

Aus dem Institut für Veterinär-Biochemie  
des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin  
und der Tierärztlichen Klinik Dresdner Heide

---

**BIOCHEMISCHE MARKER IN DER DIAGNOSTIK DER OSTEOARTHRITIS INFOLGE DES  
FRAGMENTIERTEN PROCESSUS CORONOIDEUS MEDIALIS ULNAE  
BEIM HUND**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der  
Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Cornelia Hurlbeck  
Tierärztin  
aus Dresden

Berlin 2011  
Journal-Nr.: 3499

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg  
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. R. Einspanier  
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg  
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. C. Lischer

*Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):*

dogs, joint diseases, elbows, dysplasia, osteoarthritis, biochemical markers,  
cartilage, synovial fluid

Tag der Promotion: 15.09.2011

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

ISBN: 978-3-86387-032-4

**Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2011**

Dissertation, Freie Universität Berlin

**D 188**

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2011

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

[verlag@menschundbuch.de](mailto:verlag@menschundbuch.de) – [www.menschundbuch.de](http://www.menschundbuch.de)

Meinen Eltern  
in  
großer Dankbarkeit

## INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>7</b>
<b>2. EINLEITUNG .....</b>	<b>9</b>
<b>3. LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>10</b>
3.1 Anatomie und Entwicklung des Ellbogengelenkes.....	10
3.2 Hyaliner Gelenkknorpel.....	12
3.2.1 Aufbau des hyalinen Gelenkknorpels .....	12
3.2.1.1 Chondrozyten .....	12
3.2.1.2 Extrazelluläre Matrix .....	13
3.2.2 Struktur des Gelenkknorpels .....	15
3.3 Synovialmembran und synoviales Milieu .....	15
3.3.1 Aufbau der Synovialmembran .....	15
3.3.2 Physiologie der Synovia .....	16
3.4 Fragmentierter Processus coronoideus medialis ulnae .....	17
3.4.1 Ätiologie und Pathogenese.....	17
3.4.2 Prävalenz, Rassen-, Alters-, Geschlechts- und Seitenverteilung .....	19
3.4.3 Diagnose .....	20
3.4.3.1 Klinische Symptomatik .....	20
3.4.3.2 Röntgen .....	20
3.4.3.3 Arthroskopie .....	21
3.4.3.4 Weitere diagnostische Verfahren .....	22
3.4.4 Therapie .....	22
3.5 Osteoarthritis.....	23
3.6 Biomarker der Osteoarthritis .....	24
3.6.1 Myeloperoxidase .....	25
3.6.2 Matrixmetalloproteinase-2 und -9 .....	27
3.6.3 CTX-II und C2C .....	29
3.6.4 CPII.....	30
<b>4. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>32</b>
4.1 Untersuchungsgut.....	32
4.2 Geräte und Materialien.....	33
4.3 Methodik.....	37
4.3.1 Röntgen .....	37
4.3.2 Arthroskopie .....	37

## INHALTSVERZEICHNIS

---

4.3.3	Aufbereitung und Untersuchung von Synovia und Serum.....	38
4.3.3.1	Zellzahlbestimmung.....	39
4.3.3.2	Proteinbestimmung.....	39
4.3.3.3	MPO-Aktivitäts-Assay.....	39
4.3.3.4	Gelatine-Zymographie.....	41
4.3.3.5	MMP-2 und MMP-9-Aktivitäts-Immuno-Assay.....	41
4.3.3.6	CTX-II-Immuno-Assay.....	42
4.3.3.7	C2C-Immuno-Assay.....	43
4.3.3.8	CPII-Immuno-Assay.....	43
4.4	Statistische Auswertung.....	44
<b>5.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>46</b>
5.1	Kontrolltiere.....	46
5.2	Patientengut.....	48
5.2.1	Rassen- und Geschlechtsverteilung.....	48
5.2.2	Alters- und Gewichtsverteilung.....	50
5.2.3	Röntgenologische und arthroskopische Befunde.....	51
5.3	Evaluierung der Parameter in der Synovia.....	53
5.3.1	Altersabhängigkeit.....	53
5.3.2	Zellzahl und Proteinkonzentration.....	56
5.3.3	MPO-Aktivität.....	58
5.3.4	Gelatine-Zymographie.....	60
5.3.5	MMP-2- und MMP-9-Aktivität.....	62
5.3.6	CTX-II-Konzentration.....	65
5.3.7	C2C-Konzentration.....	68
5.3.8	CPII-Konzentration.....	69
5.4	Evaluierung der Parameter im Serum.....	71
5.4.1	Altersabhängigkeit.....	71
5.4.2	MPO-Aktivität.....	73
5.4.3	CTX-II-Konzentration.....	75
5.5	Verlaufsuntersuchungen in der Synovia.....	76
5.6	Verlaufsuntersuchungen im Serum.....	79

## INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>6. DISKUSSION</b> .....	<b>80</b>
6.1 Untersuchungsgut.....	80
6.2 Proteinkonzentration und Zellzahl.....	83
6.3 Altersabhängigkeit der Biomarker.....	83
6.4 MPO-Aktivität.....	86
6.5 MMP-2- und MMP-9-Aktivität.....	88
6.6 CTX-II- und C2C-Konzentration.....	91
6.7 CPII-Konzentration.....	92
6.8 Verlaufsuntersuchungen.....	94
<b>7. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>96</b>
<b>8. SUMMARY</b> .....	<b>99</b>
<b>9. LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>101</b>
<b>10. ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b> .....	<b>126</b>
<b>11. TABELLENVERZEICHNIS</b> .....	<b>130</b>
<b>12. ANHANG</b> .....	<b>132</b>
<b>13. DANKSAGUNG</b> .....	<b>150</b>
<b>14. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG</b> .....	<b>152</b>

### 1. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

$\Delta E$	Extinktionsdifferenz
ABAH	4-Aminobenzoessäurehydrazid
APMA	4-Aminophenylquecksilberacetat
APS	Ammoniumperoxodisulfat
bzw.	beziehungsweise
BSA	Bovines Serum Albumin
C	Celsius
ca.	circa
Cl <sup>-</sup> /Cl <sub>2</sub>	Chlorid-Ion/Chlor
CaCl	Calciumchlorid
cm	Zentimeter
dl	Deziliter
DMSO	Dimethylsulfoxid
ED	Ellbogengelenksdysplasie
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
et al.	und andere
FCP	fragmentierter Processus coronoideus medialis ulnae
g	Gramm
Gew.	Gewicht
Gly	Glycin
h	Stunde
Hg	Quecksilber
HOCl	Hypochlorsäure
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
Hyp	Hydroxyprolin
I <sup>-</sup>	Jodid-Ion
IEWG	International Elbow Working Group
IQA	Interquartilsabstand
kg	Kilogramm
kDa	Kilodalton
Lig.	Ligamentum
l	Liter
L	links
m	männlich
Max	Maximum
mg	Milligramm
mk	männlich, kastriert
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

M	Molar
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
min	Minute
Min	Minimum
MMP	Matrixmetalloproteinase
Mo	Monat
MPO	Myeloperoxidase
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OA	Osteoarthritis
Outer	modifizierter Outerbridge Grad
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
pg	Picogramm
pH	negativer dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
Pro	Prolin
Proc./Procc.	Processus/Processi
R	rechts
rpm	revolutions per minute (Umdrehung pro Minute)
SDS	Natriumdodecylsulfat
sec	Sekunde
sex	Geschlecht
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethyldiamin
TMB	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
U	Units
UCP	isolierter Processus coronoideus medialis ulnae
V	Volt
w	weiblich
wk	weiblich, kastriert



## 2. EINLEITUNG

Der zum Komplex der Ellbogengelenksdysplasie zugeordnete fragmentierte Processus coronoideus medialis ulnae (FCP) ist eine primär degenerative Erkrankung junger, schnell wachsender, großrahmiger Hunderassen und stellt die häufigste Ursache für Lahmheiten des Ellbogengelenkes dar (Boulay, 1998; Janutta und Distl, 2008). Irreversible und progressiv verlaufende osteoarthritische Veränderungen führen schon im jugendlichen Alter zur Schmerz- und Bewegungseinschränkung der Hunde (Gemmill und Clements, 2007).

Die frühzeitige Diagnose und Therapie des FCP vor der Entwicklung von degenerativen Veränderungen am Gelenk ist für die Prognose essentiell (Bardet, 1997; van Ryssen et al., 1993). Neben der klinisch-orthopädischen Untersuchung ergänzen bildgebende Verfahren die derzeitige Diagnostik. Die Röntgenuntersuchung bereitet oft Schwierigkeiten und andere diagnostische Verfahren wie Computertomographie, Magnetresonanztomographie sowie Arthroskopie sind kostenintensiv und machen eine Allgemeinanästhesie erforderlich (Cook und Cook, 2009). Die Diagnose im Frühstadium der Osteoarthritis (OA) ist schwierig, da degenerative Prozesse in der Knorpelmatrix bereits beginnen, bevor Veränderungen des Gelenkknorpels sichtbar werden und durch bildgebende Verfahren detektiert werden können (Garvican et al., 2010b; Matyas et al., 2004).

Die Bestimmung von Biomarkern erlangt sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin zunehmende Bedeutung als wichtige diagnostische Methode, um frühzeitige Veränderungen am Gelenkknorpel zu erkennen, den Status der Gelenkdestruktion zu bestimmen und die Wirksamkeit therapeutischer Interventionen zu überwachen (Garnero et al., 2000).

Ziel dieser Studie ist es, potentielle Biomarker auf ihre Eignung als mögliche Parameter in der Diagnostik der OA infolge des FCP beim Hund zu analysieren und zu untersuchen, ob sie Aussagen zur Beurteilung des Grades der Gelenkdestruktion erlauben bzw. nachfolgend auch zur Bewertung therapeutischer Maßnahmen herangezogen werden können.

### 3. LITERATURÜBERSICHT

#### 3.1 Anatomie und Entwicklung des Ellbogengelenkes

Das Ellbogengelenk setzt sich aus dem Condylus humeri und den proximalen Anteilen von Radius und Ulna zusammen und stellt seiner Funktion nach ein vollkommenes Wechsel- oder Scharniergelenk dar. Durch Artikulation des Condylus humeri mit der Incisura trochlearis ulnae und dem Caput radii wird die Articulatio humeroulnaris und die Articulatio humeroradialis gebildet (König und Liebich, 2009; Nickel et al., 2004). Die Hauptfunktion des Humeroulnargelenkes besteht in der Rotationsstabilisierung, die durch Einrasten des Proc. anconeus ulnae in der caudal gelegenen Fossa olecrani des Humerus gewährleistet wird. So sind fast ausschließlich Extensions- und Flexionsbewegungen möglich. Für die geringgradig möglichen Pro- und Supinationsbewegungen im Unterarm sorgt die Articulatio radioulnaris proximalis. Sie wird von der Circumferentia articularis radii und der Incisura radialis ulnae, die nach lateral und medial in den Proc. coronoideus medialis und lateralis ulnae endet, gebildet (Boulay, 1998; König und Liebich, 2009), (Abbildung 1). Während früher angenommen wurde, dass der Radius 80% der vom Humerus übertragenen Last aufnimmt (Evans, 1993), geht man heute davon aus, dass sich Radius und Ulna die Last in einem Verhältnis von 1:1 teilen (Mason et al., 2005).

Der Epicondylus medialis und lateralis des Humerus stellen die Ursprünge des Lig. collaterale cubiti laterale und mediale dar, die mit jeweils zwei Schenkeln an Radius und Ulna inserieren. Das Lig. anulare radii, das den Radiuskopf innerhalb der Incisura radialis ulnae fixiert, entspringt am kranialen Caput radii und verläuft durch Unterkreuzen der Seitenbänder zwischen den Procc. coronoidei ulnae. Elle und Speiche sind durch proximale und distale Bänder fest verbunden (König und Liebich, 2009). Das Ellbogengelenk wird von einer an den Gelenkrändern inserierenden Capsula articularis umschlossen, die durch mediiodistal verlaufende Fasern an der Beugeseite zusätzlich verstärkt wird. Das Lig. olecrani, das zur Straffung der Gelenkkapsel beiträgt, entspringt in der Fossa olecrani und inseriert zwischen Tuber olecrani und Proc. anconeus ulnae (Nickel et al., 2004).

## LITERATURÜBERSICHT

Der jugendliche Ellbogen besteht aus 6 Wachstumsfugen. Der Zeitpunkt der Fusionierung dieser Ossifikationszentren ist rassespezifisch und durch äußere Faktoren beeinflussbar (van Herpen, 1988). Während der mediale und laterale Condylus des distalen Humerus mit etwa 6 Wochen fusioniert, schließt sich das Ossifikationszentrum des medialen Epicondylus im 6. Lebensmonat (Olsson, 1983). Die Wachstumsfugen des proximalen Radius, Olecranon und Proc. anconeus ulnae fusionieren jeweils im Alter von 20-44, 20-40 und 12-20 Wochen (Temwichitr et al., 2010). Die Ossifikation des Proc. coronoideus medialis ulnae erfolgt durch enchondrale Ossifikation von der Basis zur Spitze (Boulay, 1998) und ist rasseabhängig in der 16.-20. Lebenswoche abgeschlossen (Breit et al., 2004). Während der postnatalen Wachstumsphase kommt es durch die veränderte Belastung auf das Humeroulnar- und Radioulnargelenk sowie durch zunehmenden Stress auf das Lig. anulare zum Umbau der Trabekulae des Proc. coronoideus medialis ulnae (Wolschrijn und Weijs, 2004).

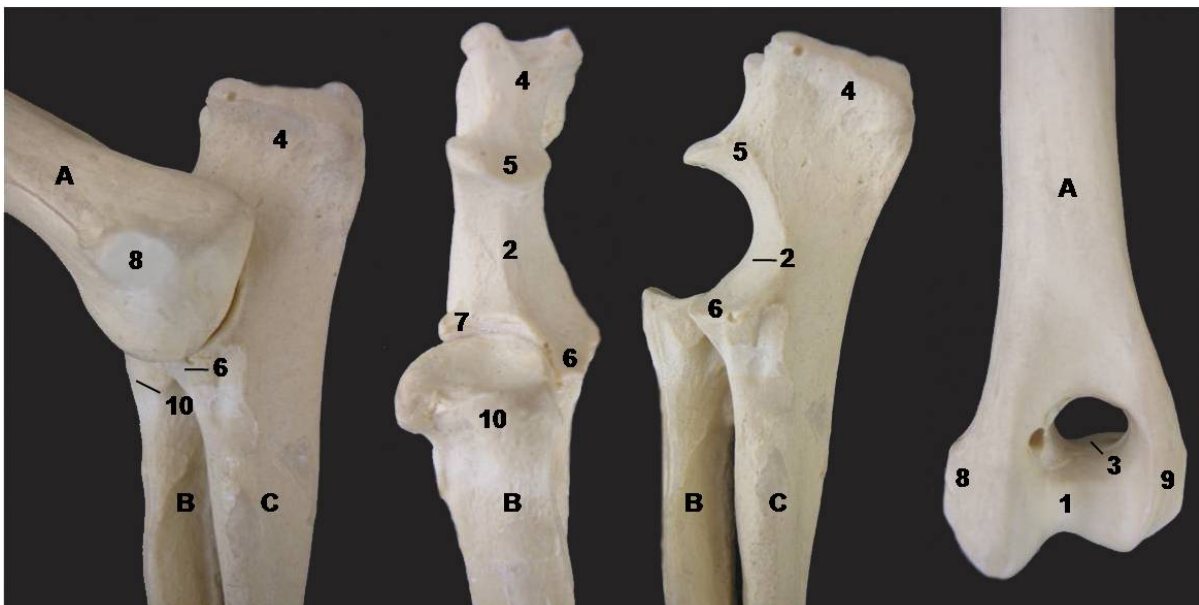


Abbildung 1: Darstellung der knöchernen Strukturen des Ellbogengelenkes (Hurlbeck, persönliches Bildmaterial).

A Humerus, B Radius, C Ulna, 1 Condylus humeri, 2 Incisura trochlearis ulnae, 3 Fossa olecrani, 4 Olecranon, 5 Processus anconeus ulnae, 6 Processus coronoideus medialis ulnae, 7 Processus coronoideus lateralis ulnae, 8 Epicondylus medialis humeri, 9 Epicondylus lateralis humeri, 10 Caput radii.

### **3.2 Hyaliner Gelenkknorpel**

#### **3.2.1 Aufbau des hyalinen Gelenkknorpels**

Hyaliner Gelenkknorpel ist ein hochspezialisiertes Gewebe, das die Oberfläche von artikulären Knochen in echten Gelenken überzieht (Jeffrey und Watt, 2003). Zusammen mit der Synovialmembran, der Synovia, der Gelenkkapsel, der periartikulären Muskulatur und dem subchondralen Knochen bildet er eine funktionelle Einheit. Die biomechanischen Eigenschaften des Knorpels, Kompressions-, Zug-, und Scherkräften zu widerstehen, werden durch sein viskoelastisches Verhalten erklärt, das von der Interaktion der einzelnen Matrixkomponenten abhängt (Rudert und Wirth, 1998).

Der Gelenkknorpel ist an konkaven Gelenkflächen peripher und an konvexen Gelenkflächen zentral verbreitert und weist im Ellbogengelenk des adulten Hundes eine durchschnittliche Stärke zwischen 0,76 und 0,85 mm auf (Holzer, 2008; Simon, 1970). Die strukturelle Grundlage des hyalinen Gelenkknorpels bilden Chondrozyten, die etwa 5% bis 10% (Hall et al., 1996; Vanwanseele et al., 2002) des Knorpelvolumens ausmachen, und die restliche extrazelluläre Matrix.

##### **3.2.1.1 Chondrozyten**

Chondrozyten sind spezialisierte Zellen, die sich aus mesenchymalen Stammzellen differenzieren. Nach Abschluss des Wachstums sind sie unfähig, sich im adulten, gesunden Knorpel zu teilen (Muir, 1995). Da Knorpelgewebe avaskulär und nicht innerviert ist, erfolgt die bradytrophe Ernährung durch Diffusion der Nährstoffe aus der angrenzenden Synovia (Frisbie, 2006). Aufgrund des Diffusionssystems wird die extrazelluläre Matrix von Chondrozyten unter vorwiegend anaeroben Bedingungen synthetisiert und erhalten (Muir, 1995). Die Zellen haben keinen interzellulären Kontakt, stehen aber mit der extrazellulären Matrix durch ihre in den perizellulären Raum ragenden Mikrovilli der Plasmamembran für den Stoffaustausch in Verbindung (Kuettner et al., 1982). Die strukturelle und funktionelle Einheit des Knorpels stellen Chondrone dar, die gruppenförmige Aggregate von Chondrozyten sind. Unter Bildung eines Knorpelhofes werden sie von einem Fibrillennetz schalenartig umgeben (Liebich, 2004).

### 3.2.1.2 Extrazelluläre Matrix

Mit einem Anteil von 60-85% des Feuchtgewichtes stellt Wasser die Hauptkomponente der extrazellulären Matrix dar (Bhosale und Richardson, 2008). Der Großteil davon befindet sich im Interzellularraum und liegt zu geringeren Teilen intrazellulär als auch an Kollagenfibrillen gebunden vor (Mow et al., 1984). Als weitere Komponenten werden drei Gruppen von Makromolekülen unterschieden, die zusammen etwa 20-40% des Knorpelgewichtes ausmachen. Den größten Anteil von 60% der Trockenmasse bilden die Kollagene, gefolgt von den Proteoglycanen mit 25-35% und den nicht-kollagenen Proteinen und Glycoproteinen mit 15-20% (ap Gwynn et al., 2002). Andere Autoren geben einen Kollagengehalt von 50-90% an (Lohmander, 1988; Muir, 1995).

Von den bisher 29 identifizierten Kollagentypen (Carter und Raggio, 2009) lassen sich im Gelenkknorpel die Kollagene Typ-II, -VI, -IX, -X und -XI (Gelse et al., 2003) sowie -I, -III und -V (Wachsmuth et al., 2006), -XVI (Kassner et al., 2004), -XII und -XIV (Eyre et al., 2006) nachweisen. Die Kollagenmoleküle bestehen aus jeweils drei etwa 1050 Aminosäuren langen Polypeptidketten ( $\alpha$ -Ketten), wobei Glycin, Prolin und Hydroxyprolin am häufigsten vertreten sind. Durch das sich häufig wiederholende Aminosäuremuster Gly-Pro-X bzw. Gly-X-Hyp wird eine Zusammenlagerung von jeweils drei dieser Helices zu einer sehr eng gepackten, rechtsgängigen Triple Helix, dem Tropokollagen, ermöglicht (Gelse et al., 2003; Muir, 1995). Eine um jeweils 67 nm versetzte, laterale Anordnung vieler Tropokollagen-Moleküle führt über intermolekulare, kovalente Querverbindungen zur Bildung von Kollagenfibrillen, die sich ihrerseits wiederum zu Kollagenfasern zusammenlagern. Die verschiedenen Kollagentypen unterscheiden sich durch die Kombination und Modifikation der  $\alpha$ -Ketten in der Tripelhelix (Frisbie, 2006).

