kniegelenksschädigung und Kniegelenksarthrose beteiligt ist. Zudem scheint es möglich, diesen Marker zur Verlaufskontrolle bei Kniegelenksschädigungen zu nutzen, da es im zeitlichen Verlauf eine Abnahme zeigt. Dies bedarf jedoch weiterführender Untersuchung.

### 4.2.2 MMP-3

MMP-3 spielt eine zentrale Rolle im Knorpelstoffwechsel, da es multiple Eigenschaften besitzt [124]. Zum Einen ist es in der Lage, Kollagen Typ II zu spalten. Eine andere Eigenschaft liegt aber darin, auch Typ IX zu degradieren und so das kollagene Netzwerk zu destabilisieren [32] [80] Zum Anderen kann MMP-3 weitere pro-MMP´s, hier insbesondere pro-MMP-1 und -13, aktivieren [88] [90] [116].

Nach Kniegelenkstraumata und bei der Arthrose wurden erhöhte Konzentrationen der untersuchten Marker gefunden [46] [124]. Diese befanden sich signifikant über denen Gesunder [43] [44]. Wir konnten eine signifikant erhöhte Prävalenz von MMP-3 in der Trauma-Gruppe im Vergleich zur OA-Gruppe beobachten. Tchetverikov et al. stellten ebenfalls einen signifikanten Anstieg von pro-MMP-3 in der Synovia der Trauma-Gruppe gegenüber der Gonarthrose-Gruppe fest und beide wiederum wiesen eine signifikant höhere Prävalenz gegenüber Gesunden nach. Dabei hatte eine erhöhte pro-MMP-1 und -3 Prävalenz eine ansteigende MMP-1-Aktivität zur Folge [46]. Dies unterstützt die These, dass einer der Hauptfunktionen von MMP-3 die Aktivierung anderer MMPs ist [88] [90] [42]. Durch diese Aktivierungsfunktion in Verbindung mit der o.g. Korrelation von pro-MMP-3 mit MMP-1 und der Funktion von MMP-3 Kollagen Typ IX zu degradieren [32], kommt es zu einem synergistischen Effekt, bei dem MMP-3 das kollagene Netzwerk destabilisiert und gleichzeitig die Enzyme, die für den weiteren Abbau benötigt werden aktiviert. Dies könnte bei den höheren Prävalenzen von MMP-3 in der Trauma-Gruppe im Vergleich zur OA-Gruppe von Bedeutung zu sein. Eine Korrelation der erhöhten Prävalenz von MMP-3 mit C2C konnten wir nicht nachweisen. Daher scheint die Prävalenz von MMP-3 keinen direkten Einfluss auf den spezifischen Stoffwechselpfad, welcher durch C2C bestimmt wird, zu haben. Dies wird ebenfalls durch Fraser et al. bestätigt, die auch keine Korrelation zwischen pro-MMP-3 und C2C beobachteten [80]. Daher müssen die nachgeschalteten Stoffwechselwege weiter untersucht werden, um zu analysieren, welche Enzyme im Verlauf aktiviert werden und wie der Degradationsprozess voranschreitet. Die Frage, die sich hierbei stellt ist, ob es dabei zu einer Degradation oder zu einem Remodeling kommt?

Weiterhin konnten wir nach unseren Erkenntnissen erstmalig bei traumatischer Kniegelenksschädigung eine Korrelation von MMP-3 mit pro-MMP-13 nachweisen. Tchetverikov et al. untersuchten pro-MMP-3 und pro-MMP-13 bei Patienten mit Arthrose und Gesunden. Dabei ließ sich pro-MMP-13 in keiner Gruppe nachweisen

[43]. In der Literatur wurde die Aktivierung von pro-MMP-13 durch MMP-3, -2 und -14 nachgewiesen [88] [90]. Wir konnten in der vorliegenden Studie keine Korrelation zwischen MMP-3 und pro-MMP-13 in der OA-Gruppe aufzeigen. Es wird angenommen, dass MMP-13 im Rahmen eines Remodelingprozesses aktiv ist, worauf im nächsten Kapitel 4.2.3 (pro-MMP-13) näher eingegangen werden soll. Ob dieser Stoffwechselweg lediglich nach Trauma oder auch bei der Arthrose existiert, bedarf jedoch noch weiterer Abklärung.

Durch die multiplen Funktionen besitzt MMP-3 eine potentiell zentrale Rolle im Knorpelstoffwechsel und auch in der Arthrosepathogenese. Die Möglichkeit, Kollagen vom Typ II zu degradieren scheint eher von untergeordneter Bedeutung. Eine wichtigere Funktion scheint die Degradation des Kollagens vom Typ IX beizukommen, wodurch das kollagene Netzwerk destabilisiert wird. Diese Stoffwechselwege wurden bereits zum Teil aufgeklärt. Die Eigenschaft des Aktivators anderer MMP´s kann eine zentrale Rolle in der Arthrosepathogenese und möglicherweise sogar die wichtigste Funktion darstellen. MMP-3 ist dabei in der Lage auch die MMP´s zu aktivieren, die sonst nur über verschieden Stoffwechselwege erreichbar sind. Hier sei zum Einen die Aktivierung von pro-MMP-1 über den plasminogen aktivator Urokinasetyp (u-PA) und zum Anderen pro-MMP-13 erwähnt. Pro-MMP-13 ist normalerweise nur über den MT1-MMP Pfad aktivierbar. Zum Therapiemonitoring bzw. als prognostischer Faktor bezüglich der Entwicklung einer sekundären, posttraumatischen Kniegelenksarthrose ist pro-MMP-3 respektive seine aktivierte Form in Assoziation mit der lokalen Konzentration post Trauma sowie dem weiteren Konzentrationsverlauf in Erwägung zu ziehen. Dafür wären weiterführende longitudinale Studien erforderlich.

### 4.2.3 Pro-MMP-13

In der tieferen Zone des Gelenkknorpels kommt MMP-13 in einer höheren Konzentration vor als in der superfiziellen Zone [63]. Es besitzt eine hohe Substratspezifität für Kollagen Typ II und ist in der Lage, dieses Kollagen an definierter Stelle zu spalten [116] [125]. Die so entstandenen Bruchstücke werden von MMP-2 und -9 weiter degradiert [75] [125].

Die Rolle von pro-MMP-13 nach Kniegelenkstraumata ist, ebenso wie bei der initialen Kniegelenksarthrose, aufgrund der lückenhaften und widersprüchlichen Datenlage noch nicht vollständig geklärt. Pro-MMP-13 kann im Gelenkknorpel nachgewiesen werden und in seiner aktivierten Form Matrixbestandteile degradieren [116] [127] [128]. Nach Kniegelenkstraumata und bei der Kniegelenksarthrose ist pro-MMP-13 in der Synovia und im Gelenkknorpel gegenüber Gesunden signifikant erhöht [43] [112] [115]. Dabei ist MMP-13 derzeit Gegenstand der aktuellen Arthroseforschung [127] [128]. Bisher scheiterte der therapeutische Ansatz einer Inhibition von MMPs an mangelnder Selektivität und daraus folgenden Nebenwirkungen [127] [128]. Eine selektive Inhibition von MMP-13 wurde beschrieben und die Wirksamkeit in Studien nachgewiesen [127] [128].

Wir haben nach unseren Erkenntnissen erstmals in einer humanen Studie bei traumatischer Kniegelenksschädigung pro-MMP-13 in der Synovia nachgewiesen. Dabei lag die Prävalenz von pro-MMP-13 in der Trauma-Gruppe im Vergleich zur OA-Gruppe signifikant niedriger. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stehen im Kontrast zur Studie von Tchetverikov et al. Sie konnten pro-MMP-13 weder bei Kniegelenksarthrose noch Gesunden nachweisen [43]. Dagegen detektierten Kim et al. eine signifikant erhöhte Prävalenz von pro-MMP-13 in der Synovia von Patienten mit Kniegelenksarthrose [115]. Auch in Tierversuchen konnte pro-MMP-13 posttraumatisch nachgewiesen werden. Wei et al. stellten bei Versuchstieren nach Traumata und bei Arthrose jeweils eine signifikant höhere Prävalenz von pro-MMP-13 gegenüber Gesunden fest [112]. Die höchste Prävalenz trat hierbei in der Trauma-Gruppe auf, welche gegenüber der OA-Gruppe signifikant erhöht war [112]. Andere Tierstudien bestätigen diese Ergebnisse [41] [63] [107]. Somit geht die überwiegende Anzahl der Literatur von einer signifikant erhöhten Prävalenz von pro-MMP-13 nach Trauma im Vergleich zur Arthrose aus – humane Studien liegen dabei nicht vor.

In der Studie von Tchetverikov et al. könnte der gewählte Untersuchungszeitpunkt, im Durchschnitt bestand die Erkrankung ca. fünf Jahre, eine Ursache der mangelnden Nachweisbarkeit von pro-MMP-13 sein. Denkbar wären jedoch auch verbesserte Nachweismethoden in den anderen Studien (es wurden nicht dieselben ELISA-Kits verwendet). Weshalb sich die vorliegende Studie nicht mit den zitierten Tierstudien deckt, lässt sich aus den Daten nicht abschließend klären.
Die Verteilung von pro-MMP-13 innerhalb des Knorpels ist unterschiedlich. Es findet eine Konzentrationszunahme von der superfiziellen zur tiefen Zone hin [63]. Zudem findet eine progrediente Prävalenzzunahme nach einem Trauma statt, welche im Verlauf in der tiefen Zone ein Plateau erreicht [63]. Pelletier folgert daraus, dass MMP-13 eine Rolle in der Remodeling-Phase der Arthrose spielt [88]. Ein möglicher Grund für unsere Beobachtung mag sein, dass MMP-13 infolge seiner unterschiedlichen Prävalenz im Gelenkknorpel erst bei fortgeschrittenem Knorpelschaden bzw. endgradiger Kniegelenksarthrose vermehrt freigesetzt wird. Pro-MMP-13 scheint nach unseren Beobachtungen, eher in der Endphase der Kniegelenksarthrose eine Rolle zu spielen. Da eine selektive Inhibition von MMP-13 nachgewiesen ist [116] [127] [128], werden weitere Forschungsergebnisse zum Einfluß auf die Pathogenese der Arthrose und zur Wirksamkeit dieses Therapieansatzes erwartet. In vorliegender Studie konnte nach unserer Erkenntnis erstmalig eine umgekehrt proportionale Korrelation des Serum CRP mit pro-MMP-13 in der Trauma-Gruppe nachgewiesen werden.

Die Aktivierung der untersuchten MMP´s erfolgt wie bereits erwähnt über verschiedene fein abgestimmte Stoffwechselwege, die sich zum Teil überschneiden. Pro-MMP-1 wird u.a. von MMP-3 [90] und pro-MMP-13 von MMP-3, MMP-2, MT1- und MT2-MMP aktiviert [88] [42]. Wir konnten unseren Erkenntnissen nach erstmalig eine signifikante Korrelation von pro-MMP-1 mit pro-MMP-13 in der Trauma-Gruppe beobachten. Eine Aktivierung von pro-MMP-13 durch MMP-1 oder umgekehrt ist nicht beschrieben. Die o.g. Korrelation lässt sich schlüssig über den bereits bekannten Pfad von MMP-3 erklären [88] [90]. Denkbar wäre auch ein intrazellulärer Signalweg, der gleichzeitig den u-PA sowie die MT-MMP´s (MT1- und MT2-MMP) aktiviert und mithin die extrazellulären Stoffwechselwege frei gibt [90]. Dies ist bisher noch nicht abschließend erforscht, so dass weitere Untersuchungen notwendig sind, um die Vorgänge und deren Regulation aufzudecken.

Die Konzentration von pro-MMP-13 unterschied sich in der OA- und Tauma-Gruppe signifikant. Pro-MMP-13 ist ebenso bei der Arthrose gegenüber Gesunden erhöht. So kann pro-MMP-13 möglicherweise sowohl nach Trauma als auch bei der Arthrose von Bedeutung sein.

### 4.2.5 TIMP-1, TIMP-2, CPII und C2C

MMP´s werden verschiedenartig auf transkriptionaler, posttranskriptionaler und extrazellulärer Ebene reguliert [88]. TIMP´s wirken auf extrazellulärer Ebene und werden ebenso wie die MMP´s von Chondrozyten synthetisiert [124]. Sie binden an die Zinkabhängige aktive Domäne der MMP´s und inhibieren diese [88]. TIMP-1 und -2 wurden im Gelenkknorpel nachgewiesen [88].

Nach Kniegelenkstraumata und Kniegelenksarthrose kommte es zu einer Erhöhung der TIMP´s [124], wobei die initiale Prävalenz von TIMP-2 nach Trauma über der Arthrose liegt [45] [47]. Ebenso wird vermutet, dass TIMP-2 nicht nur an der Inhibition der MMP´s beteiligt ist, sonder auch als Inhibitor der Vaskularisation beteiligt ist [133].

Wir konnten ebenfalls eine signifikant höhere Prävalenz von TIMP-2 in der Trauma-Gruppe im Vergleich zur OA-Gruppe nachwiesen. Aufgrund der signifikant differierenden Prävalenz bei traumatischer Kniegelenksschädigung und Kniegelenksarthrose, scheinen sich beide Gruppen in der Regulation von TIMP-2 zu unterscheiden. Es ist möglich, dass in der Trauma-Gruppe die Promotoren oder in der OA-Gruppe die Inhibitoren erhöht sind. Da TIMP´s die MMP´s regulieren ist es wahrscheinlich, dass dieser signifikante Unterschied durch eine unterschiedliche Expression und Aktivierung spezifischer MMP´s bedingt ist. Ebenso ist es möglich, dass TIMP-2 eine ambivalente Rolle in der Arthrosepathogenese hat. Zum Einen die Inhibition von MMP´s, zum Anderen die Regulation einer Neovaskularisation. Dies muss aber durch weitere Forschung evaluiert werden.

Ebenso ist die Prävalenz von TIMP-1 nach Trauma im Vergleich zur Arthrose und letzteres ebenfalls signifikant gegenüber Gesunden erhöht [108] [43] [46] [124]. Dabei korreliert die Prävalenz mit dem Ausmaß des Knorpelschadens nach Outerbridge [108]. Wir konnten jedoch keinen signifikanten Unterschied in der Trauma- und OA-Gruppe hinsichtliche des TIMP-1 finden. Dies deckt sich nicht mit den Ergebnissen von Tchetverikov et al. hinsichtlich des im Studienverlauf gemessenen TIMP-1 [46]. Dieser konnte initial eine signifikant erhöhte Prävalenz von TIMP-1 in der Trauma-Gruppe

nachweisen, welche sich im Verlauf der OA-Gruppe annäherte. [46]. Daher ist es möglich, dass TIMP-1 in der Trauma- und OA-Gruppe im Verlauf eine ähnliche Aufgabe hat. Unterschiedliche Ergebnisse können wie bereits erwähnt auch aufgrund von unterschiedlichen Studiendesigns herrühren. Ebenso ist es möglich, dass ein unterschiedlicher Untersuchungszeitpunkt zu diesen Ergebnissen geführt hat. Aus den vorhandenen Daten können keine Rückschlusse auf die Unterschiede in der initialen Phase nach Trauma geschlossen werden. Daher müssen sich weitere Studien dieser Frage anschließen.