Kollagen Typ-II gehört zu den fibrillenbildenden Kollagenen und stellt mit einem Anteil von etwa 80-95% das Hauptkollagen des hyalinen Knorpels dar (Bhosale und Richardson, 2008; Eyre, 2002). Als Homotrimer besteht es aus 3 identischen  $\alpha$ 1-Ketten, die eine 300 nm lange Tripelhelix formen. An ihren C- und N-terminalen Enden befindet sich je ein kurzes Telopeptid (Gelse et al., 2003). Kollagen Typ-II wird als längeres Prokollagen mit nicht-helikalen Amino- und Carboxylpeptiden synthetisiert und nach enzymatischer Abspaltung der C- und N-terminalen Propeptide durch spezifische Peptidasen in den Extrazellularraum sezerniert (Kuettner, 1992). Biologisch funktionelles, fibrilläres Kollagen entsteht durch eine

## LITERATURÜBERSICHT

---

Serie intra- und extrazellulärer, posttranslatinaler Modifikationen. Während der Fibrillogenese werden die Kollagen Typ-II-Moleküle durch Quervernetzungen untereinander und mit anderen Molekülen verbunden (Eyre et al., 2006).

Proteoglycane stellen eine Subgruppe von Glykokonjugaten mit großen strukturellen und funktionellen Unterschieden dar und bestehen zu etwa 80-94% aus Glycosaminoglycanen und zu 6-20% aus einem zentralen, fadenförmigen Kernprotein (Lohmander, 1988). Die Glycosaminoglycane des Gelenkknorpels sind die sulfatierten Glycosaminoglycane Chondroitinsulfat, Dermatansulfat, Keratansulfat und Heparansulfat sowie die nicht-sulfatierte Hyaluronsäure, die im Gegensatz zu den anderen Glycosaminoglycanen in freier Form vorliegt (Johnston, 1997; Rudert und Wirth, 1998). Die Proteoglycane des hyalinen Gelenkknorpels bilden die großen, aggregierenden Proteoglycane Aggrekan und Versikan sowie die kleineren, nicht-aggregierenden Proteoglycane wie Dekorin, Biglykan, Fibromodulin, Perlekan und das sogenannte „superficial zone protein“ (Roughley, 2001). Aggrekan stellt das wichtigste Proteoglycan im artikulären Knorpel dar. Es besteht aus einem Kernprotein, an das etwa 110 Chondroitinsulfat- und 30 Keratansulfatketten sowie N- oder O-gebundene Oligosaccharide kovalent gebunden sind (Lohmander, 1988). Aggrekan gehört zur Familie der Hyaluron-bindenden Proteine (Knudson und Knudson, 2001). Diese Proteoglycan-Hyaluronan-Aggregate sind durch ihre hohe Wasserbindungskapazität aufgrund der negativ geladenen Sulfat- und Carboxylatgruppen für die Elastizität des Gelenkknorpels und damit für die Toleranz gegenüber Kompressionskräften verantwortlich (Maroudas, 1976; Rudert und Wirth, 1998).

Die extrazelluläre Matrix enthält weiterhin eine Vielzahl von nicht-kollagenen Proteinen und Glycoproteinen wie Fibronectin, Link-Protein, „cartilage oligomeric matrix protein“ (COMP), Thrombospondin oder Anchorin, die für die Interaktion zwischen Chondrozyten und Matrix verantwortlich sind (Garvican et al., 2010a).

### **3.2.2 Struktur des Gelenkknorpels**

Je nach Organisation der Chondrozyten, Orientierung der Kollagenfibrillen und Proteoglycan-Zusammensetzung lassen sich 4 unterschiedliche Schichten am Gelenkknorpel unterscheiden (Rudert und Wirth, 1998). Die oberflächliche Tangentialfaserzone enthält ellipsoide Chondrozyten, die parallel zur Gelenkoberfläche ausgerichtet sind. Die ebenfalls parallele Anordnung der kollagenen Fibrillen ist nötig, um Zug-, Scher- und Druckkräften zu widerstehen. Die sich anschließende Übergangszone wird durch ovoide Chondrozyten, die sich teilweise zu Chondronen formieren, charakterisiert. Die als Radiärzone bezeichnete breiteste Schicht des Gelenkknorpels enthält Chondrozyten, die sich vertikal zu Säulenformen anordnen. Die in dieser Zone verlaufenden Kollagenfibrillen haben den größten Durchmesser und die höchste Konzentration an Proteoglycanen (Bhosale und Richardson, 2008; Rudert und Wirth, 1998). Zwischen Radiär- und Mineralisierungszone befindet sich die nur wenige  $\mu\text{m}$  dicke „Tide mark“, die eine Grenzlinie zwischen nicht-kalzifiziertem und kalzifiziertem Knorpel darstellt (Vanwanseele et al., 2002). Die Mineralisierungszone trennt den nicht-kalzifizierten Knorpel vom subchondralen Knochen (Rudert und Wirth, 1998). Die osteochondrale Verbindung wird dabei durch eine zementierte Schicht hergestellt, die eine Druckübertragung vom Gelenkknorpel auf den subchondralen Knochen gewährleistet (Liebich und König, 2005).

### **3.3 Synovialmembran und synoviales Milieu**

#### **3.3.1 Aufbau der Synovialmembran**

Die Gelenkkapsel besteht aus dem äußeren, derbfaserigen Stratum fibrosum und dem innen gelegenen Stratum synoviale. Das Stratum fibrosum, das sich in das angrenzende Perichondrium bzw. Periost fortsetzt, besteht aus straffem, kollagenfaserigem Bindegewebe und dient hauptsächlich der Stabilität. Das Stratum synoviale enthält Blut- und Lymphgefäße sowie Nerven und kleidet mit ihren Villi synoviales und Plicae synoviales die Gelenkhöhle aus (Liebich, 2004). Histologisch stellt das Stratum synoviale ein mesenchymales Gewebe dar, das sich aus der Intima synovialis und dem aus faserreichen Binde- und Fettgewebe bestehenden Stratum subsynoviale zusammensetzt. Die Intima synovialis, die aus A- und B-

## LITERATURÜBERSICHT

---

Zellen besteht, wird von der Subsynovialis nicht durch eine Basalmembran getrennt und ist aus ein bis vier Zellschichten aufgebaut (Frisbie, 2006; Garnero et al., 2000). Die Zellen haben keine interzellulären Verbindungen, so dass eine diskontinuierliche Zellschicht mit Interzellularspalten von mehreren  $\mu\text{m}$  entsteht (Levick, 1995). Während die Ultrastruktur der phagozytierenden A-Zellen der von Histiozyten entspricht, dienen die fibroblastenähnlichen B-Zellen der Synthese von spezifischen Kollagenen, Hyaluron und Fibronectin sowie der Sekretion der Synovia (Frisbie, 2006; Iwanaga et al., 2000). Typ B-Zellen sind die zahlenmäßig überlegenen Zellen der Synovialmembran und liegen in tieferen Schichten, während Typ A-Zellen an der Oberfläche der Synovialmembran lokalisiert sind. Als Übergangsform der beiden Hauptzellarten werden Intermediärzellen beschrieben (Iwanaga et al., 2000).

### **3.3.2 Physiologie der Synovia**

Dem Gelenkknorpel dient die Synovia nicht nur als Schmiermittel zur Verminderung der bei Gelenkbewegung entstehenden Reibung, sondern ebenso als Medium zum Transport von Nährstoffen und Stoffwechselendprodukten des Knorpels (Brannan und Jerrard, 2006; MacWilliams und Friedrichs, 2003). Als modifiziertes Dialysat des Blutplasmas enthält Synovia niedermolekulare Bestandteile wie Glucose, Elektrolyte, Laktat, Harnstoff und Kreatinin in vergleichbarer Zusammensetzung (Brannan und Jerrard, 2006; Perman, 1980). Während niedermolekulare Bestandteile von maximal 10 kDa durch die Intima synovialis in die Synovia diffundieren, gelangen makromolekulare Bestandteile, insbesondere Proteine, nur teilweise hindurch (Frisbie, 2006). Hyaluronsäure, die als Hyaluronat-Protein-Komplex vorliegt und von Synovialis-B-Zellen sezerniert wird, verleiht normaler Synovia ihre typische Viskosität (Lipowitz, 1985). Physiologische Synovia ist optisch farblos bis bernsteinfarben, klar und frei von Beimengungen. Gerinnungsfaktoren wie Fibrinogen, Prothrombin, Thrombin, Antithrombin, Faktor VII, Faktor V und Thromboplastin fehlen (Lipowitz, 1985; Parry, 1989). Die Menge zu aspirierender Synovia variiert je nach Gelenk und wird beim gesunden Hund zwischen 0,01 bis 1ml (Matyas et al., 2004; Sawyer, 1963) mit einem Mittelwert von 0,24 ml (Sawyer, 1963) angegeben. Die Proteinkonzentration normaler Synovia schwankt je nach Autor zwischen 1,8 g/dl und 4,8 g/dl (Lipowitz, 1985; MacWilliams und Friedrichs, 2003; Spellmeyer, 2003). Mit 60-75% des Gesamtproteins macht Albumin



## LITERATURÜBERSICHT

---

dabei den größten Anteil aus. Weiterhin lassen sich Globuline und Mucin nachweisen (Kleesiek, 1981). Die Gesamtzellzahl gesunder Synovia variiert je nach Autor und wird bis zu 3000 Zellen/ $\mu$ l angegeben (Lipowitz, 1985; Parry, 1989; Sawyer, 1963; Spellmeyer, 2003). Während im Differentialzellbild Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen dominieren, sind nur 10% polymorphkernige, neutrophile Granulozyten vertreten (Boon, 1997; Ellison, 1988). Erythrozyten sind in normaler Synovia nur in geringen Mengen vorhanden (Ellison, 1988; MacWilliams und Friedrichs, 2003). Der pH-Wert der Synovia liegt zwischen 7,0-7,8 (Lipowitz, 1985; MacWilliams und Friedrichs, 2003).

### **3.4 Fragmentierter Processus coronoideus medialis ulnae**

#### **3.4.1 Ätiologie und Pathogenese**

Der FCP wird dem Komplex der Ellbogengelenksdysplasie (ED) zugeschrieben. Diese fasst verschiedene Erkrankungen, die aufgrund von Entwicklungsstörungen zu Veränderungen und Missbildungen des Ellbogengelenkes führen, unter einem Begriff zusammen (Morgan et al., 2000). In Anlehnung an die IEWG werden neben dem FCP die Osteochondrosis dissecans der Trochlea humeri (OCD), der isolierte Processus anconaeus (IPA) und die Ellbogeninkongruenz in diesen Krankheitskomplex eingeordnet (Hazewinkel, 2009).

1974 erstmals von Olsson beschrieben, wird die Läsion aufgrund der Annahme eines separaten Ossifikationszentrums zunächst als „united coronoid process“ (UCP) bezeichnet (Olsson, 1974). Als histologische Untersuchungen belegen, dass eine Ossifikation des Proc. coronoideus medialis ulnae von der Basis zur Spitze hin erfolgt, wurde die Erkrankung später in „fragmentierter Processus coronoideus medialis ulnae“ umbenannt (Guthrie et al., 1992; Olsson, 1983). Im englischen Sprachgebrauch ist der Begriff „fragmented medial coronoid process“ (FCP bzw. FMCP) üblich (Cook und Cook, 2009; Janutta und Distl, 2008). Im Zusammenhang mit der Erkrankung werden von einigen Autoren die Begriffe „medial coronoid disease“ (Fitzpatrick und Yeadon, 2009; Moores et al., 2008), „medial coronoid process pathology“ (McCarthy, 2005) oder „medial compartment disease“ (Fitzpatrick et al., 2009c; Moores et al., 2008) verwendet, die jedoch keine Synonyme darstellen, sondern degenerative Veränderungen des gesamten medialen Gelenkbereichs beschreiben.

## LITERATURÜBERSICHT

---

Ätiologie und Pathogenese der Erkrankung sind nach wie vor umstritten und noch nicht vollständig geklärt (Temwicht et al., 2010). Der FCP wird als multifaktoriell verursachte, entwicklungsbedingte Erkrankung angesehen, die durch genetische, mechanische und metabolische Faktoren beeinflusst wird (Gemmill und Clements, 2007; Janutta und Distl, 2008; Samoy et al., 2006). In der Literatur werden verschiedene Theorien, die zur Entstehung des FCP führen, diskutiert.

Von einigen Autoren wird der FCP als Manifestationsform der Osteochondrose charakterisiert, die durch eine Störung der enchondralen Ossifikation des Proc. coronoideus medialis ulnae gekennzeichnet ist (Olsson, 1974; Wolschrijn et al., 2005). Als funktionelle Anpassung auf eine Überlastung der Gelenkflächen reagiert der Knorpel mit einer Proliferation der Chondrozyten. Infolge der verlängerten Diffusionsstrecke führt die Ernährungsstörung des Knorpels zu Nekrosen und Degenerationen in tieferen Abschnitten des hyalinen Knorpels (Bennett et al., 1981). Andere Studien können eine gemeinsame Pathogenese nicht bestätigen (Danielson et al., 2006; Goldhammer et al., 2010).

Einige Autoren nehmen als Ursache eine Rotationsinstabilität bzw. einen zu starken Muskelzug des Musculus biceps brachii am Proc. coronoideus medialis ulnae (Fitzpatrick und Yeadon, 2009) oder Abrissfrakturen des Proc. coronoideus medialis ulnae durch Zugkräfte des Lig. anulare (Wolschrijn und Weijs, 2004) an.

Ein weiterer diskutierter Pathomechanismus ist die Inkongruenz der das Ellbogengelenk bildenden Gelenkflächen (Gemmill und Clements, 2007; Samoy et al., 2006). Ein verzögertes Längenwachstum der proximalen Ulna führt zur Ausbildung einer elliptisch geformten Incisura trochlearis ulnae, die unfähig ist, den Humeruskondylus vollständig zu umfassen. Die Folge dieser humeroulnaren Inkongruenz ist eine Subluxation des Condylus humeri nach kranial mit Überlastung des Proc. coronoideus medialis ulnae (Wind und Packard, 1986). Beim Vorliegen einer radioulnaren Inkongruenz kommt es durch Radiusverkürzung zur Erweiterung des humeroradialen Gelenkspaltes (Brunnberg et al., 1999). Die dadurch entstehende intraartikuläre Stufe führt zur Subluxation des Humeruskondylus nach distal (Morgan et al., 2000; Samoy et al., 2006). Als Ursache des asynchronen Wachstums von Radius und Ulna wird von einigen Autoren ein frühzeitiger distaler Fugenschluss des Radius aufgrund von Traumata angenommen (Barr und Denny, 1985; Macpherson et al., 1992). Weiterhin wird die im fünften Monat auftretende sogenannte „Lag-Phase“ diskutiert, in der der Radius im Vergleich zur Ulna langsamer wächst. Die vorübergehende Stufenbildung im Gelenk, die eine Fragmentierung erklären könnte, wird

## LITERATURÜBERSICHT

---

später wieder ausgeglichen (Wind, 1982; Wind und Packard, 1986). Verschiedene Studien beschreiben eine Assoziation zwischen nachgewiesener Ellbogeninkongruenz und dem Auftreten des FCP (Brunnberg et al., 1999; Gemmill et al., 2005; Macpherson et al., 1992). Bei experimentell induzierter Radiusverkürzung konnte eine Zunahme der Belastung des medialen Proc. coronoideus nachgewiesen werden (Preston et al., 2001). Diese abnormale Biomechanik des Ellbogengelenkes führt zur Überbelastung des medialen Kompartements mit der Bildung von Mikrofrakturen im subchondralen Knochen (Danielson et al., 2006). Beim erwachsenen Hund kann der FCP auch sekundär aufgrund von Traumata entstehen (Gemmill und Clements, 2007).

### **3.4.2 Prävalenz, Rassen-, Alters-, Geschlechts- und Seitenverteilung**

Die Prävalenz der ED, einschließlich OCD, FCP, IPA und Ellbogeninkongruenz variiert rasseabhängig und wird weltweit mit mehr als 50% angegeben (Boulay, 1998; Janutta und Distl, 2008). Insbesondere sind mittelgroße und großwüchsige Rassen wie Rottweiler, Berner Sennenhunde, Neufundländer, Deutsche Schäferhunde, Labrador Retriever und Golden Retriever betroffen (Berzon und Quick, 1980; Janutta und Distl, 2008; Meyer-Lindenberg et al., 2002). Aber auch Mischlinge und kleinwüchsige Rassehunde können erkranken (Denny und Gibbs, 1980; Fitzpatrick et al., 2009b). Die ersten durch einen FCP bedingten Lahmheiten treten gewöhnlich im Alter zwischen 4 und 15 Monaten auf (Janutta und Distl, 2008; Morgan et al., 2000). Es sind jedoch auch Fälle mit ersten Manifestationen bei älteren Tieren bis zum 11. Lebensjahr bekannt (Berzon und Quick, 1980; Fitzpatrick et al., 2009b). Die Diagnose des FCP bei vorwiegend männlichen Tieren (Fitzpatrick et al., 2009b; Meyer-Lindenberg et al., 2002) wird durch die schnellere Gewichtszunahme von männlichen im Vergleich zu weiblichen Tieren im selben Zeitraum erklärt (Bennett et al., 1981; Walde und Tellhelm, 1991). Oft wird der FCP bilateral diagnostiziert (Brunnberg und Allgoewer, 1996; Fitzpatrick et al., 2009b; Meyer-Lindenberg et al., 2002) und eine Koexistenz mit anderen Läsionen aus dem Komplex der ED ist möglich (Gemmill und Clements, 2007; Morgan et al., 2000).

### **3.4.3 Diagnose**

#### **3.4.3.1 Klinische Symptomatik**

Klinisch zeigen die Hunde vor allem nach längeren Ruhephasen eine Steifheit des betroffenen Vorderbeines mit Schrittverkürzung. Nach kurzer Bewegungsphase laufen sich die Hunde oft ein, zeigen jedoch nach intensiverer Belastung eine Verschlechterung der Lahmheit (Berzon und Quick, 1980; Grondalen, 1979; Morgan et al., 2000). Während die Besitzer bei unilateraler Betroffenheit von intermittierenden Lahmheiten berichten (Bennett et al., 1981), haben sie bei beidseitiger Erkrankung Schwierigkeiten, die Lahmheit einer Gliedmaße zuzuordnen (Fehr und Meyer-Lindenberg, 1992; Grondalen, 1979). Im Stand ist eine Supinationsstellung der betroffenen Gliedmaße mit adduzierten Ellbogen und abduzierten Pfoten charakteristisch (Bennett et al., 1981; Fehr und Meyer-Lindenberg, 1992). Schmerzreaktionen können durch passive Hyperflexion und Hyperextension (Boulay, 1998; Fox et al., 1983) sowie durch Pronation der Pfote mit gleichzeitigem Druck auf den Proc. coronoideus medialis ulnae ausgelöst werden (Fehr und Meyer-Lindenberg, 1992; Fitzpatrick und Yeadon, 2009). Umfangsvermehrungen des Ellbogengelenkes durch vermehrte Gelenksfüllung und Gelenkkapselverdickung sind variabel und zwischen dem Epicondylus humeri lateralis und dem Olecranon palpierbar (Berzon und Quick, 1980; Boulay, 1998). Osteophytäre Zubildungen, die palpatorisch auch mit Pseudokrepitation einhergehen können, führen zu Streck- und Beugehemmungen (Morgan et al., 2000; Walde und Tellhelm, 1991). Das Ausmaß der röntgenologischen Veränderungen und die Schwere der Klinik sind nicht direkt proportional, so dass Hunde mit röntgenologisch starken osteoarthritischen Veränderungen zum Teil mildere Symptome als Hunde mit nur geringen Veränderungen aufweisen (Morgan et al., 2000).

#### **3.4.3.2 Röntgen**

Wegen seiner komplexen dreidimensionalen Anatomie ist die röntgenologische Projektion des Ellbogengelenkes schwierig (Cook und Cook, 2009). Die klinische Verdachtsdiagnose wird röntgenologisch oft nur anhand sekundärer Veränderungen bestätigt, wobei in der Literatur verschiedene Röntgenebenen empfohlen werden (Cook und Cook, 2009;

## LITERATURÜBERSICHT

---

Miyabayashi et al., 1995). Obwohl Schrägprojektionen vorgeschlagen werden, die die Darstellung des Proc. coronoideus medialis ulnae verbessern, ist keine röntgenologische Projektion in der Lage, den Proc. coronoideus medialis ulnae überlagerungsfrei darzustellen (Fitzpatrick et al., 2009b). Die Diagnosesicherung ist gerade im Anfangsstadium relativ schwierig, da eine Dislokation der Fragmente meist nicht vorliegt und Sekundärveränderungen im Sinne einer OA fehlen können (Grondalen, 1979; Meyer-Lindenberg et al., 2002; Olsson, 1983). Das Vorliegen von Fissuren oder eine partielle Fragmentierung erschweren die röntgenologische Diagnostik (Kirberger und Fourie, 1998) und dislozierte Fragmente lassen sich nur selten nachweisen (Meyer-Lindenberg et al., 2002). Auch röntgenologisch unauffällige Gelenke können eine Ellbogengelenkserkrankung nicht ausschließen, da sich Ellbogen mit einem FCP röntgenologisch normal (Lang et al., 1998; Punke et al., 2009) oder mit nur milder Sklerosierung der Incisura trochlearis ulnae (Meyer-Lindenberg et al., 2002; Smith et al., 2009) darstellen können. Röntgenologische Sekundärzeichen, die einen Hinweis auf das Vorliegen eines FCP geben, sind eine Sklerosierung der Incisura trochlearis ulnae sowie des caudalen Randes des Proc. coronoideus medialis ulnae aufgrund einer verdichteten Trabekelstruktur (Cook und Cook, 2009; Wolschrijn et al., 2005), eine intraartikuläre Stufe (Meyer-Lindenberg et al., 2002) sowie ein unscharf begrenzter, stumpfrandiger Proc. coronoideus medialis ulnae (Cook und Cook, 2009). Im fortgeschrittenen Stadium lassen sich Osteophytenformationen am Dorsalrand des Proc. anconeus, crainal am Caput radii, Epicondylus medialis und lateralis humeri sowie am Proc. coronoideus medialis ulnae darstellen (Miyabayashi et al., 1995; Morgan et al., 2000).