In Zusammenschau mit den obigen Ergebnissen und dem vorangegangenen Kapitel (MMP´s) lässt sich ableiten, dass es nach einem Trauma und bei Arthrose zu einer verstärkten Synthese von pro-MMP-1, MMP-3 und TIMP-1 kommt. Eine Regulation dieser MMP´s durch TIMP-1 ist daher naheliegend. Wir konnten in der OA-Gruppe eine signifikante Korrelation von TIMP-1 mit MMP-3 nachweisen. Hieraus lässt sich vermuten, dass TIMP-1 im Rahmen der Arthrose ein wichtiger Inhibitor von MMP-3 darstellt. Dabei kommt es zu einer gleichsinnigen Synthese dieser Marker. Dies gewinnt umso mehr Bedeutung, da MMP-3 eine zentrale Rolle in der Aktivierung verschiedener MMP´s spielt.

Diese Aussage spiegelt sich ebenfalls in folgendem Ergebnis. Wir wiesen unseren Erkenntnissen nach erstmalig bei traumatischer Kniegelenksschädigung eine umgekehrt proportionale Korrelation von TIMP-1 mit C2C nach. Wei et al. wiesen im Tiermodell eine signifikant höhere Prävalenz von C2C in der OA- und Trauma-Gruppe im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe nach. Dabei war die höchste Prävalenz in der Trauma-Gruppe, die niedrigste bei Gesunden [112]. C2C entsteht bei der Degradation von Kollagen Typ II, wobei die Prävalenz von C2C die Menge des degradierten Kollagens widerspiegelt [17]. Nach einem Trauma und bei der Kniegelenksarthrose wird Kollagen Typ II degradiert, was eine erhöhte Prävalenz von C2C erklärt [112]. Fraser et al. wiesen eine Korrelation von C2C mit dem CRP aber nicht mit CPII nach [80]. Dies würde bedeuten, dass bei einer floriden Inflammation größere Mengen an Kollagen abgebaut werden [80]. Diese Befunde passen zum gemeinsamen Anstieg von CRP, pro-MMP-1 und MMP-3 in unserer Arthrose-Gruppe.

## 4.3 Korrelation TIMP-2 in Synovia und Erkrankungsalter

Als gemeinsame Endstrecke der zur Arthrose führenden Genese wird eine Dysbalance zwischen Matrixauf- und Matrixabbau zu Gunsten des Abbaus angenommen [70] [88]. Dies führt dann im Verlauf zum Verlust von Matrixbestandteilen [88]. Aus Untersuchungen mit TIMP-2 knockout Mäusen konnte gezeigt werden, dass diese eine deutlich schwerwiegende Arthrose entwickeln als die vom wild-Typ [133]. Weiterhin scheint eine Neoangiogenese in den ehemals avasculären Knorpel eine Rolle zu spielen [133]. TIMP-2 kann potentiell im Rahmen des Arthroseprozesses beteiligte MMP´s inhibieren. Jedoch wird angenommen, dass dies nicht die primäre Funktion sei, sondern die Inhibition der Angiogenese [133]. Daher untersuchten wir den Einfluß von TIMP-2 auf das Erkrankungsalter.

Nach unseren Erkenntnissen wurde in der vorliegenden Arbeit erstmalig untersucht, ob Matrix-degradierende Proteasen und deren Inhibitoren mit dem Erkrankungsalter korrelieren. Das „Erkrankungsalter“ wurde dabei als Zeitpunkt definiert, an dem aufgrund einer endgradigen, symptomatischen Kniegelenksarthrose ein vollständiger Gelenkoberflächenersatz in unserer Klinik durchgeführt wurde. Im Rahmen der Analyse konnte festgestellt werden, dass in der FOA-Gruppe (Alter < 60 Jahre) TIMP-2 signifikant niedriger war als in der MOA- (Alter 60–69 Jahre) und SOA-Gruppe (Alter >70 Jahre). Gleichzeitig korrelierte eine niedrige Prävalenz von TIMP-2 signifikant mit einem frühen Erkrankungsalter.

Aus den Ergebnissen kann gefolgert werden, dass eine früh auftretende Kniegelenksarthrose durch eine verminderte Inhibition Matrix-degradierender Faktoren und verringerte Inhibition der Neoangiogenese über eine niedrige Prävalenz von TIMP-2 mitbedingt sein kann. TIMP-2 könnte aus diesem Grund ein prognostischer Marker sein.

## 4.4 Korrelation untersuchter Marker in Serum und Synovia

Serumparameter spiegeln den Stoffaustausch im gesamten Organismus beispielsweise im Zusammenhang mit der Zellmigration, dem Knochenwachstum, der Spermienreifung und Wundheilung, aber auch mit pathologischen Prozessen wie Tumorwachstum und Autoimmunerkrankungen wider [91]. MMP´s können in der Synovia und im Serum nachgewiesen werden [66], jedoch ist die Studienlage zur Korrelation der Konzentrationen in den beiden Kompartimenten kontrovers und lückenhaft. Ließe sich

eine Korrelation zwischen den untersuchten Markern zwischen Serum und Synovia herstellen, so könnte die risiko- und schmerzbehaftete Kniegelenkspunktion durch eine risikoarme Blutentnahme ersetzt werden. Weiterhin stünde damit eine einfache Methode für die Verlaufsbeurteilung zur Verfügung.

In der vorliegenden Studie konnte keine Korrelation der untersuchten Marker zwischen Serum und Synovia beobachtet werden.

Andereya et al. untersuchten die Prävalenz von pro-MMP-1, pro-MMP-3, pro-MMP-13 und TIMP-1 in Serum und Synovia bei fortgeschrittener Kniegelenksarthrose und rheumatoider Arthritis [66]. Alle MMP´s bis auf pro-MMP-13 wiesen in der Synovia deutlich höhere Prävalenzen auf als im Serum. Pro-MMP-13 lag dagegen im Serum in einer dreifach höheren Konzentration vor. Eine Korrelation in Serum und Synovia wurde jedoch nicht festgestellt. Ribbens et al. [49] stellten eine erhöhte Konzentration von MMP-3 bei rheumatischen Erkrankungen im Serum fest. Bei nicht-rheumatischen Erkrankungen wurden hingegen Normwerte gemessen. Tchetverikov et al. untersuchten die Prävalenzen von pro-MMP-1, pro-MMP-3, pro-MMP-13, pro-MMP-8, pro-MMP-9 und TIMP-1 in der Synovia und im Serum bei Patienten mit Arthrose sowie rheumatoider Arthritis und verglich diese mit gesunden Kontrollen [43]. Dabei zeigten sie bei Patienten mit rheumatoider Arthritis eine signifikante Korrelation zwischen Synovia und Serum für pro-MMP-8 und -9 [43].

Aus den vorliegenden Daten kann letztenendes nicht eindeutig geklärt werden, ob sich das lokale Geschehen im Gelenk systemisch widerspiegelt. Möglicherwiese lassen sich auch nicht sämtliche MMP´s, sondern nur wenige aus der Synovia mit dem Serum korrelieren. Tchetverikov et al. wiesen eine Korrelation von pro-MMP-8 und -9 nach. Sind erst die komplexen Stoffwechselwege bei Arthrose in der Synovia verstanden, könnte es möglich sein, die Prozesse über die im Serum detektierbaren MMP´s abzubilden. Es ist aber auch möglich, dass sich die notwendigen Marker, respektive die hier untersuchten, bei traumatischer Kniegelenksschädigung und Kniegelenksarthrose sich wie in unserer Studie nicht in veränderten Serumspiegeln wiederfinden. Daher sind weitere Untersuchungen zur Korrelation ausgewählter Marker in Serum und Synovia notwendig.

## 4.5 CRP nach traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung im Serum

Im Verlauf der Arthrose spielt die Inflammation eine wichtige Rolle [57]. Entzündungen gehen üblicherweise mit einem erhöhten Serum-CRP einher [57] [82]. Weiterhin wurde in der Literatur beschrieben, dass schon in frühen radiologischen Stadien nach Kellgren & Lawrence ein signifikant erhöhtes Serum CRP auf einen protrahierten Verlauf der Erkrankung hinweist [51] [110] [52].

Die Synthese des CRP wird über pro-inflammatorische Mediatoren wie z.B. IL-1, IL-6, TNF-$\alpha$, -$\beta$ oder Interferon-$\gamma$ reguliert. Bei Gewebsverletzungen übernimmt das CRP immunmodulatorische Funktionen und aktiviert das Komplementsystem. Im Verlauf einer Arthrose wird eine progrediente inflammatorische Komponente deutlich [57], welche zu einer Erhöhung des Serum-CRP´s führen kann.

Bei unseren Untersuchungen war die Prävalenz des Serum CRP in der OA-Gruppe signifikant höher als in der Trauma-Gruppe. Daraus lässt sich schließen, dass zumindest in den hier untersuchten Phasen bei der Kniegelenksarthrose eine stärkere Inflammation besteht als mindestens sechs Wochen oder mehr nach einem Trauma. Darüber hinaus ließen sich weitere Korrelationen zwischen dem Serum-CRP´s und anderen Biomarkern finden, welche bereits im Kapitel 4.2.1 (pro-MMP-1) und 4.2.3 (pro-MMP-13) beschrieben wurden.

## 4.6 Bedeutung des BMI bei chronischer und traumatischer Kniegelenksschädigung

Mechanische Faktoren wie Adipositas wirken prädisponierend auf die Entstehung einer Arthrose, wobei insbesondere das Risiko an den großen gewichtstragenden Gelenken steigt [62]. Daher wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit überprüft, ob eine Assoziation zwischen den untersuchten Markern und dem BMI bestand.

Es konnte eine signifikante Korrelation zwischen BMI und CPII nachgewiesen werden. CPII entsteht bei der Quervernetzung kollagener Fibrillen und ist somit ein Indikator für die Kollagensynthese [73]. Daraus lässt sich schließen, dass ein hoher BMI eine verstärkte Kollagensynthese zur Folge hat. Dies könnte als Reaktion des Knorpels auf einen erhöhten Druck sein, vergleichbar mit der Zunahme der Knochendichte auf erhöhte Belastung. Diese Beobachtung steht jedoch im Widerspruch zur Literatur, die hohes Gewicht als Risikofaktor für das Entstehen einer Arthrose darstellt [62]. In Folge

dessen es dann zu einer verminderten Synthese von CPII kommt. Eine Korrelation zwischen C2C und dem BMI, was eine Verbindung von Gewicht zum Knorpelabbau herstellen würde, ließ sich in der vorliegenden Arbeit nicht nachweisen. Darüber hinaus konnte kein weiterer Zusammenhang zwischen den untersuchten Markern und dem BMI hergestellt werden.

## 4.7 Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Scores

Das subjektive Patientenempfinden wurde mittels KOOS bewertet. Die OA-Gruppe wies beim KOOS in vier von fünf Subscores sowie in dem Gesamt-Score signifikant schlechtere Ergebnisse auf als die Trauma-Gruppe. Lediglich in dem Subscore „Sport“ unterschieden die beiden Gruppen sich nicht. Bei diesem Subscore befand sich der Median beider Gruppen im unteren Fünftel der Skala. Somit erlebten Patienten beider Gruppen die größten Einschränkungen bei sportlicher Betätigung.

In der OA-Gruppe korrelierte pro-MMP-1 umgekehrt proportional signifikant mit dem Symptom-Subscore. Dies bedeutet, je schwerwiegender die Symptome, je höher ist die Konzentration von pro-MMP-1. Eine gleiche Beziehung bestand zwischen pro-MMP-13 und dem QoL-Subscore. Auch hier fand sich ein signifikant umgekehrte proportionale Korrelation.
Die Untersuchungsergebnisse visualisieren die subjektive Einschränkung der Kniegelenksarthrosepatienten, die zur Operation anstanden. Nach Kellgren & Lawrence waren die Patienten der OA-Gruppe dem Erkrankungsgrad 4 zuzuordnen. Daher decken sich die Ergebnisse des KOOS mit denen der Bildgebung und Diagnose.

In der Trauma-Gruppe korrelierte C2C umgekehrt proportional signifikant mit den Subscores Symptome, Schmerzen und dem Gesamt-Score. Weiterhin korrelierte das CRP mit dem Symptom-, QoL- und Gesamt-Score. Daraus kann gefolgert werden, dass eine vermehrte Degradation der Knorpelbestandteile zu vermehrten Beschwerden führt. Kombiniert man diese Beobachtung mit den Befunden aus der Literatur [80], die ebenfalls eine signifikante Korrelation von C2C mit dem CRP beschrieb, könnte geschlussfolgert werden, dass diese Beschwerden durch eine lokale Inflammation in dem betreffenden Gelenk erklärt werden könnte. Die Korrelation des CRP mit dem Symptom-, QoL- und Gesamt-Score unterstützt diese These.

Nach derzeitigem Erkenntnisstand existieren bislang keine Studien, die diese Thematik zum Gegenstand haben. Daher sind weitere Untersuchungen notwendig, um diese Korrelationen zu verifizieren.

## 4.8 Schlussfolgerung

Es konnte eine signifikant höhere Prävalenz von pro-MMP-1 und MMP-3 nach Trauma als in der OA nachgewiesen werden. Diese Faktoren können als Co-Faktor einer sekundären und als Schlüsselfaktoren einer primären Arthrose erwogen werden. Eine Einflussnahme auf die Inflammation bei Gonarthrose ist eventuell über pro-MMP-1 möglich.

Das nach Trauma gegenüber der OA-Gruppe signifikant erhöhte TIMP-2 kann als Gegenregulation bewertet werden. Die niedrige Prävalenz bei der Arthrose ist möglicherweise eine Fehlregulation, welche u.a. zur Degradation des Knorples und Neovaskularisation führt. TIMP-1 ist möglicherweise als ein wichtiger Regulator des Knorpelabbaus nach Trauma sowie als Co-Faktor bei der Inhibition von MMP-3 bei der Arthrose zu werten.

Bezüglich der Evaluation von Risikomarkern für eine frühzeitige Arthroseentstehung fiel TIMP-2 durch ein signifikant vermindertes Vorkommen in der FOA gegenüber der MOA und SOA auf und korrelierte ebenfalls signifikant mit einem frühen Erkrankungsalter. Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse, wäre über TIMP-2 eine therapeutische Möglichkeit zur Prävention und Prognose der Arthrose in Betracht zu ziehen.

Pro-MMP-13 ist bei einer frühen Erkrankung an einer Kniegelenksarthrose nicht mit einer erhöhten Synovia-Konzentration gegenüber den Vergleichsgruppen assoziiert. Die Verwendung als prognostischer Risikofaktor für eine frühe Erkrankung an einer Kniegelenksarthrose ist bis Dato nicht abschließend geklärt. Die therapeutische Verwendung ist aufgrund seiner, im Vergleich zu anderen MMP´s differierenden Tertiärstruktur, aussichtsreich.

# 5 Anhang

## 5.1 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---|---|
| ADL | Aktivitäten des täglichen Lebens; engl. Activities of daily life |
| BMI | Body-Mass-Index |
| C2C | Kollagen Typ II Neoepitop |
| CPII | Prokollagen-IIc-Propeptid |
| CRP | C-reaktives Protein |
| DMOAD | Disease Modifying Osteoarthritis Drugs |
| ELISA | Enzyme-linked immunosorbent assay |
| FOA | Frühe-OA-Gruppe |
| IGF-1 | Insulin-like growth factor 1 |
| IL | Interleukin |
| IL1_ser | ELISA-Wert von Interleukin gemessen in dem Serum |
| IL1_syn | ELISA-Wert von Interleukin gemessen in der Synovia |
| IL-1β | Interleukin-1-beta |
| IL-1RA | IL-1-Rezeptorantagonist |
| KOOS | Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score |
| Lig. | Ligamentum |
| M. | Musculus |
| MMP | Matrix-Metalloproteinasen |
| MOA | Mittlere-OA-Gruppe |
| MRT | Magnet-Resonanz-Tomographie |
| MWU-Test | Mann-Whitney-U-Tests |
| OA-Gruppe | Arthrose-Gruppe |
| OATS | autologe Knorpel-Knochen Transplantation |
| u-PA | plasminogen aktivator Urokinasetyp |
| QoL | Quality of life |
| SOA | Späte-OA-Gruppe |
| SYSADOA | Symptomatic Slow Acting Drugs in Osteoarthritis |
| TGF-β | Transforming-growth-factor-beta |
| TIMP | Tissue Inhibitor Matrix-Metalloproteinase |
| TNF-α | Tumornekrosefaktor-alpha |