### **3.4.3.3 Arthroskopie**

Für die Diagnostik und Therapie wird die Arthroskopie als „Goldstandard“ für den Nachweis von Knorpeldefekten angesehen (Temwicht et al., 2010). Die Arthroskopie des Ellbogengelenkes, die erstmals von van Ryssen et al. (1993) beschrieben wurde, ermöglicht eine detaillierte Evaluierung des Ellbogengelenkes (van Bree und van Ryssen, 1995). Als minimalinvasives diagnostisches Verfahren dient sie der direkten Beurteilung des Proc. coronoideus medialis ulnae bevor sekundäre Zeichen einer OA röntgenologisch erkannt werden können (Punke et al., 2009; van Bree und van Ryssen, 1995). So können Fissuren

oder Frakturen des Proc. coronoideus medialis ulnae, Osteophyten, Knorpelveränderungen, intraartikuläre Stufen und Veränderungen der Synovialis diagnostiziert sowie eine Graduierung der OA vorgenommen werden (Bardet, 1997; Fitzpatrick et al., 2009b; van Ryssen und van Bree, 1997).

### **3.4.3.4 Weitere diagnostische Verfahren**

Weitere diagnostische Verfahren können die klinische und röntgenologische Diagnose ergänzen. Mit einer Sensitivität von 88,2% ermöglicht die Computertomographie eine bessere Visualisierung des FCP als die röntgenologische Diagnostik. Pathologische Veränderungen des Proc. coronoideus medialis ulnae lassen sich mit einer Empfindlichkeit von 83,3%-100% außerdem mittels Magnetresonanztomographie nachweisen (Temwichitr et al., 2010). Mit Hilfe der Szintigraphie werden pathologische Prozesse im Ellbogengelenk zwar diagnostiziert, jedoch ist der Nachweis wenig spezifisch für die Art der Erkrankung. Die sonographische Diagnostik in Hinblick auf das Vorliegen eines FCP ist limitiert (Cook und Cook, 2009; Gemmill und Clements, 2007).

### **3.4.4 Therapie**

Die frühe Diagnose und Therapie ist Voraussetzung, um eine Progression der OA zu verlangsamen (Haudiquet et al., 2002; Wind, 1986; Wind und Packard, 1986). Wegen seiner Verbindung zum Lig. anulare radii und der dadurch bedingten Gefäßversorgung, wird das Fragment nicht resorbiert (Olsson, 1983), so dass die Entfernung des Fragmentes mittels Arthrotomie (Bennett et al., 1981; Berzon und Quick, 1980) oder Arthroskopie (Bardet, 1997; Punke et al., 2009) das Mittel der Wahl darstellt. Die Prognose hängt vom Ausmaß des durch den FCP bedingten Gelenkschadens ab (Temwichitr et al., 2010).

Für die Korrektur der radioulnaren Inkongruenz wurden verschiedene Osteotomien beschrieben, die eine gleichmäßige Verteilung der intraartikulären Belastung ermöglichen (Samoy et al., 2006). Die intraartikuläre Stufe kann durch eine proximale Ulnaosteotomie ausgeglichen werden, die durch die Kraft des Musculus triceps brachii eine Verlagerung der proximalen Ulna nach kaudal ermöglicht, so dass die abnormale Belastung des medialen Proc. coronoideus aufgehoben wird (Gemmill und Clements, 2007). Bei Hunden, die jünger

## LITERATURÜBERSICHT

---

als 9 Monate sind, bevorzugen Vezzoni et al. (2002) eine distale Ulnaosteotomie. Eine weitere Methode ist die Radiusverlängerung, bei der durch Anheben des Radiusplateaus eine Entlastung des Proc. coronoideus medialis ulnae erreicht wird (Slocum und Pfeil, 2004). Durch Verlagerung der Belastung auf laterale Gelenkanteile mittels Humerusosteotomie wird eine Entlastung der medialen Gelenkanteile erzielt (Mason et al., 2008).

Die konservative Therapie der OA setzt sich aus Maßnahmen wie Reduktion von Übergewicht, kontrollierte Bewegung, physikalische Therapie und Physiotherapie zusammen. Medikamentell kommen nichtsteroidale und steroidale Entzündungshemmer oder Chondroprotektiva zum Einsatz (Brunnberg et al., 2007; Fitzpatrick und Yeadon, 2009; Gemmill und Clements, 2007; Morgan et al., 2000).

### **3.5 Osteoarthritis**

In der veterinärmedizinischen Literatur werden die Begriffe Osteoarthritis (OA), Osteoarthrose, Arthropathia deformans, Arthrosis deformans und degenerative Gelenkerkrankungen gleichbedeutend verwendet (Spreng und Schawalder, 1997). Wegen der Beteiligung von Entzündungsmediatoren und des sekundären entzündlichen Charakters ist in der englischsprachigen Literatur der Ausdruck Osteoarthritis gebräuchlich, der in die deutschsprachige Literatur weitgehend übernommen wird.

Die OA wird als chronische, degenerative, nicht-infektiöse Gelenkerkrankung mit Beteiligung des hyalinen Gelenkknorpels, des subchondralen Knochens, der Gelenkkapsel und der Synovialis definiert (Goldring und Goldring, 2010). Im normalen Gelenkstoffwechsel existiert ein Gleichgewicht zwischen anabolen und katabolen Prozessen. Eine minimale Störung des Gleichgewichtes führt zur Störung der Physiologie im Ellbogengelenk und der Induktion der OA (IEWG, 2001). Beim FCP entwickelt sich die OA infolge einer medialen Instabilität sowie chronischen Irritation des Ellbogengelenkes (Temwichitr et al., 2010). Die abnorme mechanische Belastung induziert osteochondrale Mikrofrakturen, eine zunehmende Degradation des artikulären Knorpels, einen Umbau des subchondralen Knochens sowie eine entzündliche Aktivierung der Synovialis (Henrotin et al., 2005). Das Resultat der Erkrankung ist eine irreversible und meist progressiv verlaufende OA des Ellbogengelenkes (Kirberger und Fourie, 1998). Diesen progressiven morphologischen Veränderungen, wie

Knorpelerosionen und Umbau des gelenknahen Knochens, gehen pathobiochemische Prozesse voraus (Henrotin et al., 2005). Die Integrität des Gelenkknorpels wird durch die Balance zwischen den von Zytokinen gesteuerten anabolischen und katabolischen Prozessen bestimmt. Als Antwort auf einen Reiz sezernieren Chondrozyten und Synoviozyten proinflammatorische Zytokine, wie Interleukin-1 $\beta$  und Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (Fernandes et al., 2002). Die Aktivierung der Zytokinkaskade stimuliert die Einwanderung von Entzündungszellen in den Gelenkspalt und induziert die Proliferation der Chondrozyten sowie die Hemmung der Proteoglycansynthese (Martel-Pelletier, 1999). Eingewanderte Leukozyten fördern die Aufrechterhaltung der Entzündungsprozesse und stimulieren die Freisetzung von degradativen Enzymen (Lipowitz, 1985; MacWilliams und Friedrichs, 2003).

### **3.6 Biomarker der Osteoarthritis**

Ein Biomarker ist ein objektiv messbarer Indikator eines normalen biologischen Prozesses, eines pathologischen Prozesses oder einer pharmakologischen Antwort auf eine therapeutische Intervention (Weir und Walley, 2006). Der ideale Biomarker sollte gewebs- und krankheitsspezifisch sein, Veränderungen im Krankheits- und Therapieverlauf sensibel anzeigen oder als prognostischer Marker herangezogen werden können (Garvican et al., 2010b).

Die Biomarker der OA lassen sich in die Gruppen der Entzündungsmediatoren, Enzyme sowie Synthese- und Degradationsprodukte der extrazellulären Matrix (Billinghurst et al., 1997; Hayashi et al., 2009) bzw. in Marker des Knochen- oder Knorpelstoffwechsels und Marker des Stoffwechsels der Synovialis (Rousseau und Delmas, 2007) einteilen. In der Pathogenese der OA führen degradative Prozesse zur Freisetzung von Fragmenten des hyalinen Gelenkknorpels, des subchondralen Knochens und der Synovialis. Diese Moleküle akkumulieren im Blut, Urin oder in der Synovia und können als molekulare Marker spezifische Stoffwechselvorgänge im Gelenk widerspiegeln (Garnero et al., 2000; Thonar, 1999). Da ein einzelner Biomarker keine umfangreiche Diagnostik der OA erlaubt, ist eine komplexe Analyse verschiedener Biomarker sinnvoller (Garvican et al., 2010b).

Für die Charakterisierung von spezifischen Umbauvorgängen am Gelenkknorpel eignen sich die Marker des Knorpelstoffwechsels (Charni-Ben Tabassi und Garnero, 2007), die entsprechend in Marker der Synthese oder Degradation von Kollagen Typ-II, Aggrecan,



## LITERATURÜBERSICHT

---

nichtaggrekanen und nichtkollagenen Proteinen, Proteasen und Inhibitoren eingeteilt werden (Rousseau und Delmas, 2007).

Kollagen Typ-II Biomarker nehmen als potentielle Marker in der Diagnostik der OA eine zentrale Rolle ein, da Kollagen Typ-II einerseits das Hauptprotein des artikulären Knorpels darstellt und zum anderen sehr spezifisch für hyalinen Knorpel ist (Henrotin et al., 2007). Im Rahmen der OA beim Hund wurden sowohl Marker der Kollagen Typ-II Synthese (Chu et al., 2002; Nemirovskiy et al., 2008) als auch degradative Marker des Kollagen Typ-II Stoffwechsels (Matyas et al., 2004; Prink et al., 2010) untersucht.

### 3.6.1 Myeloperoxidase

Mit mindestens 5% der Gesamttrockenmasse der Zelle wird die Myeloperoxidase (MPO) in den azurophilen Granula neutrophiler Granulozyten sowie in geringeren Mengen in Monozyten und in Subpopulationen von Gewebsmakrophagen gespeichert (Klebanoff, 1999). Die reife MPO, die durch proteolytische Spaltung aus der pro-MPO entsteht, ist ein Tetramer mit einem Molekulargewicht von 150 kDa und besteht aus 2 schweren  $\alpha$ -Ketten (59 kDa) mit kovalent gebundenen Hämgruppen sowie 2 leichten  $\beta$ -Ketten (12 kDa) (Klebanoff, 2005).

Die Infiltration und Aktivierung von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen als Antwort auf entzündliche Reaktionen in der Pathogenese der OA führt zur Aktivierung des MPO-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Chlorid-Systems (Steinbeck et al., 2007), wie in Abbildung 2 in Form eines Schemas dargestellt wird. Im Rahmen der Phagozytose wird das Enzym ins Lumen des Phagosoms abgegeben oder kann durch Sekretion extrazellulär agieren (Abe und Nagai, 1973; Klebanoff, 1999). Im Prozess des „respiratory burst“ kommt es in den Zellen zu einer gesteigerten Aufnahme von Sauerstoff, der durch die Katalyse mit Hilfe der NADPH-Oxidase in das Superoxidanion (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) umgewandelt wird (Hampton et al., 1996). Das Anionradikal wird spontan oder katalytisch durch die Superoxiddismutase in Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) überführt (Babior, 1999; Makino et al., 1986).

## LITERATURÜBERSICHT

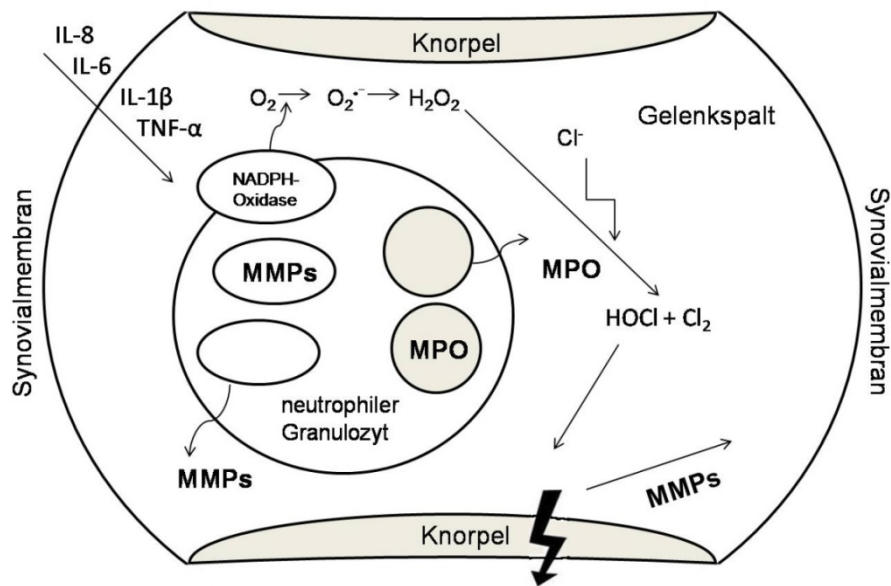


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Freisetzung der MPO durch Entzündungszellen [modifiziert nach Steinbeck et al. (2007)].

Als Substrat dient  $H_2O_2$  sowohl der Oxidation von Halogeniden ( $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ) als auch von Pseudohalogenid Thiocyanat zu Hypohalogenensäuren (Abu-Soud und Hazen, 2000; Klebanoff, 2005). Zwar besteht die höchste Affinität zu Iodid, aber Chlorid ( $Cl^-$ ) stellt aufgrund der höheren physiologischen Konzentration den wesentlichen Reaktionspartner dar (Klebanoff, 2005). Durch Induktion der Reaktion mit  $H_2O_2$  in Gegenwart von  $Cl^-$  wird bei physiologischem pH hypochlorige Säure ( $HOCl$ ) und Hypochlorit ( $OCl^-$ ) (Harrison und Schultz, 1976; Klebanoff, 2005) sowie unter sauren Bedingungen molekulares Chlor ( $Cl_2$ ) (Hazen et al., 1996) gebildet. Diese primären Produkte der Chloridoxidation sind starke Oxidantien, die für die Toxizität des MPO- $H_2O_2$ -Chlorid-Systems von wichtiger Bedeutung sind (Klebanoff, 1999).  $HOCl$  und  $Cl_2$  sind wesentlich aggressiver als  $H_2O_2$  und wirken als hochreaktive Oxidantien destruktiv, indem sie Kollagen Typ-II (Daumer et al., 2000) sowie Proteoglycane und deren Bestandteile (Rees et al., 2004) zerstören.  $HOCl$  führt zur Depolymerisierung der Hyaluronsäure und damit zum Viskositätsverlust der Synovia (Baker et al., 1989; Green et al., 1990).  $HOCl$  und  $Cl_2$  können außerdem mit primären Aminen zu Mono- und Dichloraminen reagieren, die sich zu Aldehyden umwandeln und ebenfalls als toxische Agentien wirken (Klebanoff, 2005). Mit der induzierten Aktivierung von Matrixmetalloproteinasen (Okada et al., 1992; Peppin und Weiss, 1986) und der

## LITERATURÜBERSICHT

---

Inaktivierung ihrer Inhibitoren (Shabani et al., 1998) übt die MPO einen indirekt negativen Effekt auf den Knorpelstoffwechsel aus.

Die Rolle der MPO bei Gelenkerkrankungen verschiedener Spezies wurde sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin untersucht. Beim Menschen konnten erhöhte MPO-Konzentrationen im Serum und in der Synovia von Patienten mit OA (Deberg et al., 2008; Steinbeck et al., 2007) bzw. rheumatoider Arthritis (Baskol et al., 2006; Nurcombe et al., 1991; Schiller et al., 1996) nachgewiesen werden. In der Veterinärmedizin wurden erhöhte MPO-Aktivitäten in der Synovia und im Serum bei Gelenkerkrankungen von Pferden (Fietz et al., 2008a) und Hunden (Bauer, 2006; Lammer, 2001; Spellmeyer, 2003; Wondratschek et al., 2009) ermittelt.

### **3.6.2 Matrixmetalloproteinase-2 und -9**

Die Matrixmetalloproteinasen (MMPs) repräsentieren eine Familie von calcium- und zinkabhängigen Endopeptidasen, die entsprechend ihrer Substratspezifität und strukturellen Gemeinsamkeiten in die Gruppen der Kollagenasen (MMP-1, -8, -13), Gelatinasen (MMP-2, -9), Stromelysine (MMP-3, -10), Matrilysine (MMP-7, -26, -11), membranständigen MMPs (MMP-14, -15, -16, -17, -24, -25) und andere, nicht klassifizierte MMPs (MMP-12, -19, -20, -21, -23, -27, -28) eingeteilt werden (Murphy und Nagase, 2008; Woessner, 2002).

Die MMPs werden als Prä-Proenzyme synthetisiert und unter Abspaltung des Signalpeptids als latente Proenzyme (Zymogene) sezerniert (Murphy und Nagase, 2008). Die Latenz dieser Enzyme wird durch einen Cystein-switch-Mechanismus realisiert, bei dem die Propeptid-Domäne über eine Cystein-Zink-Bindung das aktive Zentrum der katalytischen Domäne blockiert (Springman et al., 1990; Van Wart und Birkedal-Hansen, 1990). Die Aktivierung erfolgt über eine komplexe, streng regulierte proteolytische Kaskade, die zur Destabilisierung der Cystein-Zink-Interaktion und Konformationsänderung durch Abspaltung des Propeptids führt (Nagase, 1997; Springman et al., 1990). Die Aktivierung über den Cystein-switch kann in vitro und in vivo auf proteolytische Weise über Trypsin und Plasmin oder über eine Aktivierung durch andere MMPs erfolgen (Van Wart und Birkedal-Hansen, 1990). So kann die MMP-2 auch andere MMPs, wie die MMP-9, aktivieren (Fridman et al.,

## LITERATURÜBERSICHT

---

1995). Eine nicht-proteolytische Aktivierung ist unter anderem durch APMA, oxidiertes Glutathion, Harnstoff, SDS, Hitzeeinwirkung (Nagase, 1997) und bei entzündlichen Prozessen auch durch HOCl (Peppin und Weiss, 1986) möglich. Die Inaktivierung der MMPs wird hauptsächlich durch die als endogene Inhibitoren fungierenden sogenannten „tissue inhibitors of matrix metalloproteinases“ (TIMPs) moduliert (Brew und Nagase, 2010). Die TIMPs können auch als Aktivatoren fungieren, indem sie durch Komplexbildung mit latenten Enzymen interagieren. Durch Bildung eines trimolekularen Komplexes mit TIMP-2 und MMP-14 kann proMMP-2 aktiviert werden (Mort und Billington, 2001).

Als proteolytische Enzyme haben die MMPs die Fähigkeit zur Degradation der extrazellulären Matrix (Murphy und Nagase, 2008). Aufgrund dieser Eigenschaften kommt den MMPs eine bedeutende Rolle beim Gewebsumbau sowohl im Rahmen von physiologischen Prozessen wie der Embryogenese und Morphogenese, bei Wachstum und Wundheilung, als auch bei zahlreichen pathologischen Prozessen zu (Murphy und Nagase, 2008; Nagase und Woessner, 1999).

Bei Hunden sprechen verschiedene Studien für eine Beteiligung der MMPs bei Gelenkerkrankungen (Chu et al., 2002; Coughlan et al., 1998a; Marijnissen et al., 2002; Salinardi et al., 2006; Volk et al., 2003). Die proteolytische Spaltung der extrazellulären Matrix des artikulären Knorpels wird durch eine Reihe von Proteasen umgesetzt, die von Chondrozyten und Synovialzellen als Antwort auf entzündliche Stimuli freigesetzt werden (Mort und Billington, 2001). Den MMPs kommt eine entscheidende Bedeutung in der Knorpeldegradation durch Abbau von Kollagen Typ-II zu (Billinghurst et al., 1997; Charni-Ben Tabassi et al., 2008). Nach initialer Spaltung der Tripelhelix durch Kollagenasen denaturieren die gepalteten Kollagenfragmente spontan in nichthelikale Gelatine-Derivate und stehen den Gelatinasen MMP-2 und -9 zur weiteren Degradation zur Verfügung (Fosang et al., 2003; Mort und Billington, 2001).

MMP-2 und -9 zeigen ähnliche Substratspezifität und spalten neben denaturiertem Kollagen (Gelatine) auch natives Kollagen Typ-IV, -V, -XI, Laminin und das Aggrekan-Core-Protein. MMP-2 spaltet zusätzlich Kollagen Typ-I, -II und -III (Murphy und Nagase, 2008). Während die MMP-2 in Fibroblasten, Chondrozyten, Osteoblasten, Monozyten und in einer Vielzahl anderer Zellen exprimiert wird, erfolgt die Synthese der MMP-9 hauptsächlich in polymorphkernigen Leukozyten, Monozyten und Alveolarmakrophagen (Birkedal-Hansen et al., 1993).

## LITERATURÜBERSICHT

Erhöhte MMP-2- und MMP-9-Aktivitäten wurden in der Synovia bei Gelenkerkrankungen von Menschen (Makowski und Ramsby, 2003; Marini et al., 2003; Takei et al., 1999), Pferden (Clegg et al., 1997; Fietz et al., 2008b) und Rindern (Arıcan et al., 2000) nachgewiesen. Beim Hund existieren nur wenige Studien zur synovialen Aktivität der Gelatinasen (Coughlan et al., 1998a; Volk et al., 2003).