## 5.2 Literaturverzeichnis


1. Rabenberg M
   Gesundheitsberichterstattung des Bundes zur Arthrose.
   Rober Koch-Institut 2013
2. Cunningham LS, Kelsey JL
   Epidemiology of musculoskeletal impairments and associated disability.
   Am J Public Health 74:574-579, 1984
3. Fujioka R, Aoyama T, Takakuwa T
   The layered structure of the articular surface.
   Osteoarthritis Cartilage 21:1092-8, 2013
4. Dye SF
   An evolutionary perspective of the knee.
   J Bone Joint Surg Am 69:976-83, 1987
5. Edwards JC
   The origin of type A synovial lining cells.
   Immunobiology 161:227-231, 1982
6. Pullig O, Pfander D, Swoboda B
   Molekulare Grundlagen der Arthroseinduktion und –progression.
   Der Orthopäde 30:825-833, 2001
7. Henrotin Y, Lambert C
   Chondroitin and Glucosamine in the Management of Osteoarthritis: An Update.
   Curr Rheumatol Rep 15:361, 2013
8. Cooper C, Adachi J, Bardin T, Berenbaum F, Flamion B, Jonsson H, Kanis J, Pelousse F, Lems W, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Reiter S, Reginster JY, Rizzoli R, Bruyère O
   How to define responders in osteoarthritis.
   Curr Med Res Opin 29:719–729, 2013
9. Horkay F
   Interactions of Cartilage Extracellular Matrix Macromolecules.
   J Polym Sci B Polym Phys 50:1699-1705, 2012

10. A. Mobasheri
The Future of Osteoarthritis Therapeutics: Emerging Biological Therapy.
Curr Rheumatol Rep 15:385, 2013

11. Theiler R
Arthrose: Epidemiologie, Diagnose, Differentialdiagnose, Abklärung, und Dokumentation.
Schweizer Med Forum 23:555-561, 2002

12. Pridie KH
A Method of Resurfacing Osteoarthritic Knee Joints.
J Bone Joint Surg Br 41:618-619, 1959

13. Hellio Le Graverand MP, Vignon E, Otterness IG, Hart DA
Early changes in lapine menisci during osteoarthritis development: Part II: molecular alterations.
Osteoarthritis Cartilage 9:65-72, 2001

14. Magnusson PB
Joint Debridement Surgical Treatment of Degenerative Arthritis.
Surg Gynecol Obstet 73:1-9, 1941

15. Hardingham TE, Fosang AJ, Dudhia J
The structure, function and turnover of aggrecan, the large aggregating proteoglycan from cartilage.
Europ Jl of Clin Chem and Clin Biochem 32:249-257, 1994

16. Lotz M, Martel-Pelletier J, Christiansen C, Brandi ML, Bruyère O, Chapurlat R, Collette J, Cooper C, Giacovelli G, Kanis JA, Karsdal MA, Kraus V, Lems WF, Meulenbelt I, Pelletier JP, Raynauld JP, Reiter-Niesert S, Rizzoli R, Sandell LJ, Van Spil WE, Reginster JY
Value of biomarkers in osteoarthritis: current status and perspectives.
Ann Rheum Dis 72:1756-63, 2013

17. Aurich M, Squires GR, Reiner A, Mollenhauer JA, Kuettner KE, Poole AR, Cole AA
Differential matrix degradation and turnover in early cartilage lesions of human knee and ankle joints.
Arthritis Rheum 52:112-9, 2005

18. Knudson CB, Knudson W
Cartilage proteoglycans.
Semin Cell Dev Biol 12:69-78, 2001

19. Maroudas A
The function of articular cartilage in terms of its structure in a healthy joint. How is it altered in the degenerative joint?
Degenerative Joints, Elsevier Science Publishers, 2:99-115, 1985

20. Eger W, Schumacher BL, Mollenhauer J, Kuettner KE, Cole AA
Human knee and ankle cartilage explants: catabolic differences.
J Orthop Res 20:526-34, 2002

21. Lefevre V, Peeters-Joris C, Vaes G
Modulation by interleukin-1 and tumor necrosis factor of production of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases and collagen types in differentiated and dedifferentiated articular chondrocytes.
Biochem Biophys Acta 1052:366-78, 1990

22. Bau B, Gebhard PM, Haag J, Knorr T, Bartnik E, Aigner T
Relative messenger RNA expression profiling of collagenases and aggrecanases in human articular chondrocytes in vivo and in vitro.
Arthritis Rheum 46:2648-57, 2002

23. Mahmoud RK, El-Ansary AK, El-Eishi HH, Kamal HM, El-Saeed NH
Matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-1 levels in sera and synovial fluids in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis.
Ital J Biochem 54:248-57, 2005

24. Maiotti M, Monteleone G, Tarantino U, Fasciglione GF, Marini S, Coletta M
Correlation between osteoarthritic cartilage damage and levels of proteinases and proteinase inhibitors in synovial fluid from the knee joint.
Arthroscopy 16:522-6, 2000

25. Kon E, Filardo G, Di Matteo B, Perdisa F, Marcacci M
Matrix assisted autologous chondrocyte transplantation for cartilage treatment: A systematic review.
Bone Joint Res 2:18-25, 2013

26. Mow VC, Holmes MH, Lai WM
Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review.
J Biomech 17:377-394, 1984

27. Gelse K, Pöschl E, Aigner T
Collagens- structure, function and biosynthesis.
Adv Drug Deliv Rev 55:1531-46, 2003

28. Wachsmuth L, Söder S, Fan Z, Finger F, Aigner T
Immunolocalisation of matrix proteins in different human cartilage subtypes. Histol Histopathol 21:477-85, 2006

29. Wachsmuth L, Söder S, Fan Z, Finger F, Aigner T
Immunolocalisation of matrix proteins in different human cartilage subtypes. Histol Histopathol, 21:477-85, 2006

30. Ackermann B, Steinmeyer J
Collagen biosynthesis of mechanically loaded articular cartilage explants. Osteoarthr Cart 13:906-14, 2005

31. Mengshol JA, Vincenti MP, Coon CI, Barchowsky A, Brinckerhoff CE
Interleukin-1 induction of collagenase 3 (matrix metalloproteinase 13) gene expression in chondrocytes requires p38, c-Jun N-terminal kinase, and nuclear factor TB: differential regulation of collagenase 1and collagenase 3.
Arthritis Rheum 43:801-11, 2000

32. Kuettner KE
Biochemistry of articular cartilage in health and disease.
Clin Biochem 25:155-63, 1992

33. Furukawa T, Eyre DR, Koide S, Glimcher MJ
Biochemical studies on repair cartilage resurfacing experimental defects in the rabbit knee.
J Bone Joint Surg Am 62:79-89, 1980

34. Imhoff AB, Öttl GM, Burkart A, Traub S
Osteochondrale autologe Transplantation an verschiedenen Gelenken.
Der Orthopäde 28:33-44, 1999

35. Quantikine human pro-MMP-1 dmp100
FA. R&D Systems, 2008

36. Quantikine human pro-MMP13 dm1300
FA. R&D Systems, 2008

37. Quantikine human TIMP-1 dtm100
FA. R&D Systems, 2007

38. Collagen Type II Cleavage ELISA Anleitung
FA. IBEX Pharmaceuticals Inc., 2006

39. Procollagen II c-propeptide ELISA Anleitung
FA. IBEX Pharmaceuticals Inc., 2007

40. Quantikine human TIMP-2 dtm200
FA. R&D Systems, 2008

41. Wang YL, Li XJ, Qin RF, Lei DL, Liu YP, Wu GY, Zhang YJ, Yan-Jin, Wang DZ, Hu KJ
Matrix metalloproteinase and its inhibitor in temporomandibular joint osteoarthrosis after indirect trauma in young goats.
J Oral Maxillofac Surg 46:192-7, 2008