### 3.6.3 CTX-II und C2C

Die proteolytische und mechanische Beschädigung des fibrillären Netzwerkes ist das Schlüsselereignis in der Pathogenese der OA (Eyre, 2002). Der proteolytische Abbau von Kollagen Typ-II wird durch die Matrixmetalloproteinasen MMP-1, -8, -13 und -14 realisiert. Durch initiale Spaltung der Tripelhelix entstehen an den Spaltstellen 2 Fragmente von  $\frac{3}{4}$  und  $\frac{1}{4}$  der Länge des intakten Typ-II Kollagens (Billinghurst et al., 1997; Garvican et al., 2010b).

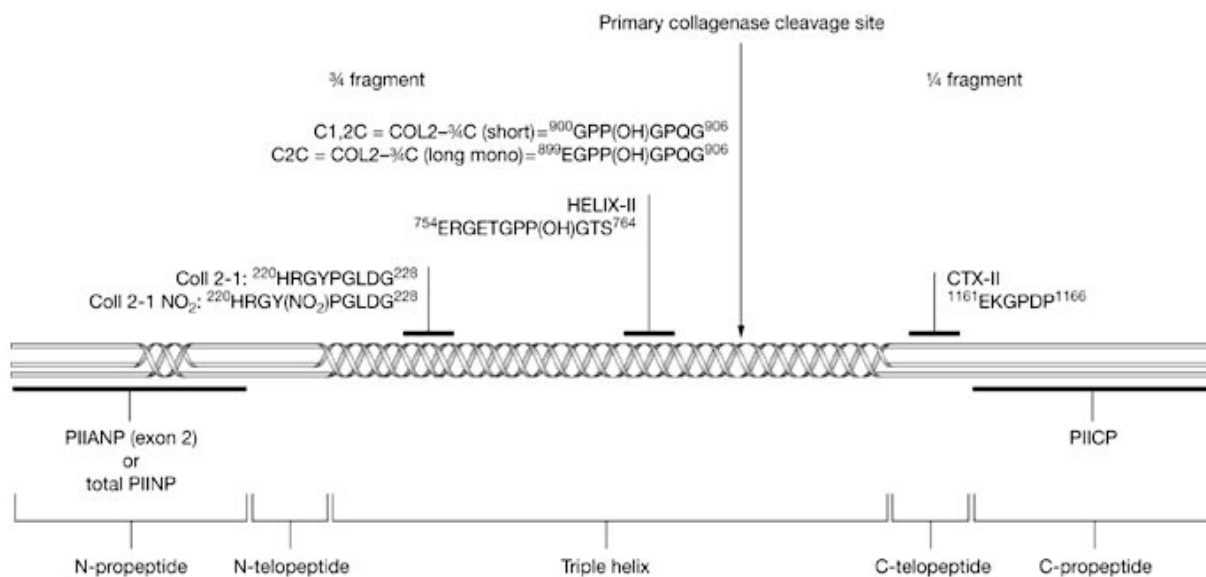


Abbildung 3: Schematische Darstellung der generierten Neoepitope bei der Spaltung von Kollagen Typ-II (Rousseau und Delmas, 2007).

## LITERATURÜBERSICHT

---

Col2-<sup>3</sup>/<sub>4</sub>C long mono (C2C) ist das bei der sekundären Spaltung von Kollagen Typ-II entstehende Neoepitop am carboxyterminalen Ende des <sup>3</sup>/<sub>4</sub> Längen-Kollagen Typ-II Spaltprodukts (Fosang et al., 2003). CTX-II ist ein für Kollagen Typ-II spezifisches 6-Aminosäuren-Epitop (EKGPDP) und befindet sich im Bereich der nicht-helikalen, carboxyterminalen Telopeptide des <sup>1</sup>/<sub>4</sub> Längen-Kollagen Typ-II Spaltprodukts (Elsaid und Chichester, 2006; Fosang et al., 2003) (Abbildung 3).

Da CTX-II und C2C als Endprodukte der Spaltung aus dem Knorpelgewebe freigesetzt werden, eignen sich diese knorpelabbauenden Biomarker, um degradative Umbauvorgänge am Gelenkknorpel zu charakterisieren (Rousseau und Delmas, 2007).

Erhöhte C2C- und/oder CTX-II-Konzentrationen konnten im Serum und/oder in der Synovia verschiedener Spezies mit OA nachgewiesen werden (Fietz, 2008; Huebner und Kraus, 2006; Kojima et al., 2001; Lindhorst et al., 2005; Song et al., 1999; Trumble et al., 2008). Beim Pferd zeigt sich eine positive Korrelation zwischen synovialer C2C-Konzentration und dem Grad röntgenologischer und arthroskopischer Veränderungen (Trumble et al., 2008). Im OA-Rattenmodell eignet sich CTX-II, um den Grad der Knorpeldegradation anzuzeigen (Oestergaard et al., 2006). Bei Verlaufsuntersuchungen im Serum und/oder in der Synovia von Hunden mit experimentell induzierter OA wurden erhöhte Konzentrationen von C2C (Chu et al., 2002; Goranov, 2007; Lopez et al., 2006; Matyas et al., 2004) und CTX-II (Matyas et al., 2004) nachgewiesen.

### **3.6.4 CPII**

Kollagen Typ-II wird als längeres Prokollagen mit nicht-helikalen Amino- und Carboxylpeptiden synthetisiert und während des Prozesses der Fibrillenbildung durch enzymatische Abspaltung der C- und N-terminalen Propeptide durch spezifische Peptidasen in den Extrazellulärraum sezerniert (Kuettner, 1992). Das als CPII oder PIICP bezeichnete C-terminale Propeptid besteht aus 3 identischen 35 kDa-Ketten und eignet sich als knorpelaufbauender Biomarker, um die Kollagen Typ-II Synthese des Gelenkknorpels zu charakterisieren (Elsaid und Chichester, 2006). Nelson et al. (1998) wiesen eine direkte Korrelation der CPII-Konzentration mit der Synthese von Kollagen Typ-II nach.

## LITERATURÜBERSICHT

---

CPII wird als potentieller Biomarker in der Diagnostik der OA sowohl beim Menschen (Kobayashi et al., 2000; Lohmander et al., 1996; Shinmei et al., 1993; Shinmei et al., 1995; Sugiyama et al., 2003) als auch bei Pferden (Frisbie et al., 2008) und Hunden (Trumble et al., 2003) beschrieben.

### **4. MATERIAL UND METHODEN**

#### **4.1 Untersuchungsgut**

In die Untersuchung wurden Synovia- und Serumproben von 159 Hunden (194 Gelenke) mit einem FCP einbezogen, die von März 2006 bis Dezember 2008 in der Tierklinik Dresdner Heide vorgestellt wurden. Die Diagnose FCP wurde durch die klinische, röntgenologische und arthroskopische Untersuchung gestellt. Bei einseitig erkrankten Tieren wurden ebenfalls Röntgenaufnahmen des kontralateralen gesunden Gelenkes angefertigt. Bei allen Tieren erfolgte die arthroskopische Entfernung des FCP. Den Tieren wurde postoperativ für 5 Tage ein Antibiotikum (5mg/kg Enrofloxacin, Baytril®) sowie für 14 Tage ein nichtsteroidales Antiphlogistikum (4 mg/kg Carprofen, Rimadyl®) oral verabreicht. Synovia- und Serumproben wurden 4 und 12 Wochen postoperativ für Verlaufsuntersuchungen entnommen und analysiert.

Als Kontrolltiere dienten 32 röntgenologisch unauffällige Hunde (62 Gelenke), die keine Anzeichen einer OA im Ellbogen- und Hüftgelenk aufwiesen.

Die Einzeldaten der Kontrolltiere sowie der Tiere mit FCP werden in Anhang 1a und 1b (Tabelle 10 und 11) zusammenfassend dargestellt.



## MATERIAL UND METHODEN

### 4.2 Geräte und Materialien

#### Geräte und Software

Name	Label	Firma
Arthroskop	Ø 2,4 (2,7) mm, Nutzlänge 85 (130) mm, Blickwinkel 30°	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Bildaufnahme	easyIMAGE XDR1	Canon Deutschland GmbH, Krefeld
Bildverarbeitungssoftware	easyIMAGE	VetZ GmbH, Hannover
Datenanalyse Software Microplate manager	Microplate Manager (Version 5.2.)	BioRad Laboratories GmbH, München
Elektrophorese	Power Supply 3540	Novex Electrophoresis GmbH, Frankfurt a.M..
Fasszangen	Arthroforce® III Take-Apart®	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Hakensonden	Hakenlänge 2 mm, Nutzlänge 8 cm	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Inkubator	Lab-Therm	Adolf Kühner AG, Basel
Kürette	Länge 21 cm	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Leukozytenpipette	Blutmischpipette Thoma, Leukozyten	Henry Schein Medical GmbH, Hamburg
Löffelzangen	gerade, im Schaft gebogen	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Microplate Reader	Model 550	BioRad Laboratories GmbH, München
Microplate Shaker	IKA®-Schüttler MIS 4	Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Staufen
Mikroskop	Axiostar plus	Carl Zeiss, Jena
Mini Gel Apparatur	Mini-Protean® 3 Cell system	BioRad Laboratories GmbH, München
Monitor	Trinitron® Model PVM	Sony GmbH, Hannover
Nasenzange nach Blakesley	Nutzlänge 11 cm, Größe 3	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Nahtmaterial	Suturamid, USP 3/0	Lehnecke GmbH & Co. KG, Schortens

Tabelle 1: Liste der verwendeten Geräte und Software.

## MATERIAL UND METHODEN

Name	Label	Firma
pH-Meter	Climatic 761	Knick Messgeräte GmbH & Co. KG, Berlin
Röntgeneinrichtung	Cosmos Universal	Mevatec GmbH, Güterglück
Shaver	power unit S1	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Spektralphotometer	SmartSpec™ Plus	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Spritze, 2ml	Norm-Ject®	Henke-Sass, Wolf GmbH, Tuttlingen
Standbildrecorder	DRK-700 P	Sony GmbH, Hannover
Statistikprogramm SPSS	PASW Statistics 17.0	SPSS GmbH Software, München
sterile Einmalkanülen	23 G x 1" – Nr. 16, 0,6mm x 25 mm	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg
Tasthaken	Nutzlänge 120 mm, Ø 2 mm	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Trokar	spitz, stumpf	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Universal-Zange	nach Blakesley, gerade	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Videokamera	Telecam® PAL	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Vortexer	Vibrofix VF 1 Electronic	Janke & Kunkel GmbH & CO. KG, Staufen
Xenonlichtquelle	Nova 175 Watt	Karl Storz GmbH & Co. KG, Heidelberg
Zentrifuge	EBA3 S	Hettich GmbH & Co KG, Tuttlingen
Zählkammer	Modell Neubauer	Henry Schein Medical GmbH, Hamburg

Fortsetzung Tabelle 1.

## MATERIAL UND METHODEN

### Chemikalien

Name	Label	Firma
ABAH	Myeloperoxidase Inhibitor 1	Calbiochem GmbH, Bad Soden
APMA	4-Aminophenylmercuric acetate, 90% Titration	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Acrylamid/Bis	Rotiphorese® Gel 30	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
APS	Ammoniumpersulfat	Merck KGaA, Darmstadt
Brij35	Brij® 35	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Bromphenol Blau	Bromphenol Blue	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
BSA	BSA standard solution 2 mg/ml 2-D Quant Kit	GE Healthcare Bio-Sciences Corp., USA
CaCl <sub>2</sub>	Calciumchlorid	Serva Feinbiochemica GmbH & Co., Heidelberg
C2C ELISA	Collagen Typ II Cleavage ELISA	IBEX Pharmaceuticals Inc., Kanada
CPII ELISA	Procollagen II C-Propeptide ELISA	IBEX Pharmaceuticals Inc., Kanada
CTX-II ELISA	Serum Pre-clinical Cartilaps® ELISA	IDS GmbH, Frankfurt a.M.
DMSO	Dimethylsulfoxid ≥ 99,5 %	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
EDTA	Ethylendiamintetraacetat ≥99 %	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Gelatine	Gelatin from cold water fish skin	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Glycerin	Glycerin ≥ 99,5 %	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Glycin	Glycin	USB Corporation Cleveland, USA
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hydrogenperoxid, 30 %	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
HCl	Salzsäure	Merck KGaA, Darmstadt
Isopropanol	2-Propanol ≥ 99,95%	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Kristallviolettlösung	Kristallviolettlösung	Dr. Hollborn & Söhne GmbH & Co. KG, Leipzig

Tabelle 2: Liste der verwendeten Chemikalien.

## MATERIAL UND METHODEN

Name	Label	Firma
MMP-2	Matrixmetalloproteinase-2 (MMP-2), Human	Invitek GmbH, Berlin
MMP-9	Matrixmetalloproteinase-9 (MMP-9), Human	Invitek GmbH, Berlin
MMP-2 Aktivitätsassay	Matrixmetalloproteinase-2 (MMP-2) Biotrak Activity Assay System	GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg
MMP-9 Aktivitätsassay	Matrixmetalloproteinase-9 (MMP-9) Biotrak Activity Assay System	GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg
MPO	Myeloperoxidase, Human Polymorphonuclear Leukocytes	Calbiochem GmbH, Bad Soden
Na-Citrat-2-Hydrat	Na-Citrat-2-Hydrat	Jenapharm GmbH & Co. KG, Jena
NaCl	Natriumchlorid	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
o-Diasinidine	o-Diasinidine	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Protein Assay	Quick Start™ Bradford Dye Reagent	Bio-Rad Laboratories GmbH, München
Protein Färbelösung	PageBlue™ Protein Staining Solution	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot
Proteinmarker	PageRuler™ Plus Prestained Protein Ladder	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot
SDS	Sodiumdodecylsulfat ≥ 99%	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin	Merck KGaA, Darmstadt
Tris	Tris ≥ 99,9 %	Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe
Triton X-100	Triton® X-100	Ferak Berlin GmbH, Berlin

Fortsetzung Tabelle 2.

## MATERIAL UND METHODEN

---

### 4.3 Methodik

#### 4.3.1 Röntgen

Röntgenologische Standardprojektionen wurden präoperativ unter Allgemeinanästhesie im mediolateralen und kraniokaudalen Strahlengang angefertigt und in Anlehnung an die Kriterien der International Elbow Working Group (IEWG) hinsichtlich Osteophytengröße an folgenden Gelenkstrukturen beurteilt: dorsal am Proc. anconeus, kranial am Caput radii, am Epicondylus medialis und lateralis humeri und am Proc. coronoideus medialis ulnae (Hazewinkel, 2008). Die Gradeinteilung wurde wie in Tabelle 3 dargestellt vorgenommen.

---

IEWG Grad	Beschreibung der Osteophytengröße
0	normaler Ellbogen, keine Osteophyten
1	Osteophyten < 2 mm und/oder Sklerosierung der Incisura trochlearis ulnae
2	Osteophyten 2-5 mm
3	Osteophyten > 5 mm

---

Tabelle 3: IEWG-Klassifikation zur Beurteilung der röntgenologischen Veränderungen (Hazewinkel, 2008).

#### 4.3.2 Arthroskopie

Der arthroskopische Eingriff erfolgte unter Allgemeinanästhesie mit 0,75 mg/kg Levomethadon in Kombination mit 0,3 mg/kg Xylazin und anschließender Inhalationsnarkose mit Isofluran. Die Lagerung erfolgte in Seitenlage mit nach kaudal ausgebundener, oben liegender Vordergliedmaße. Die zu arthroskopierende Gliedmaße wurde tischnah gelagert, so dass eine ausreichende Erweiterung des Gelenkspaltes durch Aufdehnung des Gelenkes über der Tischkante bei gleichzeitiger Supination der Gliedmaße gegeben war. Die Punktion des Ellbogengelenkes kaudomedial zwischen dem kaudalen Rand des medialen Condylus humeri und dem Olecranon mit einer Kanüle diente der Gewinnung der Synovia sowie dem Abfluss für die Spüllösung. Der Zugang für das Arthroskop lag ca. 1 cm distal und 0,5 cm kaudal des Epicondylus medialis humeri. Nach Überprüfung des korrekten Zugangs durch Punktion mittels Kanüle wurde die Trokarhülse durch Stichinzision der Haut mit

## MATERIAL UND METHODEN

---

eingesetztem, stumpfen Trokar ins Gelenk eingebracht und durch das Arthroskop ausgetauscht. 1 cm kranial des Arthroskops erfolgte der Zugang für die Instrumente. Die Untersuchung und Beurteilung des Gelenkes beinhaltete die Darstellung des Proc. coronoideus medialis ulnae, der Incisura trochlearis ulnae und des medialen Humeruskondylus. Pathologische Veränderungen des Gelenkknorpels wurden protokolliert und fotografisch dokumentiert. Beim Vorliegen von Fissuren des Proc. coronoideus medialis ulnae wurde das Fragment an der Fissurlinie durch Hammer und Meißel gelockert. Nachfolgend erfolgte die Entfernung aller freien Fragmente durch den Arbeitskanal. Nach Abschluss des minimalinvasiven Eingriffs wurde das Gelenk gespült und die Hautwunden mit nichtresorbierbarem Nahtmaterial verschlossen.

Die arthroskopischen Befunde des Gelenkknorpels wurden entsprechend Tabelle 4 nach der modifizierten Outerbridge-Klassifikation eingeteilt (Goldhammer et al., 2010).

---

modifizierter Outerbridge Grad	Beschreibung der Knorpelveränderung
0	Normalbefund, intakter Knorpel
1	Chondromalazie, Knorpelerweichung und -schwellung
2	oberflächliche Fibrillation und Fissuren des Knorpels
3	tiefe Fissuren des Knorpels
4	Vollschicht-Knorpelverlust bis zum subchondralen Knochen

---

Tabelle 4: modifizierte Outerbridge-Klassifikation [modifiziert nach Schulz (2003)] zur Beurteilung der Knorpelveränderungen (Goldhammer et al., 2010).

### 4.3.3 Aufbereitung und Untersuchung von Synovia und Serum

Die Aspiration der Synovia gelang durch Arthrozentese des Ellbogengelenkes kaudomedial zwischen dem kaudalen Rand des medialen Condylus humeri und dem Olecranon bei Pronation der gebeugten Pfote und damit Weitung des Gelenkspaltes. Nach Bestimmung der Zellzahl erfolgte die Zentrifugation der Synovia für 10 min bei 2500 g. Serum wurde unter aseptischen Kautelen durch Punktion der Vena cephalica gewonnen und bei Raumtemperatur für 10 min bei 1500 g zentrifugiert. Der zellfreie Überstand der Synovia und die Serumproben wurden vorübergehend im Labor der Tierärztlichen Klinik Dresdner Heide

## MATERIAL UND METHODEN

---

bei -20°C in Eppendorf-Röhrchen aufbewahrt und anschließend im Labor des Instituts für Veterinär-Biochemie der Freien Universität Berlin bei -80°C gelagert und untersucht.

### **4.3.3.1 Zellzahlbestimmung**

Zur Bestimmung der Gesamtzellzahl diente eine Neubauer Zählkammer. Die Leukozytenpipette wurde bis zur Marke 0,5 mit Synovia gefüllt und zur besseren Darstellung der Zellen mit 0,1 ml Kristallviolett in hypotoner Natriumchloridlösung (0,3%) bis zur Marke 11 gefüllt. Nach Verwerfen der ersten fünf Tropfen wurde die Neubauer Zählkammer mit einem Tropfen der 1:20 verdünnten Synovia beschickt. Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors und des ausgezählten Volumens ergab sich die Gesamtzellzahl durch Multiplikation der Summe aller in 4 Leukozytenquadranten gezählten Zellen mit 50. Die Zellzahl wurde in Zellen/ $\mu$ l angegeben.

### **4.3.3.2 Proteinbestimmung**

Die Proteinbestimmung in der Synovia sowie im Serum erfolgte mit dem Quick Start™ Farbreagenz (Bio-Rad) nach Bradford (1976). Als Standard diente bovines Serumalbumin (BSA). Die Proteinbestimmung erfolgte nach den Herstellerangaben und ermöglichte die Konzentrationsbestimmung im linearen Bereich einer BSA-Eichreihe von 0,3-1,5 mg/ml. Synovia wurde 1:40 und Serum 1:50 in Citratpuffer (pH 5,5) verdünnt und im Dreifachansatz analysiert. 2,5  $\mu$ l der Probe bzw. der Standards wurden mit 500  $\mu$ l Reagenz versetzt und 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Die Messung der Extinktion erfolgte bei 595 nm im Spektralphotometer gegen einen Leerwert (Luft). Die Proteinkonzentration wurde in mg/ml angegeben.

### **4.3.3.3 MPO-Aktivitäts-Assay**

Die Aktivität der MPO in der Synovia und im Serum wurde in Anlehnung an Kumar et al. (2002) photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm mit einem modifizierten o-Dianisidin-Assay bestimmt (Fietz et al., 2008a).

## MATERIAL UND METHODEN

---

Synovia und Serum wurden 1:3 bzw. 1:10 in Citratpuffer (pH 5,5) verdünnt und jeweils im Doppelansatz analysiert. Für die Messung der Gesamtperoxidaseaktivität wurden jeweils 60 µl der Probe mit Substrat (0,65 mM o-Dianisidin; 0,08 M Citratpuffer (pH 5,5); 0,1% Triton X-100) versetzt. Für die Messung der Peroxidaseaktivität mit Hemmung der MPO wurde zu dem Ansatz zusätzlich 30 µM des spezifischen Inhibitors ABAH zugegeben.

Nach Starten der Reaktion mit 0,43 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wurden 300 µl des Ansatzes in die Kavität einer Mikrotiterplatte überführt. Zur Ermittlung der jeweiligen Enzymaktivitäten (mit und ohne Inhibitor) erfolgte die Messung der Extinktionen in Zeitabständen von 5 min über insgesamt 25 min. Zur Berechnung der Peroxidaseaktivität kam folgende Formel zur Anwendung:

$$\text{Peroxidaseaktivität [U/ml]} = \frac{\Delta E \times V}{t \times \epsilon \times d \times v}$$

$\Delta E$   $E_{25 \text{ min}} - E_{0 \text{ min}}$  bei 450 nm

$V$  Volumen der Messlösung [µl]

$t$  Zeit [min]

$\epsilon$  spezifischer Extinktionskoeffizient bei einer Wellenlänge von 450 nm und 25°C [mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>]

$v$  Volumen der Probe [µl]

$d$  Schichtdicke der Küvette [cm]

Nach de Mendez et al. (1991) entspricht 1 Unit der Menge MPO, die 1 mM o-Dianisidin mit einem spezifischen Extinktionskoeffizient ( $\epsilon$ ) von 11,30 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> bei 460 nm innerhalb 1 min oxidiert. Da die Messungen bei 450 nm erfolgten, wurde ein entsprechender Extinktionskoeffizient ( $\epsilon$ ) von 11,48 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> berücksichtigt (Spellmeyer, 2003).

Die Extinktionsdifferenz der als Doppelansatz analysierten Probenpaare (mit und ohne Inhibitor) wurde gemittelt. Die Aktivität der MPO ergab sich durch Subtraktion der durch ABAH gehemmten Enzymaktivität von der Gesamtperoxidaseaktivität und wurde in U/ml angegeben. Als Standard diente humane MPO mit bekannter Konzentration. In Vorversuchen wurde die optimale Verdünnung von 1:3 für Synovia in sechs Verdünnungsstufen (1:1 bis 1:10) bzw. von 1:10 für Serum in fünf Verdünnungsstufen (1:5 bis 1:50) ermittelt.



### 4.3.3.4 Gelatine-Zymographie

Die Gelatine-Zymographie dient dem semiquantitativen Nachweis der gelatinolytischen Aktivität von MMP-2 und -9 in einer SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese und wurde in Anlehnung an die Methode nach Laemmli (1970) durchgeführt.

Gelatine wurde in einer Konzentration von 2,5 mg/ml in destilliertem Wasser durch kurzzeitige Inkubation bei 50°C gelöst und zu einer 10%igen SDS-Polyacrylamidlösung (10% Acrylamid/Bis; 0,375 M Tris/HCl (pH 8,8); 0,1% SDS; 0,5% APS; 0,25% TEMED) zugesetzt. Nach Polymerisierung des Trenngels erfolgte die Überschichtung mit Sammelgel (5% Acrylamid/Bis; 0,125 M Tris/HCl (pH 6,8); 0,1% SDS; 0,5% APS; 0,25% TEMED).

Synovia wurde in Verdünnungsstufen von 1:2, 1:5 und 1:20 mit Probenpuffer (0,05 M Tris/HCl (pH 6,8); 1,5% SDS; 5% Glycerol; 0,005% Bromphenol Blau) versetzt, für 1 h bei 37°C inkubiert und anschließend in die Geltaschen pipettiert. Die elektrophoretische Trennung der Proteine erfolgte im Elektrophoresepuffer (0,025 M Tris/HCl (pH 8,3); 0,2 M Glycin; 0,1% SDS) für 30 min bei 50 V und weiteren 3 h bei 150 V. Die Gele wurden in 2,5% Triton X-100 für 1 h bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend dreimal in destilliertem Wasser gewaschen. Nach Inkubation für 20 h bei 37°C im Entwicklungspuffer (0,05 M Tris/HCL (pH 7,6); 0,05 M CaCl<sub>2</sub>; 0,01 M NaCl; 0,05% Brij35) wurden die Gele dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen und für 1 h in PageBlue™ Protein Staining Solution gefärbt. Zum Vergleich des Molekulargewichtes wurde ein Protein-Marker sowie humane MMP-2 und MMP-9 als Referenz mitgeführt.

Eine Hemmung der gelatinolytischen Aktivität wurde durch Zufügen von 0,05 M EDTA in den Entwicklungspuffer erreicht. Die Zymogramme stellen die gelatinolytisch aktiven Peptidasen in Negativ-Färbung (Entfärbung bei MMP-Aktivität) dar.

### 4.3.3.5 MMP-2 und MMP-9-Aktivitäts-Immuno-Assay

Die Durchführung der Aktivitäts-Immuno-Assays zur Messung der MMP-2 und MMP-9 erfolgte nach dem Protokoll des Herstellers (MMP-2/-9 Biotrak Activity Assay System; GE Healthcare Europe GmbH, Freiburg).

Die Standardreihe wurde durch Verdünnung der pro-MMP-2 bzw. pro-MMP-9 in Assay-Puffer über den Konzentrationsbereich von 0,75 bis 24 ng/ml bzw. von 0,125 bis 4 ng/ml

## MATERIAL UND METHODEN

---

hergestellt. Für die Messung der Gelatinase-Aktivitäten in der Synovia wurden die Proben 1:40 (MMP-2) bzw. 1:2 (MMP-9) in Assay-Puffer verdünnt. Aufgrund des geringen Probenvolumens konnten die Proben nur im Einfachansatz analysiert werden.

Auf eine mit Anti-MMP-2- bzw. Anti-MMP-9-Antikörper beschichtete 96-well Mikrotiterplatte wurden 100 µl der Standards und der Proben in jede Kavität pipettiert. Nach einer Inkubation bei 4°C über Nacht wurden alle wells viermal mit Waschpuffer gespült. Durch Zugabe von 50 µl APMA je well wird pro-MMP-2/-9 zu aktiver MMP-2/-9 umgewandelt. Zu dem Ansatz wurden 50 µl Detektionsreagenz, bestehend aus Pro-Urokinase und ihrem Substrat S-2444 Peptid, je Kavität zugegeben. Das Pro-Detektionsenzym besitzt eine artifizielle Aktivierungssequenz, die für MMPs spezifisch ist. Nach Bindung von MMP-2/-9 an diese Sequenz erfolgt ihre proteolytische Aktivierung.

Die Extinktionen wurden bei 405 nm zum Zeitpunkt  $t_0$  und  $t_1$  (MMP-2 nach 3 h; MMP-9 nach 2 h) bei 37°C ermittelt. Der Vergleich der Ergebnisse mit der Standardkurve ermöglichte die Bestimmung der Menge an aktiver MMP-2 und -9 in ng/ml.

### 4.3.3.6 CTX-II-Immuno-Assay

Die Durchführung des Immuno-Assays erfolgte in Anlehnung an das Protokoll des Herstellers (Serum Pre-clinical Cartilaps® ELISA; IDS GmbH, Frankfurt a.M.).

Die Standardreihe wurde durch Verdünnung des CTX-II Standards in PBS-Puffer (0 bis 247,6 pg/ml) hergestellt. Nach Testung verschiedener Verdünnungsstufen in PBS-Puffer wurde eine optimale Verdünnung von 3:1 für Synovia und 1:5 für Serum ermittelt. Die Proben wurden im Doppelansatz analysiert.

100 µl eines für CTX-II spezifischen biotinylierten, monoklonalen Maus-Antikörpers wurden in jede Kavität einer mit Streptavidin beschichteten 96-well Mikrotiterplatte pipettiert. Nach Inkubation über einen Zeitraum von 30 min bei Raumtemperatur auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler bei 300 rpm wurden die Immunostrips mit Phosphat-Puffer gewaschen und 25 µl der Standards bzw. Proben sowie 100 µl Pufferlösung in die Kavitäten pipettiert. Nach Inkubation der Proben über 60 min bei Raumtemperatur auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler bei 300 rpm wurden 100 µl des Peroxidase-konjugierten murinen, monoklonalen Antikörpers in jede Kavität pipettiert. Die Mikrotiterplatte wurde erneut für 60 min bei Raumtemperatur und 300 rpm inkubiert und anschließend mehrmals gewaschen. Nach Zugabe von 100 µl

## MATERIAL UND METHODEN

---

TMB je Kavität und Inkubation bei Raumtemperatur für 15 min im Dunkeln wurde die Farbreaktion mit 100 µl 0,18 mol/l Schwefelsäure gestoppt. Die Messung der Extinktion erfolgte bei 450 nm. Die CTX-II-Konzentration wurde in pg/ml angegeben.

### **4.3.3.7 C2C-Immuno-Assay**

Die Durchführung des Immuno-Assays erfolgte in Anlehnung an das Protokoll des Herstellers (Collagen Typ II Cleavage ELISA; IBEX Pharmaceuticals Inc., Kanada).

Die Standardreihe wurde durch Verdünnung des C2C Standards in Assay-Puffer in Konzentrationen von 0 bis 1000 ng/ml hergestellt. Aufgrund des geringen Probenvolumens der Synovia wurden die Proben unverdünnt im Einfachansatz analysiert.

50 µl der Standards und Proben wurden zusammen mit 50 µl eines für C2C spezifischen monoklonalen Maus-Antikörpers auf eine Polypropylen-Platte gegeben und für 30 min bei Raumtemperatur auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler bei 600-700 rpm inkubiert. Jeweils 80 µl wurden auf die korrespondierenden Kavitäten einer mit synthetischem C2C Neo-Epitop beschichteten 96-well Mikrotiterplatte übertragen und erneut bei Raumtemperatur für 60 min auf dem Schüttler bei 600-700 rpm inkubiert. Die Platte wurde dreimal gewaschen und für 30 min bei Raumtemperatur mit je 100 µl Ziege anti-Maus konjugierter Meerrettich-Peroxidase (GAM-HRP) bei 600-700 rpm inkubiert. Nach mehreren Waschvorgängen wurde die Platte mit 100 µl TMB versetzt. Der Substratumsatz wurde nach 30 min Inkubation bei Raumtemperatur und 600-700 rpm durch Zugabe von 100 µl 0,2 M Schwefelsäure gestoppt. Die Extinktion wurde bei 450 nm gemessen. Die C2C-Konzentration wurde anhand der Standardkurve in ng/ml angegeben.

### **4.3.3.8 CPII-Immuno-Assay**

Die Durchführung des Immuno-Assays erfolgte in Anlehnung an das Protokoll des Herstellers (Procollagen II C-Propeptid ELISA; IBEX Pharmaceuticals Inc., Kanada).

Die Standardreihe wurde durch Verdünnung des CPII Standards in Assay-Puffer in Konzentrationen von 0 bis 2000 ng/ml hergestellt. Nach Testung verschiedener Verdünnungsstufen in Assay-Puffer wurde eine optimale Verdünnung von 1:2 für Synovia ermittelt.

## MATERIAL UND METHODEN

---

50 µl der Standards und der Proben wurden zusammen mit 50 µl eines für CPII spezifischen polyklonalen Kaninchen-Antikörpers auf eine 96-well Polypropylen-Platte gegeben und für 30 min bei Raumtemperatur auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler bei 650 rpm inkubiert. Jeweils 80 µl wurden auf die korrespondierenden Kavitäten einer mit bovinem CPII beschichteten 96-well Mikrotiterplatte übertragen und erneut bei Raumtemperatur für 120 min auf dem Schüttler bei 650 rpm inkubiert. Die Platte wurde dreimal gewaschen und mit 100 µl Meerrettich-Peroxidase konjugiertem Ziege anti-Kaninchen-IgG (GAR-HRP) versetzt. Nach Inkubation über 30 min bei Raumtemperatur und 650 rpm erfolgte ein erneuter Waschvorgang mit anschließender Zugabe von 100 µl TMB. Der Substratumsatz wurde nach 30 min Inkubation bei Raumtemperatur und 650 rpm durch Zugabe von 100 µl 0,2 M Schwefelsäure gestoppt. Nach Messung der Extinction bei 450 nm wurde die CPII-Konzentration anhand der Standardkurve in ng/ml ermittelt.

### 4.4 Statistische Auswertung

Die grafische Darstellung und statistische Analyse der Daten erfolgte mit Hilfe des Statistikprogramms SPSS 17 (SPSS GmbH Software, München) im Institut für Biometrie des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.

Die Daten der Kontrolltiere und des Patientenguts wurden in Tabellenform oder im Kreisdiagramm dargestellt (Kapitel 5.1-5.2).

Die grafische Darstellung der verschiedenen biochemischen Parameter erfolgte durch Erstellung von Streudiagrammen oder Boxplots (Kapitel 5.3-5.5).

Die Länge der Box entspricht dem Interquartilsabstand und markiert den Bereich zwischen dem 25%-Perzentil und dem 75%-Perzentil, in dem die mittleren 50% der Daten liegen. Der Median ist durch eine horizontal verlaufende Linie innerhalb der Box markiert und kennzeichnet das 50%-Perzentil. Die Whisker werden auf beiden Seiten der Box in maximal 1,5-facher Länge dargestellt. Werte, die mehr als das 1,5-fache außerhalb der Box liegen, werden als Ausreißer [°] und Werte, die mehr als 3 Kastenlängen außerhalb liegen, als Extremwerte [\*] gekennzeichnet.

## MATERIAL UND METHODEN

---

Statistische Tests wurden ab einer Fallzahl von  $n \geq 6$  angewendet. Die Lagemaße Minimum (Min), Maximum (Max), Median und Interquartilsabstand (IQA) wurden ermittelt und tabellarisch gelistet (Anhang 2-7). Bei einer Fallzahl von  $n < 6$  wurde auf statistische Tests verzichtet und lediglich die Lagemaße Minimum, Maximum und Median angegeben. Der statistischen Auswertung wurden nicht-normalverteilte Daten zugrunde gelegt. War die Überschreitungswahrscheinlichkeit  $p$  kleiner als das festgelegte Signifikanzniveau  $\alpha=0,05$ , gelten die Gruppen bezüglich der Lage der Verteilung als statistisch unterschiedlich (\*  $0,010 < p \leq 0,050$ ; \*\*  $0,001 < p \leq 0,010$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$ ).

Für einen Vergleich der Aktivität bzw. Konzentration der Biomarker des rechten und linken Ellbogengelenkes des Einzeltieres wurde die Differenz der Messungen beider Gelenke der Kontrolltiere bzw. der Tiere mit einseitig erkranktem Gelenk und kontralateralem gesunden Gelenk ermittelt. Für den statistischen Vergleich der verbundenen Stichproben wurde der Wilcoxon-Test verwendet.

Für den statistischen Vergleich zwischen Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP wurden repräsentative Messwerte erstellt. Bei beidseitig punktierten Ellbogengelenken der Kontrolltiere bzw. bei beidseitig erkrankten Tieren charakterisieren diese die Messwerte des rechten Ellbogengelenkes. Für den statistischen Vergleich der unabhängigen Stichproben kam der Mann-Whitney-U-Test zur Anwendung.

Um die einzelnen Parameter in Abhängigkeit vom IEWG Grad und modifizierten Outerbridge Grad in der Synovia vergleichen zu können, wurden in die statistische Auswertung die Messungen aller Gelenke einbezogen. Um die einzelnen Parameter in Abhängigkeit vom IEWG Grad und modifizierten Outerbridge Grad im Serum vergleichen zu können, wurden bei beidseitig betroffenen Tieren der höhere IEWG Grad bzw. der höhere modifizierte Outerbridge Grad für die statistische Auswertung verwendet. Der Zusammenhang zwischen den einzelnen IEWG Graden und den modifizierten Outerbridge Graden wurde mittels H-Test nach Kruskal und Wallis ermittelt.

Für statistische Korrelationen wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman berechnet. Für die Interpretation der Stärke des Zusammenhangs wurden folgende Bereiche definiert:  $\leq 0,20$  sehr geringe Korrelation;  $\leq 0,50$  geringe Korrelation;  $\leq 0,70$  mittlere Korrelation;  $\leq 0,90$  hohe Korrelation;  $> 0,90$  sehr hohe Korrelation (Bühl, 2006).

## ERGEBNISSE

---

### 5. ERGEBNISSE

#### 5.1 Kontrolltiere

Die Rassen- und Geschlechtsverteilung der Kontrolltiere (Gelenke) ist in Tabelle 5 dargestellt. Insgesamt wurden 50,0% männliche und 50,0% weibliche Tiere acht verschiedener Rassen untersucht. Zwei der Hündinnen waren kastriert. Das Gewicht der Kontrolltiere betrug 19,7 kg bis 44,5 kg. Der Median lag bei 26,15 kg.

Rasse	Anzahl Tiere (Gelenke)	Prozent Tiere (Gelenke)	Anzahl m. Tiere (Gelenke)	Anzahl w. Tiere (Gelenke)
Deutscher Schäferhund	17 (33)	53,1 (53,2)	8 (15)	9 (18)
Malinois	8 (16)	25,0 (25,8)	7 (14)	1 (2)
Labrador Retriever	2 (3)	6,3 (4,8)	-	2 (3)
Belgischer Schäferhund	1 (2)	3,1 (3,2)	-	1 (2)
Dalmatiner	1 (2)	3,1 (3,2)	-	1 (2)
Kuvasz	1 (2)	3,1 (3,2)	-	1 (2)
Mischling	1 (2)	3,1 (3,2)	-	1 (2)
Riesenschnautzer	1 (2)	3,1 (3,2)	1 (2)	-

Tabelle 5: Rassen- und Geschlechtsverteilung der Kontrolltiere.

Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=32); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=62) in Klammern.

## ERGEBNISSE

---

Die Analyse der Altersstruktur der Tiere (Gelenke) ist in Tabelle 6 dargestellt. Die jüngsten Hunde waren 5 Monate, der älteste Hund war 31 Monate alt. Der Median lag bei 13 Monaten. 46,9% der Tiere waren maximal 12 Monate alt und 53,1% waren älter als 12 Monate. Von 62 Gelenken wurden 28 Gelenke (45,2%) der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate und 34 Gelenke (54,8%) der Altersgruppe  $> 12$  Monate zugeordnet.

Alter in Monaten	Anzahl Tiere (Gelenke)	Prozent Tiere (Gelenke)
5	2 (4)	6,3 (6,5)
6	-	-
7	4 (8)	12,5 (12,9)
8	3 (4)	9,4 (6,5)
9	2 (4)	6,3 (6,5)
10	3 (6)	9,4 (9,7)
11	-	-
12	1 (2)	3,1 (3,2)
13-18	7 (14)	22,0 (22,7)
19-24	5 (10)	15,6 (16,1)
25-48	5 (10)	15,6 (16,1)

Tabelle 6: Altersverteilung der Kontrolltiere in Monaten.

Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=32); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=62) in Klammern.

## ERGEBNISSE

### 5.2 Patientengut

Insgesamt wurden 159 Hunde mit einem FCP diagnostiziert. 124 Hunde erkrankten einseitig, davon 71 Tiere rechts und 53 Tiere links. Bei 35 Tieren wurde ein FCP beidseitig nachgewiesen (Abbildung 4).

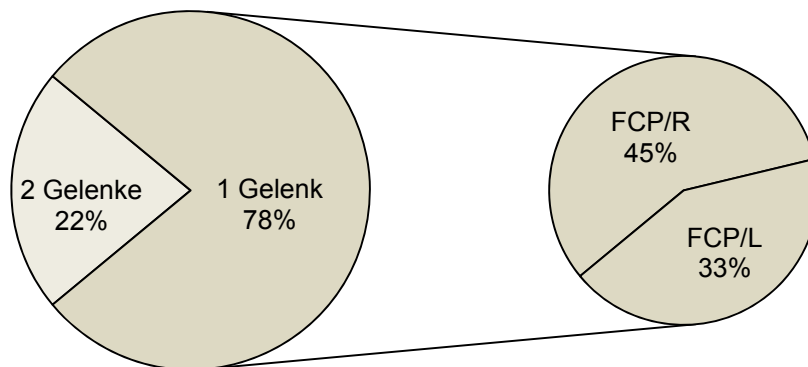


Abbildung 4: Anzahl und Prozentsatz der Tiere mit einseitig (n=124) oder beidseitig (n=35) erkranktem Gelenk.

#### 5.2.1 Rassen- und Geschlechtsverteilung

Tabelle 7 zeigt die Rassen- und Geschlechtsverteilung der an einem FCP erkrankten Tiere (Gelenke). Die Hunde der Studie gehörten 32 verschiedenen Rassen an. Die am häufigsten betroffenen Rassen waren mit 31 Tieren der Labrador Retriever (19,5%), 23 Mischlingshunde (14,5%), 20 Deutsche Schäferhunde (12,6%), 17 Rottweiler (10,7%), 14 Golden Retriever (8,8%) und 9 Berner Sennenhunde (5,7%). Andere Rassen waren seltener vertreten.

Insgesamt wurden 106 (66,7%) männliche Tiere (131 (67,5%) Gelenke) und 53 (33,3%) weibliche Tiere (63 (32,5%) Gelenke) untersucht. Daraus ergibt sich ein Verhältnis von 2:1 männlicher zu weiblicher Patienten. Beidseits an einem FCP operiert wurden 25 (71,4%) männliche und 10 (28,6%) weibliche Hunde.