42. Kenichiro K, Chisato M, Masaki I, Tatsuya T, Akira I, Hideaki N, Kyuichi K, Tatsuo S
Regulation of Matrix Metalloproteinases (MMP-2, -3, -9, and -13) by Interleukin-1 and Interleukin-6 in Mouse Calvaria: Association of MMP Induction with Bone Resorption.
Endocrinology 139:1338-45, 1998

43. Tchetverikov I, Ronday HK, Van El B, Kiers GH, Verzijl N, TeKoppele JM, Huizinga TW, DeGroot J, Hanemaaijer R
MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis.
Ann Rheum Dis 63:881-3, 2004

44. Hulejová H, Baresová V, Klézl Z, Polanská M, Adam M, Senolt L
Increased level of cytokines and matrix metalloproteinases in osteoarthritic subchondral bone.
Cytokine 38:151-6, 2007

45. Marini S, Fasciglione GF, Monteleone G, Maiotti M, Tarantino U, Coletta M
A correlation between knee cartilage degradation observed by arthroscopy and synovial proteinases activities.
Clin Biochem 36:295-304, 2003

46. Tchetverikov I, Lohmander LS, Verzijl N, Huizinga TWJ, TeKoppele JM, Hanemaaijer R, DeGroot J
MMP protein and activity levels in synovial fluid from patients with joint injury, inflammatory arthritis, and osteoarthritis.
Ann Rheum Dis 64:694-698, 2005

47. Lo IK, Marchuk LL, Hollinshead R, Hart DA, Frank CB
Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase mRNA levels are specifically altered in torn rotator cuff tendons.
Am J Sports Med 32:1223-9, 2004

48. Kevorkian L, Young DA, Darrah C, Donell ST, Shepstone L, Porter S, Brockbank SM, Edwards DR, Parker AE, Clark IM
Expression Profiling of Metalloproteinases and Their Inhibitors in Cartilage.
Arthritis Rheum 50:131-41, 2004

49. Ribbens C, Martin y Porras M, Franchimont N, Kaiser MJ, Jaspar JM, Damas P, Houssiau FA, Malaise MG
Increased matrix metalloproteinase-3 serum levels in rheumatic diseases: relationship with synovitis and steroid treatment.
Ann Rheum Dis 61:161-6, 2002

50. Knauper V, Lopez-Otin C, Smith B, Knight G, Murphy G
Biochemical characterization of human collagenase-3.
J Biol Chem 271:1544–50, 1996

51. Spector TD, Hart DJ, Nandra D, Doyle DV, Mackillop N, Gallimore JR, Pepys MB
Low-level increases in serum C-reactive protein are present in early osteoarthritis of the knee and predict progressive disease.
Arthritis Rheum 40:723-7, 1997

52. Spector TD, Hart DJ, Nandra D, Doyle DV, Mackillop N, Gallimore JR
Low-level increases in serum C-reactive protein are present in early osteoarthritis of the knee and predict progressive disease.
Arthritis Rheum 40:723–7, 1997

53. Lohmander LS, Saxne T, Heinegård DK
Release of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) into joint fluid after knee injury and in osteoarthritis.
Ann Rheum Dis 53:8-13, 1994

54. Chevalier X, Conrozier T, Gehrmann M, Claudepierre P, Mathieu P, Unger S, Vignon E
Tissue inhibitor of metalloprotease-1 (TIMP-1) serum level may predict progression of hip osteoarthritis.
Osteoarthritis Cartilage 9:300-7, 2001

55. Huch K, Wilbrink B, Flechtenmacher J, Koepp HE, Aydelotte MB
Effects of recombinant human osteogenic protein 1 on the production of proteoglycan, prostaglandin E2, and interleukin-1 receptor antagonist by human articular chondrocytes cultured in the presence of interleukin-1beta.
Arthritis Rheum 40:2157-61, 1997

56. Benninghoff A.
Form und Bau der Gelenkknorpel in ihren Beziehungen zur Funktion.
Zellforsch 2:783-862 1925

57. Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB
Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets.
Arthritis Rheum 44:1237-47, 2001

58. Sharma L, Song J, Felson DT, Cahue S, Shamiyeh E, Dunlop DD
The role of knee alignment in disease progression and functional decline in knee osteoarthritis.
JAMA 286:188-95, 2001

59. Buckwalter JA, Mankin HJ
Articular cartilage. Part II: Degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration and transplantation.
J Bone Joint Surg 79:612-632, 1997

60. Buckwalter JA, Mankin HJ
Articular cartilage repair and transplantation.
Arthritis Rheum 41:1331-1342, 1998

61. Mueller B, Kohn D
Indikation und Durchführung der Knorpel-Knochenanbohrung nach Pridie.
Der Orthopäde 28:4-10, 1999

62. Felson DT
An update on the pathogenesis and epidemiology of osteoarthritis.
Radiol Clin North Am 42:1-9 2004

63. Fernandes JC, Martel-Pelletier J, Lascau-Coman V, Moldovan F, Jovanovic D, Raynauld J-P, Pelletier J-P
Collagenase-1 and collagenase-synthesis in normal and early experimental osteoarthritic canine cartilage: an immunohistochemical study.
J Rheumatol 25:1585-1594, 1998

64. Lohmander LS, Ionescu M, Jugessur H, Poole AR
Changes in joint cartilage aggrecan after knee injury and in osteoarthritis.
Arthritis Rheum 42:534-44, 1999

65. Omura K, Takahashi M, Omura T, Miyamoto S, Kushida K, Sano Y, Miura M, Nagano A
Changes in the concentration of plasma matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) after total joint replacement in patients with arthritis.
Clin Rheumatol 21:488-92, 2002

66. Andereya S, Streich N, Schmidt-Rohlfing B, Mumme T, Müller-Rath R, Schneider U
Comparison of modern marker proteins in serum and synovial fluid in patients with advanced osteoarthrosis and rheumatoid arthritis.
Rheumatol Int 26:432-8, 2006

67. Tanamas S, Hanna FS, Cicuttini FM, Wluka AE, Berry P, Urquhart DM
Does knee malalignment increase the risk of development and progression of knee osteoarthritis? A systematic review.
Arthritis Rheum 61:459–467, 2009

68. Nelson F, Dahlberg L, Laverty S, Reiner A, Pidoux I, Ionescu M
Evidence for altered synthesis of type II collagen in patients with osteoarthritis.
J Clin Invest 102:2115–25, 1998

69. Hollander AP, Pidoux I, Reiner A, Rorabeck C, Bourne R, Poole AR
Damage to type II collagen in ageing and osteoarthritis starts at the articular surface, originates around chondrocytes, and extends into the cartilage with progressive degeneration.
J Clin Invest 96:2859–69, 1995

70. Cawston T, Billington C, Cleaver C, Elliott S, Hui W, Koshy P, Shingleton B, Rowan A
The regulation of MMPs and TIMPs in cartilage turnover.
Ann N Y Acad Sci 878:120-9, 1999

71. Kempson GE, Muir H, Pollard C, Tuke M
The tensile properties of the cartilage of human femoral condyles related to the content of collagen and glycosaminoglycans.
Biochim Biophys Acta 297:465–72, 1973

72. Aigner T, Bertling W, Stöß H, Weseloh G, von der Mark K
Independent expression of fibrillforming collagens I, II and III in chondrocytes in human osteoarthritic cartilage.
J Clin Invest 91:829-837, 1993

73. Hollander AP, Heathfield TF, Webber C, Iwata Y, Bourne R, Rorabeck C
Increased damage to type II collagen in osteoarthritic cartilage detected by a new immunoassay.
J Clin Invest 93:1722–32, 1994