## ERGEBNISSE

Rasse	Anzahl Tiere (Gelenke)	Prozent Tiere (Gelenke)	Anzahl Tiere R/L FCP	männliche Tiere (Gelenke)	weibliche Tiere (Gelenke)
Labrador Retriever	31 (39)	19,5 (20,1)	8	20 (26)	11 (13)
Mischling	23 (28)	14,5 (14,4)	5	15 (19)	8 (9)
Deutscher Schäferhund	20 (22)	12,6 (11,3)	2	14 (15)	6 (7)
Rottweiler	17 (22)	10,7 (11,3)	5	12 (16)	5 (6)
Golden Retriever	14 (19)	8,8 (9,8)	5	13 (18)	1 (1)
Berner Sennenhund	9 (10)	5,7 (5,2)	1	7 (8)	2 (2)
Riesenschnautzer	4 (4)	2,5 (2,1)	-	2 (2)	2(2)
Schweizer Sennenhund	4 (4)	2,5 (2,1)	-	3 (3)	1 (1)
Bordeaux Dogge	3 (5)	1,9 (2,6)	2	3 (5)	-
Englische Bulldogge	3 (4)	1,9 (2,1)	1	3 (4)	-
Kaukasischer Schäferhund	3 (3)	1,9 (1,5)	-	2 (2)	1 (1)
Bernhardiner	2 (3)	1,3 (1,5)	1	1 (1)	1 (2)
Boxer	2 (3)	1,3 (1,5)	1	-	2 (3)
Husky	2 (2)	1,3 (1)	-	-	2 (2)
Landseer	2 (2)	1,3 (1)	-	1 (1)	1 (1)
Malinois	2 (2)	1,3 (1)	-	1 (1)	1 (1)
Neufundländer	2 (2)	1,3 (1)	-	1 (1)	1 (1)
Rhodesian Ridgeback	2 (3)	1,3 (1,5)	1	2 (3)	-
Airedale Terrier	1 (1)	0,6 (0,5)	-	1 (1)	-
Alano	1 (2)	0,6 (1)	1	-	1 (2)
Amerikanische Bulldogge	1 (2)	0,6 (1)	1	-	1 (2)
Beagle	1 (1)	0,6 (0,5)	-	-	1 (1)
Bearded Collie	1 (1)	0,6 (0,5)	-	-	1 (1)
Briard	1 (1)	0,6 (0,5)	-	1 (1)	-
Chow Chow	1 (1)	0,6 (0,5)	-	1 (1)	-
Deutscher Wachtelhund	1 (1)	0,6 (0,5)	-	1 (1)	-
Kuvasz	1(2)	0,6 (1)	1	-	1 (2)
Magyar Vizsla	1 (1)	0,6 (0,5)	-	-	1 (1)
Mudi	1 (1)	0,6 (0,5)	-	1(1)	-
Pyrenäenberghund	1 (1)	0,6 (0,5)	-	-	1 (1)
Shar-Pei	1 (1)	0,6 (0,5)	-	1 (1)	-
Staffordshire Bullterrier	1 (1)	0,6 (0,5)	-	-	1 (1)

Tabelle 7: Rassen- und Geschlechtsverteilung der Hunde mit FCP.

Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=159); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=194) in Klammern.

## ERGEBNISSE

---

### 5.2.2 Alters- und Gewichtsverteilung

Die Analyse der Altersstruktur der an einem FCP erkrankten Tiere (Gelenke) ist in Tabelle 8 dargestellt. Die Hunde der Studie waren zwischen 4 und 168 Monaten alt. Der Median lag bei 46 Monaten. 36 (22,6%) Tiere (45 (23,2%) Gelenke) wurden der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate und 123 (77,4%) Tiere (149 (76,8%) Gelenke) der Altersgruppe  $> 12$  Monate zugeordnet. Die Körpermasse der untersuchten Hunde betrug 14 kg bis 81 kg mit einem Median von 35 kg.

Alter in Monaten	Anzahl Tiere (Gelenke)	Prozent Tiere (Gelenke)
4	1 (1)	0,6 (0,5)
5	2 (4)	1,3 (2,1)
6	8 (10)	5 (5,2)
7	3 (4)	1,9 (2,1)
8	7 (10)	4,4 (5,2)
9	2 (3)	1,3 (1,5)
10	8 (8)	5,0 (4,1)
11	1 (1)	0,6 (0,5)
12	4 (4)	2,5 (2,1)
13-18	11 (15)	6,9 (7,7)
19-24	8 (11)	5,0 (5,7)
25-48	28 (33)	17,6 (17,0)
49-96	56 (66)	35,2 (34,0)
>96	20 (24)	12,6 (12,4)

Tabelle 8: Altersverteilung der Hunde mit FCP in Monaten (zum Zeitpunkt der Arthroskopie).

Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=159); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=194) in Klammern.

## ERGEBNISSE

---

### 5.2.3 Röntgenologische und arthroskopische Befunde

Wie exemplarisch in Abbildung 5 gezeigt, wurden Röntgenaufnahmen sowie Arthroskopiebilder von 191 (98,5%) Ellbogengelenken erhoben. Die Befunde wurden entsprechend IEWG Grad und modifiziertem Outerbridge Grad eingeteilt und in Tabelle 9 zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 5 stellt beispielhaft Röntgenaufnahmen sowie Arthroskopiebilder von Ellbogengelenken mit unterschiedlichem IEWG Grad und modifiziertem Outerbridge Grad dar. Abbildung 5 a-c zeigt die Röntgenaufnahmen sowie das Arthroskopiebild eines normalen Ellbogengelenkes mit IEWG Grad 0 und modifiziertem Outerbridge Grad 0. In Abbildung 5 d-f wird ein Ellbogengelenk mit unscharf begrenztem proximalen Rand des Proc. coronoideus medialis ulnae abgebildet. Die Zuordnung zum IEWG Grad 1 erfolgte aufgrund der Sklerosierung der Incisura trochlearis ulnae (d) bzw. aufgrund von Osteophyten (< 2 mm) an der medialen Ulna (e), wie durch weiße Pfeile markiert wird. Schwarze Pfeile markieren die Fissurlinie des Proc. coronoideus medialis ulnae. Die Knorpelveränderungen sind durch oberflächliche Fibrillation und Fissuren des Knorpels charakterisiert und entsprechen einem modifizierten Outerbridge Grad 2 (f). Abbildung 5 g-i: Weiße Pfeile markieren die Osteophyten dorsal am Proc. anconeus und am cranialen Radius (g) bzw. medial der Ulna und am Epicondylus medialis humeri (h). Anhand massiver osteophytärer Zubildungen sowie des Knorpelverlustes bis zum subchondralen Knochen (i) wurden diese röntgenologisch und arthroskopisch diagnostizierten Veränderungen des Ellbogengelenkes entsprechend in IEWG Grad 3 und modifizierten Outerbridge Grad 4 eingeteilt.

Tabelle 9 zeigt die Auswertung der in Abbildung 5 exemplarisch dargestellten röntgenologischen und arthroskopischen Befunde aller an einem FCP erkrankten Gelenke mit folgender Verteilung: IEWG Grad 0=22 (11,5%); Grad 1=90 (47,1%); Grad 2=32 (16,8%); Grad 3=47 (24,6%). modifizierter Outerbridge Grad 0=14 (7,3%); Grad 1=51 (26,7%); Grad 2=37 (19,4%); Grad 3=30 (15,7%); Grad 4=59 (30,9%).

Zwischen IEWG-Grad und modifiziertem Outerbridge-Grad wurde eine signifikant positive hohe Korrelation mit einem Korrelationskoeffizienten nach Spearman von 0,72 nachgewiesen.

## ERGEBNISSE

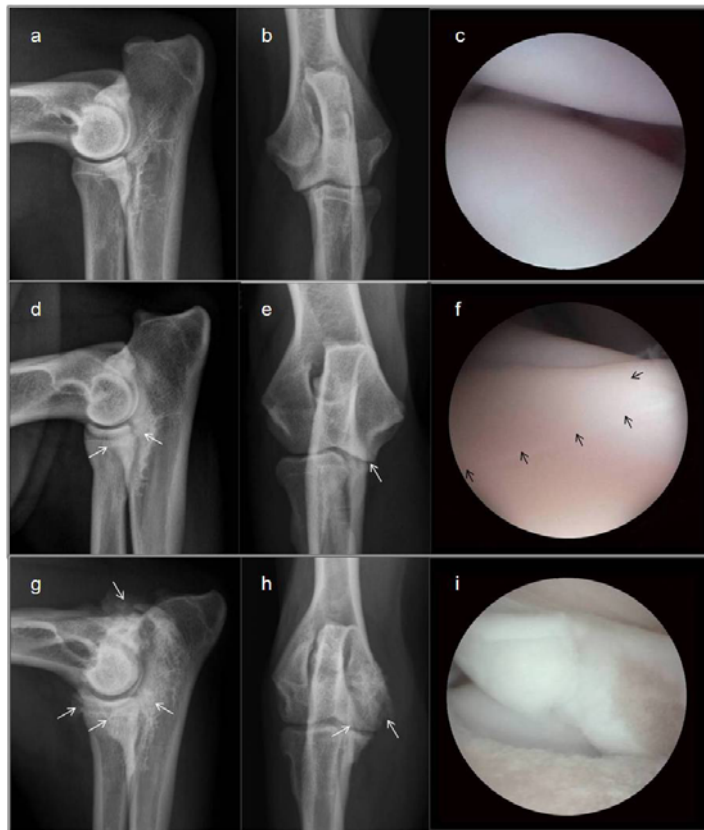


Abbildung 5: Mediolaterale (a,d,g) und kranio-kaudale (b,e,h) Röntgenaufnahmen sowie Arthroskopiebilder (c,f,i) verschiedener Gelenkpathologien. a-c: linkes Ellbogengelenk (IEWG Grad 0, modifizierter Outerbridge Grad 0) eines Deutschen Schäferhundes, 16 Monate; d-f: rechtes Ellbogengelenk (IEWG Grad 1, modifizierter Outerbridge Grad 2) einer Bordeauxdogge, 10 Monate; g-i: rechtes Ellbogengelenk (IEWG Grad 3, modifizierter Outerbridge Grad 4) eines Golden Retrievers, 30 Monate.

IEWG Grad	modifizierter Outerbridge Grad					gesamt
	0	1	2	3	4	
	Anzahl (Prozent)					
0	7 (3,7)	12 (6,3)	1 (0,5)	2 (1,0)	0 (0,0)	22 (11,5)
1	6 (3,1)	34 (17,8)	28 (14,7)	16 (8,4)	6 (3,1)	90 (47,1)
2	1 (0,5)	5 (2,6)	5 (2,6)	10 (5,2)	11 (5,8)	32 (16,8)
3	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (1,6)	2 (1,0)	42 (22,0)	47 (24,6)
gesamt	14 (7,3)	51 (26,7)	37 (19,4)	30 (15,7)	59 (30,9)	191 (100,0)

Tabelle 9: Anzahl (Prozentsatz) der Gelenke mit IEWG Grad (0-3) und modifiziertem Outerbridge Grad (0-4).

### 5.3 Evaluierung der Parameter in der Synovia

#### 5.3.1 Altersabhängigkeit

Abbildung 6 stellt die präoperativen synovialen CTX-II-Konzentrationen sowie die MMP-2-Aktivitäten aller analysierten Gelenke mit FCP sowie aller Kontrollgelenke in Abhängigkeit vom Alter der Tiere dar. Die vertikale Linie markiert die Altersgrenze von 12 Monaten.

Die Kurve zeigt mit zunehmendem Alter eine stark abnehmende CTX-II-Konzentration sowohl in der Synovia der Kontrollgelenke als auch in der Synovia der Gelenke mit FCP und weist ab dem 12. Lebensmonat eine annähernd ähnlich konstant niedrige Konzentration auf. Die MMP-2-Aktivität in der Synovia der Kontrollgelenke zeigt höhere Werte bei jüngeren Tieren. Eine ähnliche Tendenz wurde für Gelenke mit FCP nicht ermittelt.

Aufgrund der in Abbildung 6 gezeigten Ergebnisse wurden die Kontrolltiere in die zwei Altersgruppen  $\leq 12$  Monate und  $> 12$  Monate unterteilt, um altersabhängige Unterschiede der Biomarker in der Synovia gesunder Gelenke zu berücksichtigen.

In Abbildung 7 ist die Aktivität der MPO, MMP-2 und -9 sowie die Konzentration von CTX-II, C2C und CPII in der Synovia von Kontrollgelenken in Abhängigkeit der Altersgruppe der Tiere dargestellt.

Die Kontrolltiere der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate wiesen eine signifikant höhere synoviale CTX-II-Konzentration ( $p < 0,001$ ) sowie MMP-2-Aktivität ( $p < 0,050$ ) im Vergleich zur Altersgruppe  $> 12$  Monate auf. Für die Aktivität der MPO, MMP-9 sowie für die Konzentration von C2C und CPII wurde kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Altersgruppen ermittelt (Anhang 2).

## ERGEBNISSE

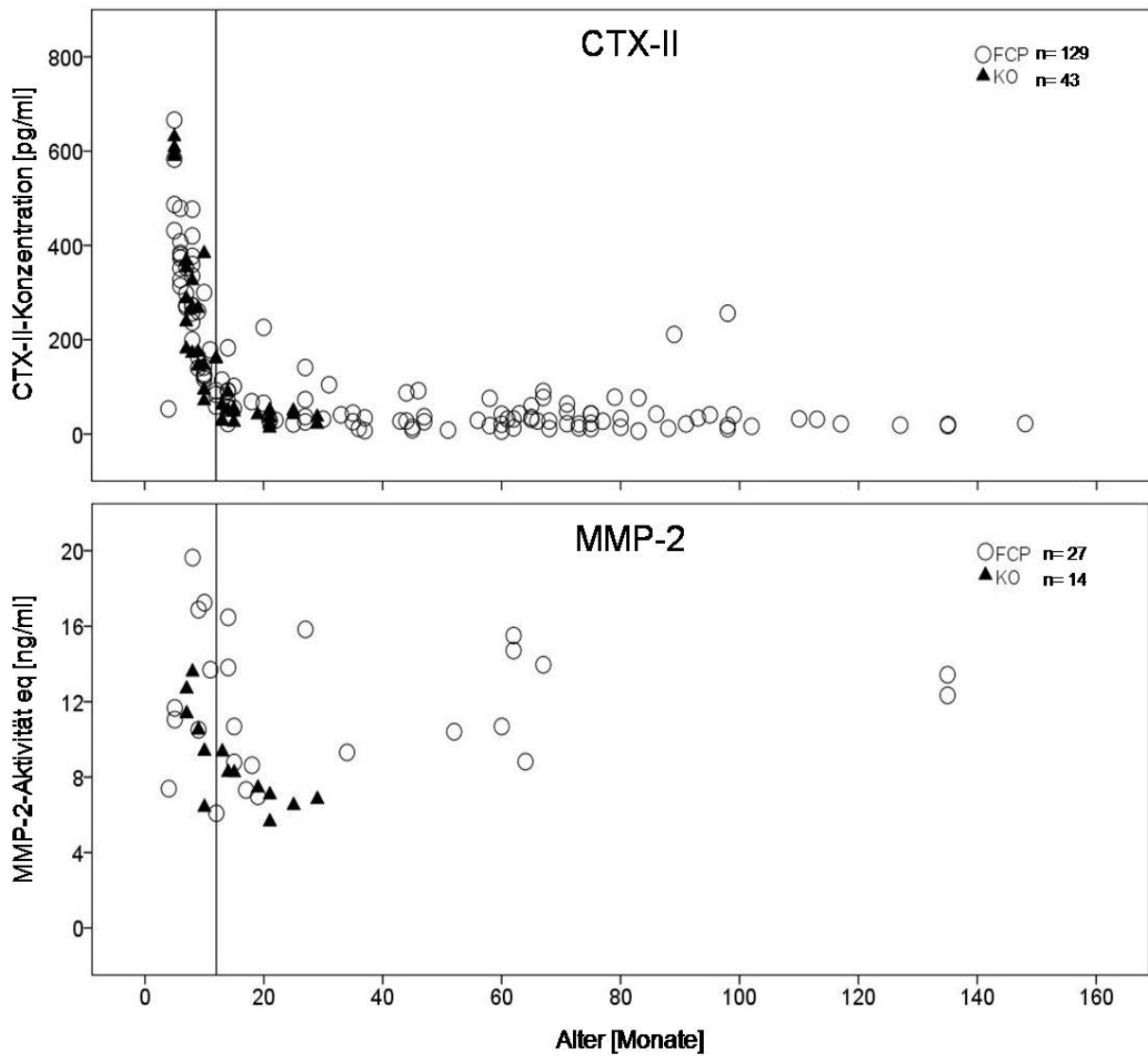


Abbildung 6: CTX-II-Konzentration und MMP-2-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Die vertikale Linie markiert die Altersgrenze von 12 Monaten.

## ERGEBNISSE

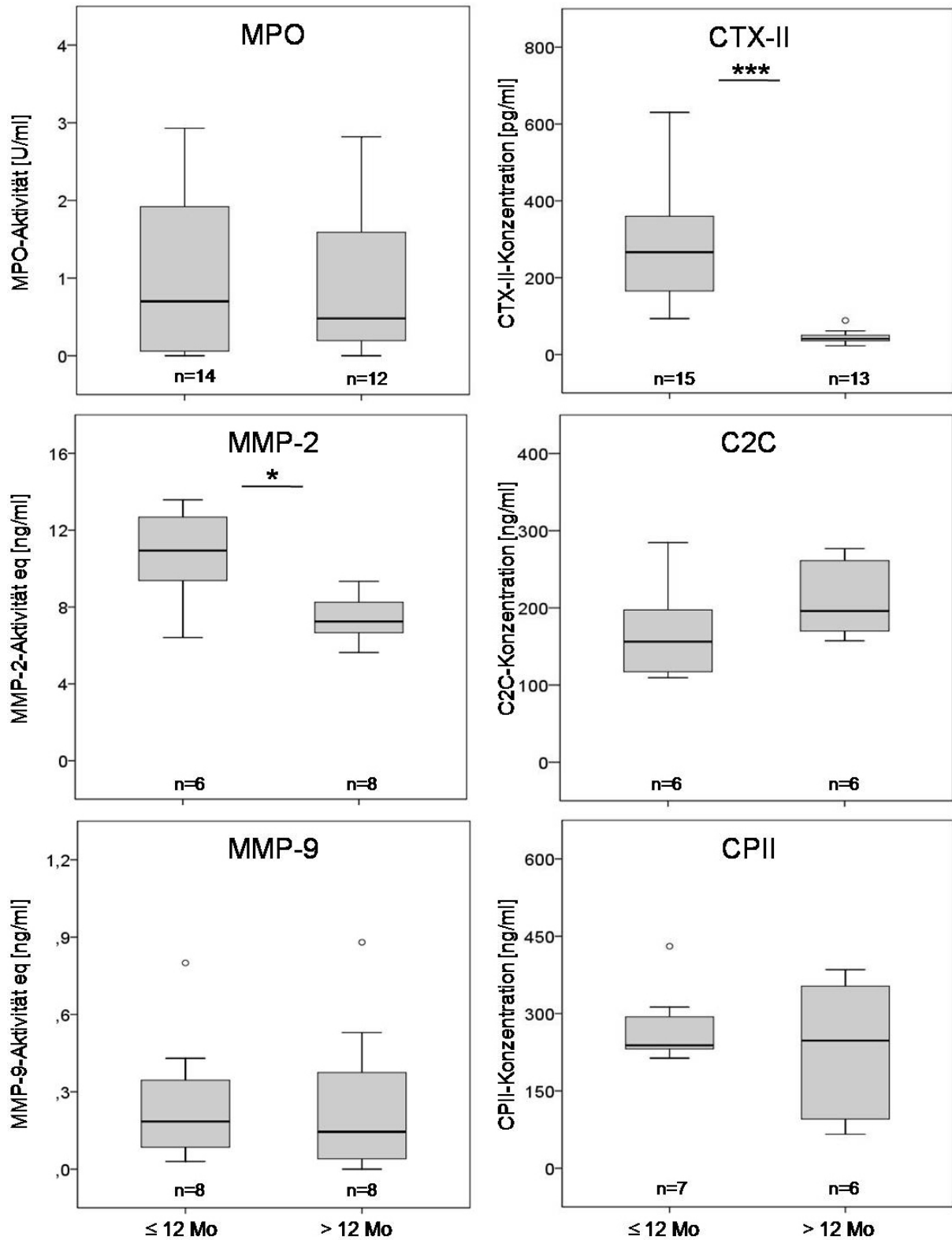


Abbildung 7: Altersabhängigkeit der Aktivität der MPO, MMP-2 und MMP-9 sowie der Konzentration von CTX-II, C2C und CPII in der Synovia von Kontrollgelenken beim Vergleich der Altersgruppen  $\leq 12$  Mo und  $> 12$  Mo.

## ERGEBNISSE

### 5.3.2 Zellzahl und Proteinkonzentration

Die Zellzahl sowie die Proteinkonzentration in der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP ist in Abbildung 8 dargestellt.

Mit einem mehr als doppelt so hohen Median lag die Zellzahl in der Synovia der Gelenke mit FCP signifikant höher ( $p < 0,001$ ) als die der Synovia von Kontrollgelenken.

Eine signifikant höhere Proteinkonzentration ( $p < 0,001$ ) in der Synovia wurde ebenfalls von erkrankten Gelenken im Vergleich zu Kontrollgelenken nachgewiesen (Anhang 4).

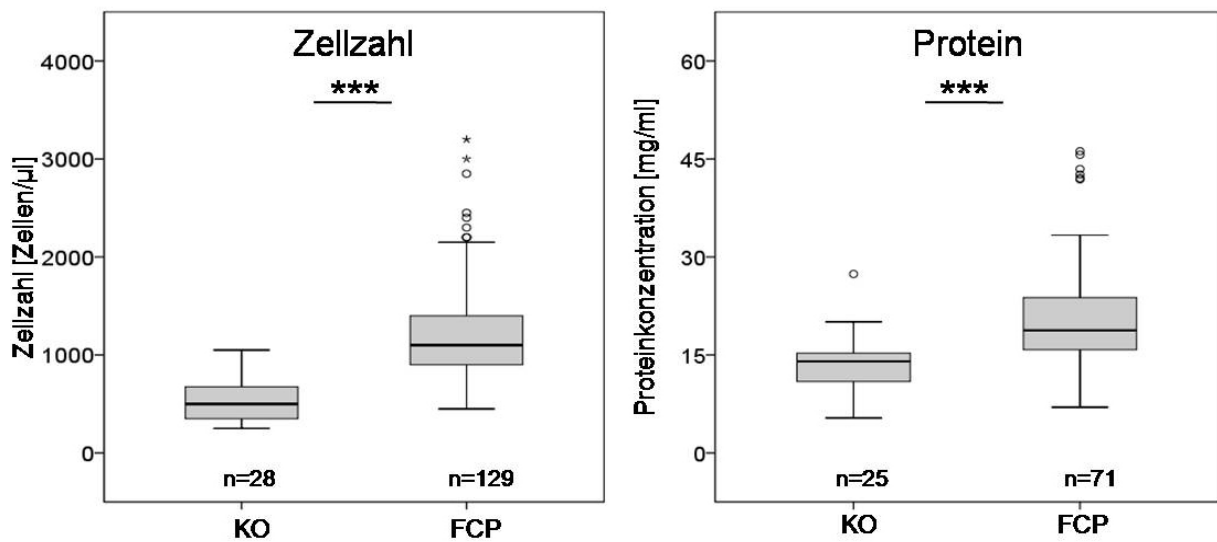


Abbildung 8: Zellzahl und Proteinkonzentration in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP.



## ERGEBNISSE

In Abbildung 9 ist die Zellzahl sowie die Proteinkonzentration in der Synovia in Abhängigkeit vom IEWG Grad sowie vom modifizierten Outerbridge Grad der Gelenke mit FCP dargestellt. Zwischen der Zellzahl in der Synovia und dem IEWG Grad ( $p < 0,010$ ) bzw. zwischen der Zellzahl in der Synovia und dem modifiziertem Outerbridge Grad ( $p = 0,010$ ) wurde ein signifikanter Unterschied nachgewiesen.

Zwischen der Proteinkonzentration der Synovia und den beiden Beurteilungskriterien bestand kein signifikanter Unterschied (Anhang 5, 6).

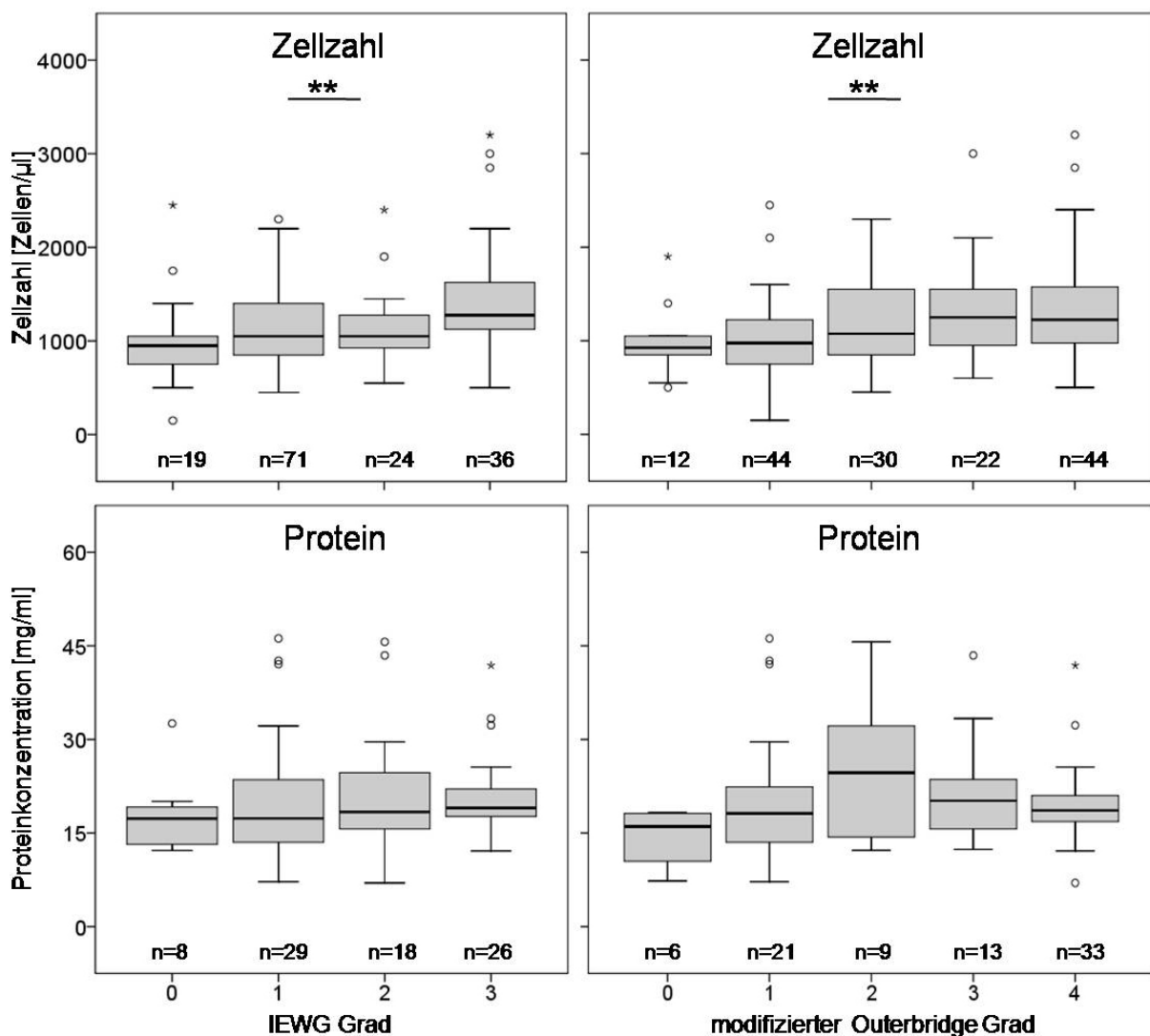


Abbildung 9: Zellzahl und Proteinkonzentration in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).

## ERGEBNISSE

### 5.3.3 MPO-Aktivität

Für den Vergleich der MPO-Aktivität des rechten und linken Ellbogengelenkes von Kontrolltieren bzw. des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes einseitig erkrankter Tiere wurde die Differenz aus den ermittelten Enzymaktivitäten berechnet. Es wurde kein signifikanter Unterschied ermittelt (Anhang 3).

Die Differenz aus der MPO-Aktivität des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes wies keinen signifikanten Unterschied auf. Allerdings lag das 25%-Perzentil bei -0,56; d.h. 25% der Tiere, die eine niedrigere Enzymaktivität als die des kontralateralen gesunden Gelenkes aufwiesen, zeigten nur sehr geringe Unterschiede zwischen der gemessenen MPO-Aktivität im erkrankten und im kontralateralen gesunden Gelenk (Abbildung 10; Anhang 3).

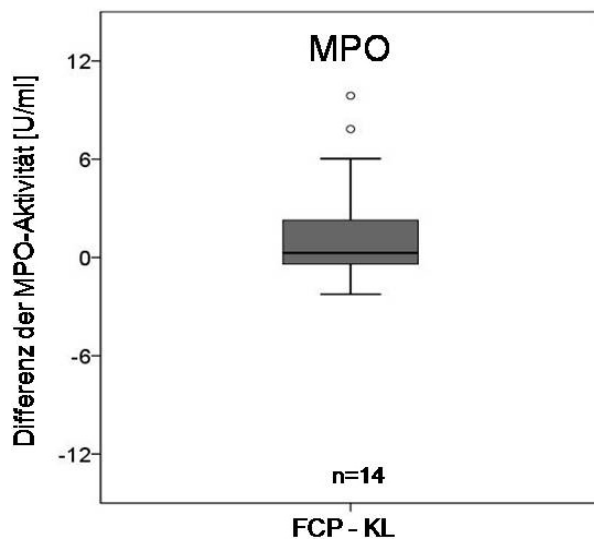


Abbildung 10: Differenz der MPO-Aktivität in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).

Abbildung 11 veranschaulicht die MPO-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP.

Die MPO von Gelenken mit FCP wies eine signifikant höhere Aktivität ( $p < 0,050$ ) im Vergleich zu Kontrollgelenken auf (Anhang 4).

## ERGEBNISSE

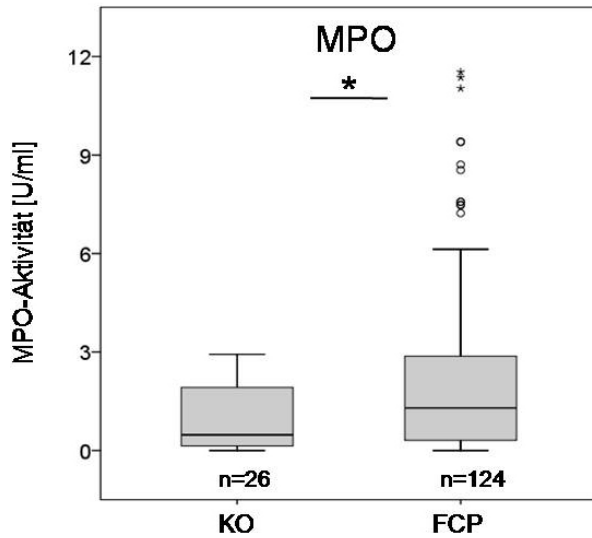


Abbildung 11: MPO-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).

Beim Vergleich der MPO-Aktivität in der Synovia der Gelenke mit FCP wurde kein signifikanter Unterschied zwischen dem IEWG Grad bzw. modifizierten Outerbridge Grad und der Enzymaktivität festgestellt (Abbildung 12; Anhang 5, 6).

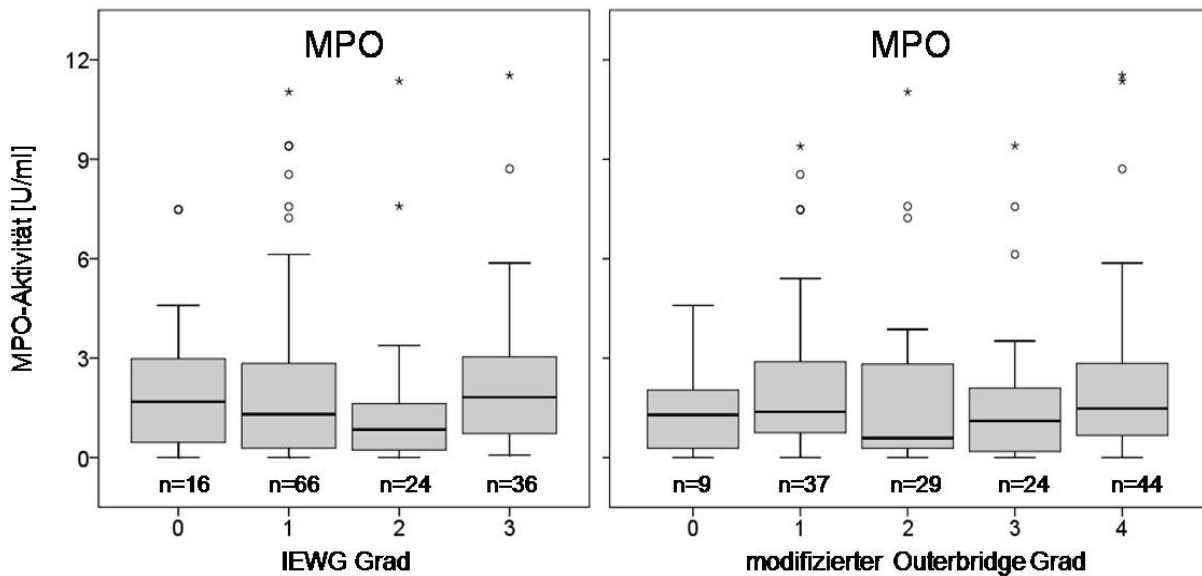


Abbildung 12: MPO-Aktivität in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).

## ERGEBNISSE

### 5.3.4 Gelatine-Zymographie

Die Gelatine-Zymographie dient als semiquantitative Nachweismethode der Darstellung der gelatinolytisch aktiven Matrixmetalloproteinasen in Negativ-Färbung.

In Abbildung 13 sind die Gelatine-Zymogramme der Synovia eines Gelenkes mit FCP zum Nachweis der putativen Aktivität von MMP-2 und MMP-9 in Abhängigkeit von steigenden Proteinkonzentrationen dargestellt. Als Positivkontrolle wurde kommerziell erhältliche humane MMP-2 und -9 eingesetzt.

Die Intensität der Bande und damit die gelatinolytische Aktivität steigt mit zunehmender Menge aufgetragenen Totalproteins. Mit einem Molekulargewicht zwischen 55 und 72 kDa war die gelatinolytische Bande der MMP-2 bereits bei 1 µg detektierbar (a). Die Bande der MMP-9, deren Molekulargewicht etwas niedriger als die 95 kDa-Bande des Protein-Markers lag, wurde erst ab 8 µg nachgewiesen (b). Es ist ersichtlich, dass die synoviale Aktivität der MMP-2 bei gleicher aufgetragener Proteinmenge größer als die der MMP-9 ist.

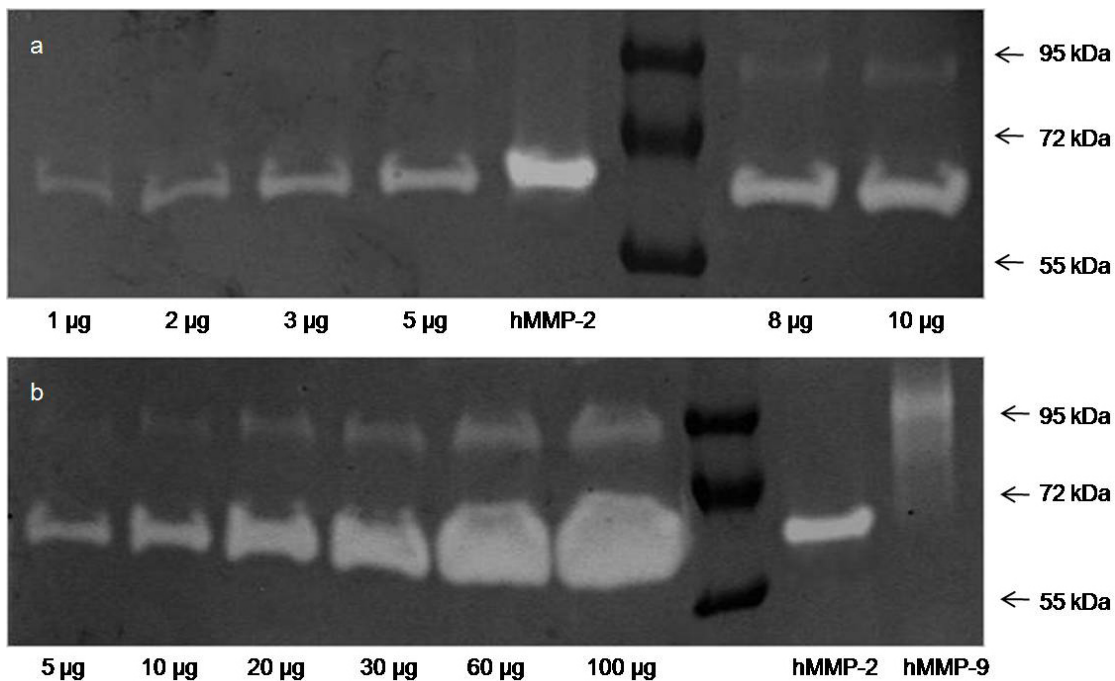


Abbildung 13: Gelatine-Zymogramme der Synovia eines Gelenkes mit FCP mit Totalproteinmengen von 1-100 µg sowie humaner (h) MMP-2 und MMP-9.

## ERGEBNISSE

Für den Vergleich der Aktivität der MMP-2 und -9 sind die Zymogramme der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP in zwei verschiedenen Verdünnungsstufen dargestellt (Abbildung 14). In einer Verdünnung von 1:20 zeigen sich deutlich intensivere Gelatinolysebanden der MMP-2 in der Synovia von Gelenken mit FCP im Vergleich zu Kontrollgelenken. Die Gelatinolysebanden der MMP-9 sind nur schwach sichtbar (a). Für die Detektion der MMP-9 war eine Optimierung der Synoviamenge nötig. So stellen sich die gelatinolytischen Banden der MMP-9 erst bei einer Verdünnung von 1:2 dar. Gelenke mit FCP zeigen stärkere synoviale Gelatinolysebanden als Kontrollgelenke, jedoch ist eine Unterscheidung in der Intensität der Banden weniger deutlich (b).

Abbildung 15 zeigt die gelatinolytische Aktivität der MMP-2 und MMP-9 in der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP (a), die nach Inkubation der Gele im Entwicklungspuffer durch Zusatz von 0,05 M EDTA komplett gehemmt wurde (b).

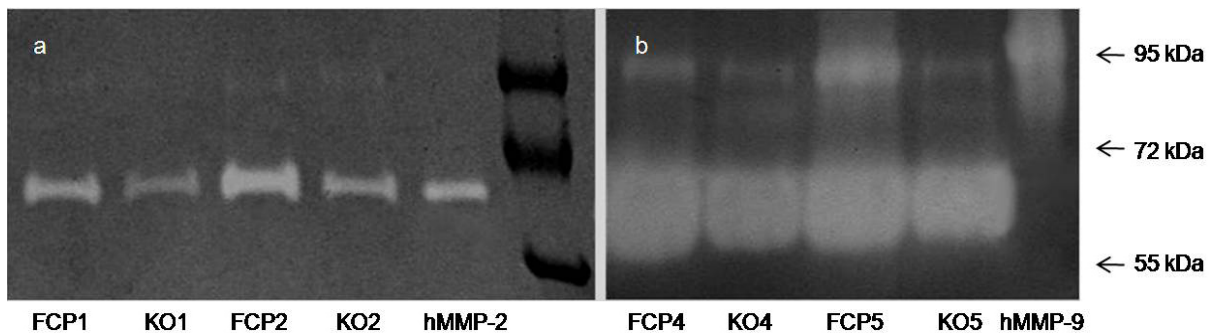


Abbildung 14: Gelatine-Zymogramme von 10 µl Synovia in einer Verdünnung von 1:20 (a) bzw. 1:2 (b) von Gelenken mit FCP (FCP) und Kontrollgelenken (KO) sowie humaner (h) MMP-2 und MMP-9.

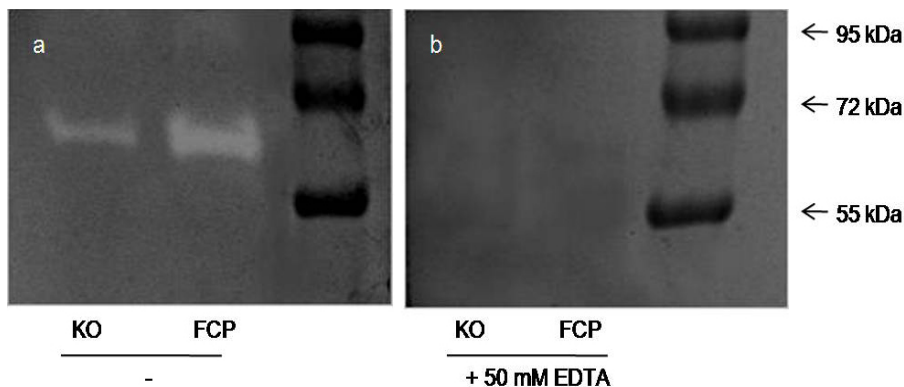


Abbildung 15: Gelatine-Zymogramme der Synovia aus einem Pool von Gelenken mit FCP (FCP) bzw. von Kontrollgelenken (KO). Die Inkubation der Gele erfolgte im Entwicklungspuffer ohne (-) und für eine Hemmung der Aktivität mit (+) Zusatz von 0,05 M EDTA.

## ERGEBNISSE

### 5.3.5 MMP-2- und MMP-9-Aktivität

Abbildung 16 stellt die Differenz der MMP-9-Aktivität aus der Synovia des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes dar.

Zwischen erkranktem und kontralateralem gesunden Gelenk wurde kein signifikanter Unterschied ermittelt (Anhang 3).