74. Billinghurst RC, Dahlberg L, Ionescu M, Reiner A, Bourne R, Rorabeck C
Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage.
J Clin Invest 99:1534-1545, 1997

75. Gross J, Harper E, Harris ED, McCroskery PA, Highberger JH, Corbett C, Kang AH
Animal collagenases: specificity of action, and structures of the substrate cleavage site.
Biochem Biophys Res Commun 61:605-612, 1974

76. Shinmei M, Ito K, Matsuyama S, Yoshihara Y, Matsuzawa K
Joint fluid carboxy-terminal type II procollagen peptide as a marker of cartilage collagen biosynthesis.
Osteoarthritis Cartilage 1:121–8, 1993

77. Månsson B, Carey D, Alini M, Ionescu M, Rosenberg LC, Poole AR
Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis.
J Clin Invest 95:1071–7, 1995

78. Song X, Zeng L, Jin W, Thompson J, Mizel DE, Lei K
Secretory leukocyte protease inhibitor suppresses the inflammation and joint damage of bacterial cell wall-induced arthritis.
J Exp Med 190:535–42, 1999

79. Kojima T, Mwale F, Yasuda T, Girard C, Poole AR, Laverty S
Early degradation of type IX and type II collagen with the onset of experimental inflammatory arthritis.
Arthritis Rheum 44:120–7, 2001

80. Fraser A, Fearon U, Billinghurst RC, Ionescu M, Reece R, Barwick T, Emery P, Poole R, Veale D
Turnover of Type II Collagen and Aggrecan in Cartilage Matrix at the Onset of Inflammatory Arthritis in Humans.
Arthritis & Rheumatism 48:3085–3095, 2003

81. Nagase H, Barrett AJ, Woessner JF, Jr
Nomenclature and glossary of the matrix metalloproteinases.
Matrix Suppl 1:421-424, 1992

82. Stürmer T, Brenner H, Koenig W, Günther KP
Severity and extent of osteoarthritis and low grade systemic inflammation as assessed by high sensitivity C reactive protein.
Ann Rheum Dis 63:200-5, 2004

83. Billinghurst RC, Dahlberg L, Ionescu M, Reiner A, Bourne R, Rorabeck C
Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage.
J Clin Invest 99:1534–45, 1997

84. Dean DD, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Howell DS, Woessner JF
Evidence for metalloproteinase and metalloproteinase imbalance in human osteoarthritic cartilage.
J Clin Invest 84:678-685, 1989

85. Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, Yamada H, Hayakawa T, Fujikawa K, Okada Y
Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis.
Ann Rheum Dis 59:455-61, 2000

86. Nagase H
Activation mechanisms of matrix metalloproteinases.
Biol Chem 378:151-160, 1997

87. Murphy G, Knauper V, Atkinson S, Butler G, English W, Hutton M
Matrix metalloproteinases in arthritic disease.
Arthritis Res 4:39–49, 2002

88. Pelletier M, Welsch DJ, Pelletier JP
Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases.
Best Pract Res Clin Rheumatol 15:805-829, 2001

89. Gross J, Harper E, Harris ED, McCroskery PA, Highberger JH, Corbett C, Kang AH
Animal collagenases: specificity of action, and structures of the substrate cleavage site.
Biochem Biophys Res Commun 61:605-612, 1974

90. Pelletier JP, Martel-Pelletier J
Osteoarthritis: from molecule to man.
Arthritis Res 4:13-19, 2002

91. Woessner JF
Matrix metalloproteinase inhibition. From the Jurassic to the third millennium.
Ann N Y Acad Sci 878:388-403, 1999

92. Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark MW
Metalloproteinases, tissue inhibitor, and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis.
Arthritis Rheum 36:181-9, 1993

93. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Reboul P, He Y, Jolicoeur FC
Modulation of TIMP-1 synthesis by antiinflammatory cytokines and prostaglandin E2 in interleukin 17 stimulated human monocytes/macrophages.
J Rheumatol 28:712-718, 2001

94. Martel-Pelletier JP, Pelletier JP
Wanted – the collagenase responsible for the destruction of the collagen network in human cartilage.
British Journal of Rheumatology 35:818-820, 1996

95. Lajeunesse D
The role of bone in the treatment of osteoarthritis.
Osteoarthritis Cartilage 12:34-8 2004

96. Sandell LJ
Articular cartilage and changes in Arthritis: Cell biology of osteoarthritis.
Arthritis Res 3:107-113, 2001

97. Hubbard MJS
Articular Debridement Versus Washout For Degeneration Of The Medial Femoral Condyle - A Five Year Study.
J Bone Joint Surg Br 78:217-219, 1996

98. Sasaki K, Matsumoto T, Matsushita T, Kubo S, Ishida K, Tei K, Akisue T, Kurosaka M, Kuroda R
Osteochondral autograft transplantation for juvenile osteochondritis dissecans of the knee: a series of twelve cases.
Int Orthop 36:2243-8, 2012

99. Danks L, Sabokbar A, Gundle R, Athanasou NA
Synovial macrophage-osteoclast differentiation in inflammatory arthritis.
Ann Rheum Dis 61:916-21, 2002

100. Aigner T, Zien A, Gehrsitz A, Gebhard PM, McKenna L
Anabolic and catabolic gene expression pattern analysis in normal versus osteoarthritic cartilage using complementary DNA-array technology.
Arthritis Rheum 44:2777–2789, 2001

101. Bau B, Gebhard PM, Haag J, Knorr T, Bartnik E, Aigner T
Relative messenger RNA expression profiling of collagenases and aggrecanases in human articular chondrocytes in vivo and in vitro.
Arthritis Rheum 46:2648–2657, 2002

102. Hembry RM, Bagga MR, Reynolds JJ, Hambirn DL.
Immunolocalization studies on six matrix metalloproteinases and their inhibitors, TIMP-1 and TIMP-2, in Synovia from patients with osteoand rheumatoid arthritis.
Ann Rheum Dis 54:25-32, 1995

103. Zacher J, Gursche A
Diagnostik der Arthrose.
Der Orthopäde 30:841-847, 2001

104. Roos EM, Lohmander LS
Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS): from joint injury to osteoarthritis.
Health Qual Life Outcomes 1:64, 2003

105. Kellgren JH, Lawrence JS
Radiological assessment of osteo-arthrosis.
Ann Rheum Dis 16:494-502, 1957

106. Wagenhäuser FJ
Die Arthrose aus klinischer Sicht.
Therapeutische Umschau 48:18–28, 1991

107. Bluteau G, Gouttenoire J, Conrozier T, Mathieu P, Vignon E, Richard M, Herbage D, Mallein-Gerin F
Differential gene expression analysis in a rabbit model of osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament (ACL) section.
Biorheology 39:247-58, 2002

108. Väätäinen U, Lohmander LS, Thonar E, Hongisto T, Agren U, Rönkkö S, Jaroma H, Kosma VM, Tammi M, Kiviranata I
Markers of cartilage and synovial metabolism in joint fluid and serum of patients with chondromalacia of the patella.
Osteoarthritis Cartilage 6:115-124, 1998

109. Schmidt-Rohlfing B
Welche Wertigkeit haben biochemische Marker des Knorpel- und Knochenmetabolismus bei der Diagnose und dem Verlauf der Gonarthrose?
Der Orthopäde 140:112, 2002

110. Sharif M, Shepstone L, Elson CJ, Dieppe PA, Kirwan JR.
Increased serum C reactive protein may reflect events that
precede radiographic progression in osteoarthritis of the knee.
Ann Rheum Dis 59:71–4, 2000

111. Bluteau G, Conrozier T, Mathieu P, Vignon E, Herbage D, Mallein-Gerin F
Matrix metalloproteinase-1, -3, -13 and aggrecanase-1 and -2 are differentially expressed in experimental osteoarthritis.
Biochim Biophys Acta 1526:147–158, 2001

112. Wei L, Fleming BC, Sun X, Teeple E, Wu W, Jay GD, Elsaid KA, Luo J, Machan JT, Chen Q
Comparison of differential biomarkers of osteoarthritis with and without posttraumatic injury in the Hartley guinea pig model.
J Orthop Res 28:900-6, 2010

113. Bischoff H-P, Heisel J, Locher H
Praxis der konservativen Orthopädie
Thieme Verlag, Stuttgart 2007

114. Jerosch J, Heisel J
Management der Arthrose
Deutscher Ärzte-Verlag, 2010

115. Kim KS, Lee YA, Choi HM, Yoo MC, Yang HI
Implication of MMP-9 and urokinase plasminogen activator (uPA) in the activation of pro-matrix metalloproteinase (MMP)-13.
Rheumatol Int 32:3069-75, 2012

116. Troeberg L Nagase H
Proteases involved in cartilage matrix degradation in Osteoarthritis.
Biochim Biophys Acta 1824:133–145, 2012

117. Rübenhagen R, Schüttrumpf JP, Stürmer KM, Frosch KH
Interleukin-7 levels in synovial fluid increase with age and MMP-1 levels decrease with progression of osteoarthritis.
Acta Orthopaedica 83:59–64, 2012

118. Heard BJ, Martin L, Rattner JB, Frank CB, Hart DA, Krawetz R
Matrix metalloproteinase protein expression profiles cannot distinguish between normal and early osteoarthritic synovial fluid.
BMC Musculoskeletal Disorders 13:126, 2012

119. Kim K, Choi H, Lee Y, Choi I, Lee S, Hong S
Expression levels and association of gelatinases MMP-2 and MMP-9 and collagenases MMP-1 and MMP-13 with VEGF in synovial fluid of patients with arthritis.
Rheumatol Int 31:543–547 2011

120. Koskinen A, Vuolteenaho K, Nieminen R, Moilanen T, Moilanen E
Leptin enhances MMP-1, MMP-3 and MMP-13 production in human osteoarthritic cartilage and correlates with MMP-1 and MMP-3 in synovial fluid from OA patients.
Clin Exp Rheumatol 29: 57–64 2011

121. Valdes AM, Spector TD
Genetic epidemiology of hip and knee osteoarthritis.
Nat Publ Group 7:23–32, 2010

122. Richette P, Poitou C, Garnero P, Vicaut E, Bouillot JL, Lacorte JM, Basdevant A, Clément K, Bardin T, Chevalier X
Benefits of massive weight loss on symptoms, systemic inflammation and cartilage turnover in obese patients with knee osteoarthritis.
Ann Rheum Dis 70:139–144, 2011

123. Lee AS, Ellman MB, Yan D, Kroin JS, Cole BJ, van Wijnen AJ, Im HJ
A current review of molecular mechanisms regarding osteoarthritis and pain.
Gene 527:440-7, 2013

124. Wang GW, Wang MQ, Wang XJ, Yu SB, Liu XD, Jiao K
Changes in the expression of MMP-3, MMP-9, TIMP-1 and aggrecan in the condylar cartilage of rats induced by experimentally created disordered occlusion.
Arch Oral Biol 55:887-95, 2010

125. Naito S, Takahashi T, Onoda J, Yamauchi A, Kawai T, Kishino J, Yamane S, Fujii I, Fukui N, Numata Y
Development of a Neutralizing Antibody Specific for the Active Form of Matrix Metalloproteinase-13.
Biochemistry 51:8877-84, 2012

126. Pozgan U, Caglic D, Rozman B, Nagase H, Turk V, Turk B
Expression and activity profiling of selected cysteine cathepsins and matrix metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis.
Biol Chem 391:571-9, 2010

127. La Pietra V, Marinelli L, Cosconati S, Di Leva FS, Nuti E, Santamaria S, Pugliesi I, Morelli M, Casalini F, Rossello A, La Motta C, Taliani S,Visse R, Nagase H, da Settimo F, Novellino E
Identification of novel molecular scaffolds for the design of MMP-13 inhibitors: A first round of lead optimization.
Eur J Med Chem 47:143-52, 2012

128. Gege C, Bao B, Bluhm H, Boer J, Gallagher BM, Korniski B, Powers TS, Steeneck C, Taveras AG, Baragi VM
Discovery and Evaluation of a Non-Zn Chelating, Selective Matrix Metalloproteinase 13 (MMP-13) Inhibitor for Potential Intra-articular Treatment of Osteoarthritis.
J Med Chem 55:709-16, 2012

129. Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP
Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice.
Lancet 377:2115-26, 2012

130. Goldring MB, Otero M, Plumb DA, Dragomir C, Favero M, El Hachem K, Hashimoto K, Roach HI, Olivotto E, Borzì RM, Marcu KB
Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: signals and multipleeffectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis.
Eur Cell Mater 21:202-20, 2011

131. Blasioli DJ, Kaplan DL
The Roles of Catabolic Factors in the Development of Osteoarthritis.
Tissue Eng Part B Rev 2013 Dec, (Epub vor Druck)

132. Aicher WK, Rolauffs B
The spatial organisation of joint surface chondrocytes: review of its potential roles in tissue functioning, disease and early, preclinical diagnosis of osteoarthritis.
Ann Rheum Dis 2013 Dec, (Epub vor Druck)

133. Mi M, Shi S, Li T, Holz J, Lee YJ, Sheu TJ, Liao Q, Xiao T
TIMP2 deficient mice develop accelerated osteoarthritis via promotion of angiogenesis upon destabilization of the medial meniscus.
Biochem Biophys Res Commun 423:366-72, 2012

134. Mobasheri A
The Future ofOsteoarthritis Therapeutics: Targeted Pharmacological Therapy.
Curr Rheumatol Rep 15:364, 2013

135. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE
Matrix metalloproteinases: role in arthritis.
Front Biosci 11:529-43, 2006

136. Johnson AR, Pavlovsky AG, Ortwine DF, Prior F, Man CF, Bornemeier DA, Banotai CA, Mueller WT, McConnell P, Yan C, Baragi V, Lesch C,Roark WH, Wilson M, Datta K, Guzman R, Han HK, Dyer RD
Discovery and Characterization of a Novel Inhibitor of Matrix Metalloprotease-13 That Reduces Cartilage Damage in Vivo without Joint Fibroplasia Side Effects.
J Biol Chem 282:27781-91, 2007

137. Meszaros E, Malemud CJ.
Prospects for treating osteoarthritis: enzyme-protein interactions regulating matrix metalloproteinase activity.
Ther Adv Chronic Dis 3:219-29, 2012

138. Mazzuca SA, Poole AR, Brandt KD, Katz BP, Lane KA, Lobanok T
Associations between joint space narrowing and molecular markers of collagen and proteoglycan turnover in patients with knee osteoarthritis.
J Rheumatol 33:1147-51, 2006

## 5.3 Danksagungen

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Carsten Perka für die Bereitstellung des sehr interessanten Themas und seiner Betreuung mit konstruktiven Hinweisen bei der Korrektur.
Des Weiteren bei Herrn Dr. med. Christian Dynybil für die Unterstützung zu jeder Tages- und Nachtzeit, das Vertrauen im Rahmen der Dissertation und die Möglichkeit mich in die Arbeitsgruppe frei einzubringen.

Von Herzen danke ich meiner Mutter. Ohne ihre Hilfe, Unterstützung und Mut wäre dies niemals möglich gewesen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Frau Katharina für ihre immerwährende Unterstützung, Motivation und dass sie mich nie aufgegeben hat.

Meinem Bruder Marcel danke ich, dass er immer für mich da ist.

Unvergesslich in Erinnerung an Helmut Vogler. Mhe mhe, ja ok, isch guat.

## 5.4 Tabellarischer Lebenslauf

„Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.“

## 5.5 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Mark Maxis, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **Prävalenz von pro-MMP-1, MMP-3, pro-MMP-13, TIMP-1, TIMP-2, C2C und CPII in Serum und Synovia nach traumatischer und chronischer Kniegelenksschädigung** selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.
Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -*www.**icmje**.org*) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum Unterschrift