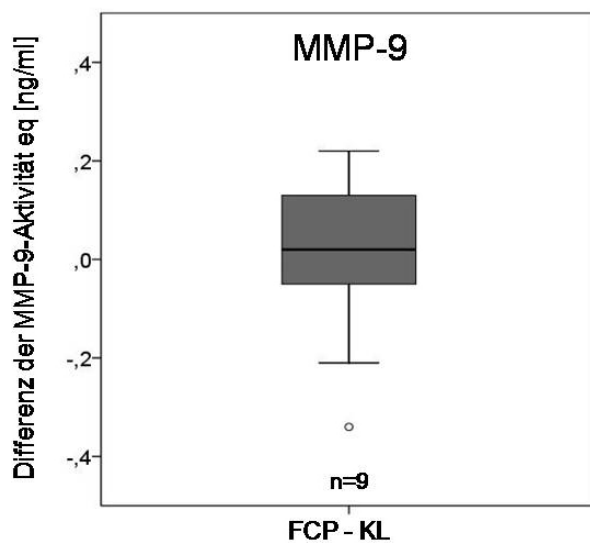


Abbildung 16: Differenz der MMP-9-Aktivität in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).

Der Vergleich der MMP-2- und MMP-9-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP ist unter Berücksichtigung der ermittelten Altersabhängigkeit der MMP-2 (5.3.1) in Abbildung 17 dargestellt.

Während in der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate kein signifikanter Unterschied in der MMP-2-Aktivität zwischen Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP ermittelt werden konnte, lag die MMP-2-Aktivität in der Altersgruppe  $> 12$  Monate in Gelenken mit FCP signifikant höher ( $p < 0,010$ ) als in Kontrollgelenken (Anhang 4).

Die MMP-9-Aktivität der erkrankten Gelenke war signifikant höher ( $p < 0,010$ ) als die der Kontrollgelenke (Anhang 4).

## ERGEBNISSE

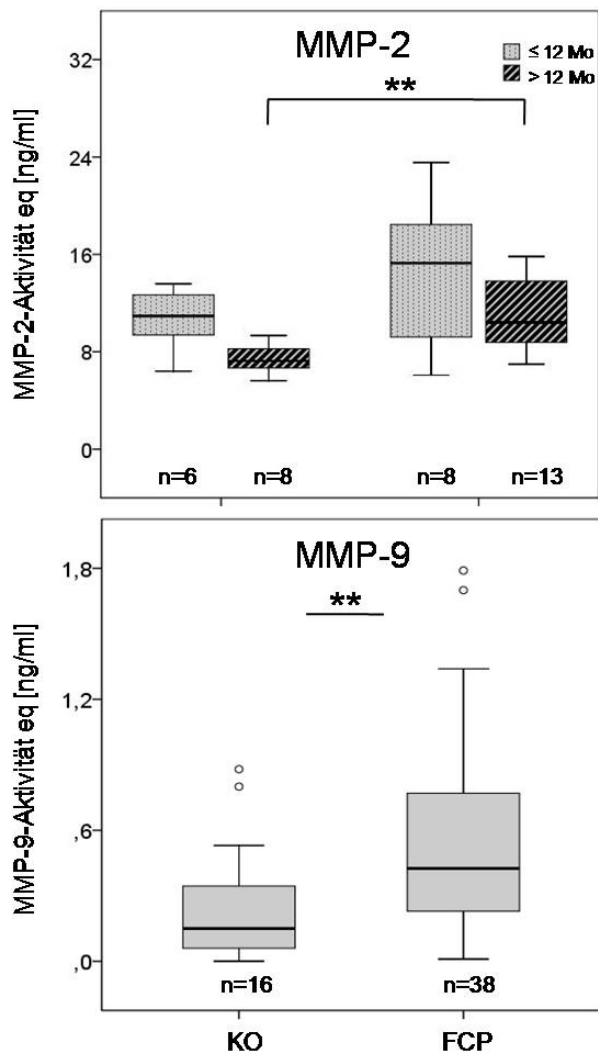


Abbildung 17: MMP-2- und MMP-9-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP) abhängig (MMP-2) und unabhängig (MMP-9) vom Alter ( $\leq 12$  Mo,  $> 12$  Mo) der Tiere.

## ERGEBNISSE

Aufgrund der geringen Fallzahl wird der Vergleich der MMP-2- und MMP-9-Aktivität in der Synovia in Abhängigkeit vom IEWG Grad sowie vom modifizierten Outerbridge Grad im Streudiagramm dargestellt (Abbildung 18).

Die Mediane der MMP-2-Aktivität der modifizierten Outerbridge Grade 0 und 1 liegen deutlich niedriger als die der modifizierten Outerbridge Grade 2 bis 4. Der Median der MMP-9-Aktivität steigt mit zunehmendem IEWG Grad bzw. modifizierten Outerbridge Grad.

Auf einen Test auf statistische Signifikanz wurde aufgrund der geringen Fallzahl verzichtet (Anhang 5, 6).

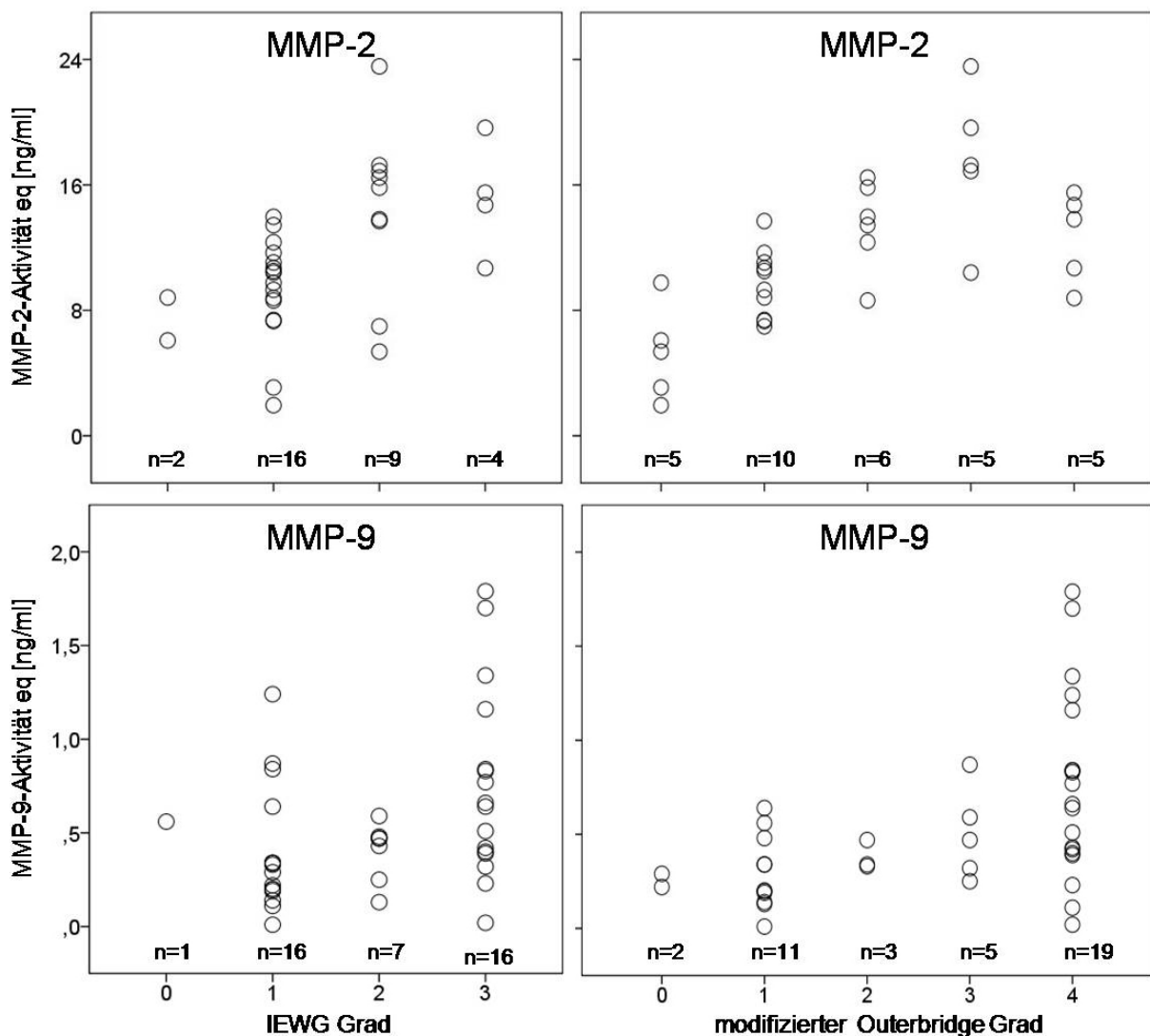


Abbildung 18: MMP-2- und MMP-9-Aktivität in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).



## ERGEBNISSE

### 5.3.6 CTX-II-Konzentration

Aus der Differenz der CTX-II-Konzentration zwischen rechtem und linkem Ellbogengelenk der Kontrolltiere wurde kein signifikanter Unterschied ermittelt (Anhang 3).

Abbildung 19 stellt die Differenz der CTX-II-Konzentration aus der Synovia des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes dar.

Bei 91,7% der untersuchten Tiere lag die CTX-II-Konzentration in der Synovia des erkrankten Gelenkes signifikant höher ( $p < 0,050$ ) als die des kontralateralen gesunden Gelenkes (Anhang 3).

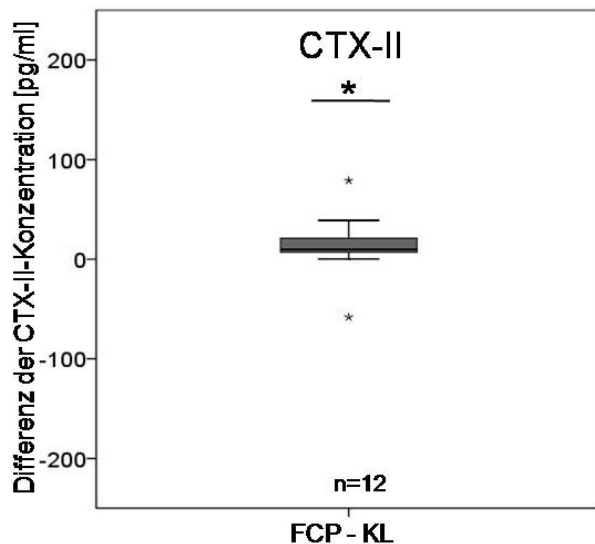


Abbildung 19: Differenz der CTX-II-Konzentration in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).

## ERGEBNISSE

Unter Berücksichtigung der ermittelten Altersabhängigkeit (5.3.1) wurde beim Vergleich der CTX-II-Konzentration in der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP der Tiere innerhalb derselben Altersgruppe kein signifikanter Unterschied ermittelt (Abbildung 20; Anhang 4).

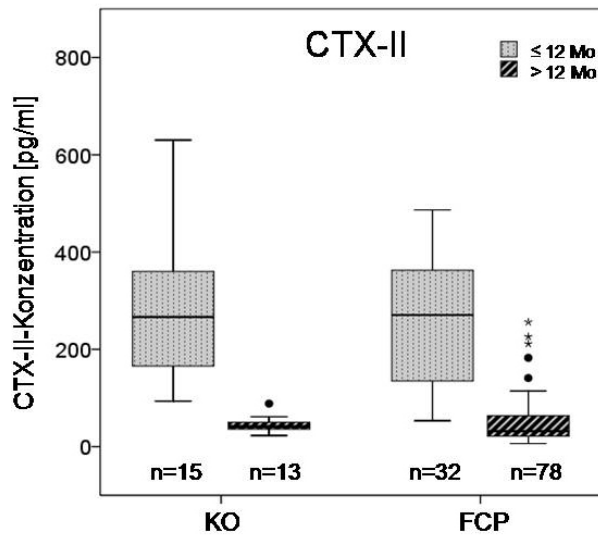


Abbildung 20: CTX-II-Konzentration in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter ( $\leq 12$  Mo,  $> 12$  Mo) der Tiere.

## ERGEBNISSE

In Abbildung 21 wird der Vergleich der CTX-II-Konzentration in der Synovia in beiden Altersgruppen in Abhängigkeit vom IEWG Grad sowie vom modifizierten Outerbridge Grad dargestellt.

Die Interquartilsabstände der CTX-II-Konzentration überlappen sich beim Vergleich der IEWG Grade und modifizierten Outerbridge Grade in der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate als auch beim Vergleich der modifizierten Outerbridge Grade in der Altersgruppe  $> 12$  Monate, so dass keine Unterschiede ermittelt wurden. Auf einen Test auf statistische Signifikanz wurde aufgrund der geringen Fallzahl verzichtet. Nur in der Altersgruppe  $> 12$  Monate konnte aufgrund höherer n-Zahlen ein signifikanter Unterschied innerhalb der IEWG Grade nachgewiesen werden ( $p < 0,050$ ). Der Median der CTX-II-Konzentration von IEWG Grad 0 und 1 niedriger als der von IEWG Grad 2 und 3 (Anhang 5, 6).

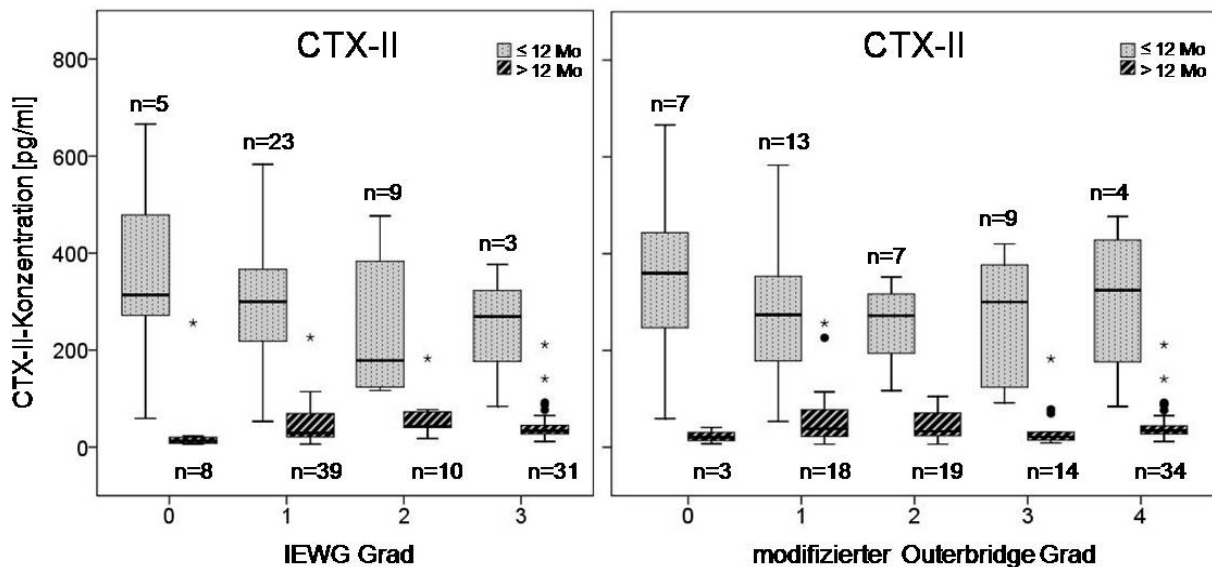


Abbildung 21: CTX-II-Konzentration in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4) der Altersgruppen  $\leq 12$  Mo und  $> 12$  Mo.

### 5.3.7 C2C-Konzentration

Beim Vergleich der C2C-Konzentration in der Synovia von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP wurde kein signifikanter Unterschied ermittelt (Abbildung 22; Anhang 4).

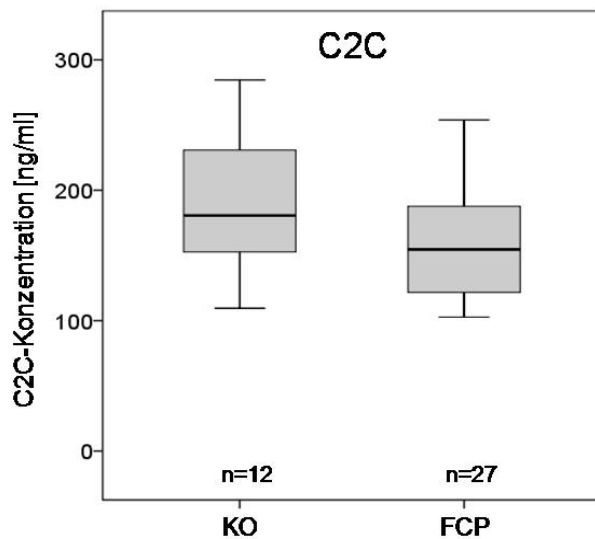


Abbildung 22: C2C-Konzentrationen in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).

Auf eine grafische Darstellung der C2C-Konzentration sowie einen Test auf statistische Signifikanz in Abhängigkeit vom IEWG Grad sowie vom modifizierten Outerbridge Grad wurde aufgrund der geringen n-Zahl einzelner Gruppen (IEWG Grad 0-3; modifizierter Outerbridge Grad 0-4) verzichtet. Die Daten werden in Anhang 5 und 6 tabellarisch erfasst.

## ERGEBNISSE

### 5.3.8 CII-Konzentration

Die Differenz aus der CII-Konzentration in der Synovia des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes wird in Abbildung 23 gezeigt.

Bei allen untersuchten Tieren lag die CII-Konzentration in der Synovia des Gelenkes mit FCP höher als die der kontralateralen gesunden Gelenke. Auf einen Test auf statistische Signifikanz wurde aufgrund der geringen Fallzahl verzichtet (Anhang 3).

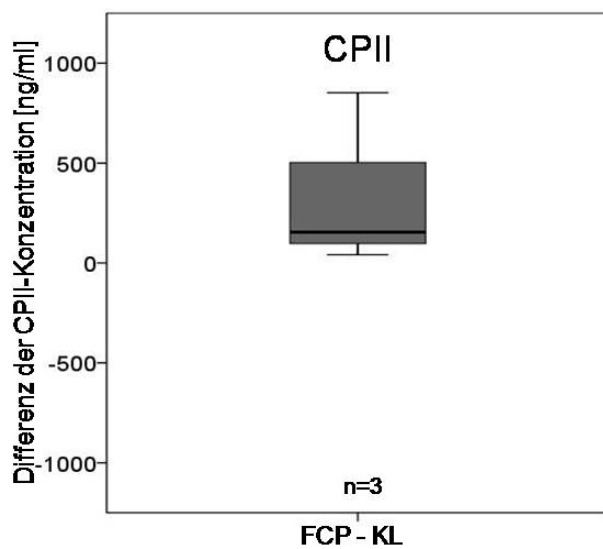


Abbildung 23: Differenz der CII-Konzentration in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).

## ERGEBNISSE

Abbildung 24 zeigt die CPII-Konzentration von Kontrollgelenken und Gelenken mit FCP. Die CPII-Konzentration der Gelenke mit FCP war signifikant höher ( $p < 0,050$ ) als die der Kontrollgelenke (Anhang 4).

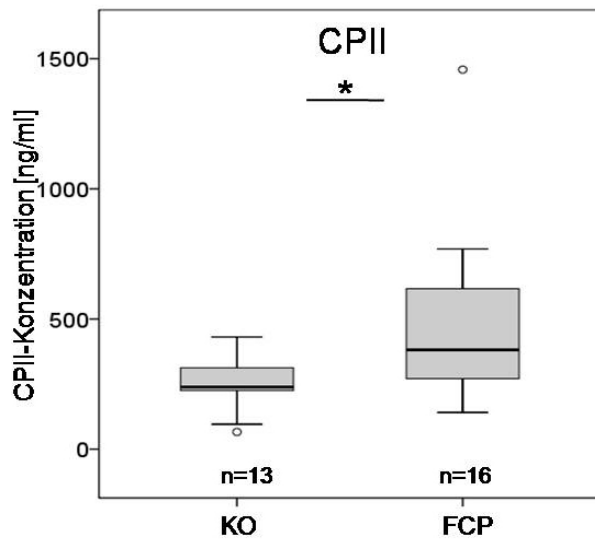


Abbildung 24: CPII-Konzentration in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).

Auf eine grafische Darstellung der CPII-Konzentration sowie einen Test auf statistische Signifikanz in Abhängigkeit vom IEWG Grad sowie vom modifizierten Outerbridge Grad wurde aufgrund der geringen n-Zahl einzelner Gruppen (IEWG Grad 0-3; modifizierter Outerbridge Grad 0-4) verzichtet. Die Daten werden in Anhang 5 und 6 tabellarisch erfasst.

### 5.4 Evaluierung der Parameter im Serum

#### 5.4.1 Altersabhängigkeit

Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der Biomarker im Serum wurden nur für die MPO-Aktivität und die CTX-II-Konzentration durchgeführt.

Die präoperativen CTX-II-Konzentrationen der Kontrolltiere sowie der Tiere mit FCP im Serum werden altersabhängig in Abbildung 25 dargestellt. Die vertikale Linie markiert die Altersgrenze von 12 Monaten. Die Kurve zeigt mit zunehmendem Alter stark abnehmende CTX-II-Konzentrationen und weist ab dem 12. Lebensmonat annähernd ähnlich konstant niedrige CTX-II-Konzentrationen auf.

Aufgrund der in Abbildung 25 gezeigten Ergebnisse wurden die Kontrolltiere in die zwei Altersgruppen  $\leq 12$  Monate und  $> 12$  Monate unterteilt, um altersabhängige Unterschiede der Biomarker im Serum gesunder Tiere zu berücksichtigen.

Wie Abbildung 26 zeigt, wurde für die Aktivität der MPO kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Altersgruppen ermittelt. Die CTX-II-Konzentration lag mit einem mehr als 4-fach höheren Median signifikant höher ( $p < 0,001$ ) bei jüngeren Tieren im Vergleich zu älteren (Anhang 2).

## ERGEBNISSE

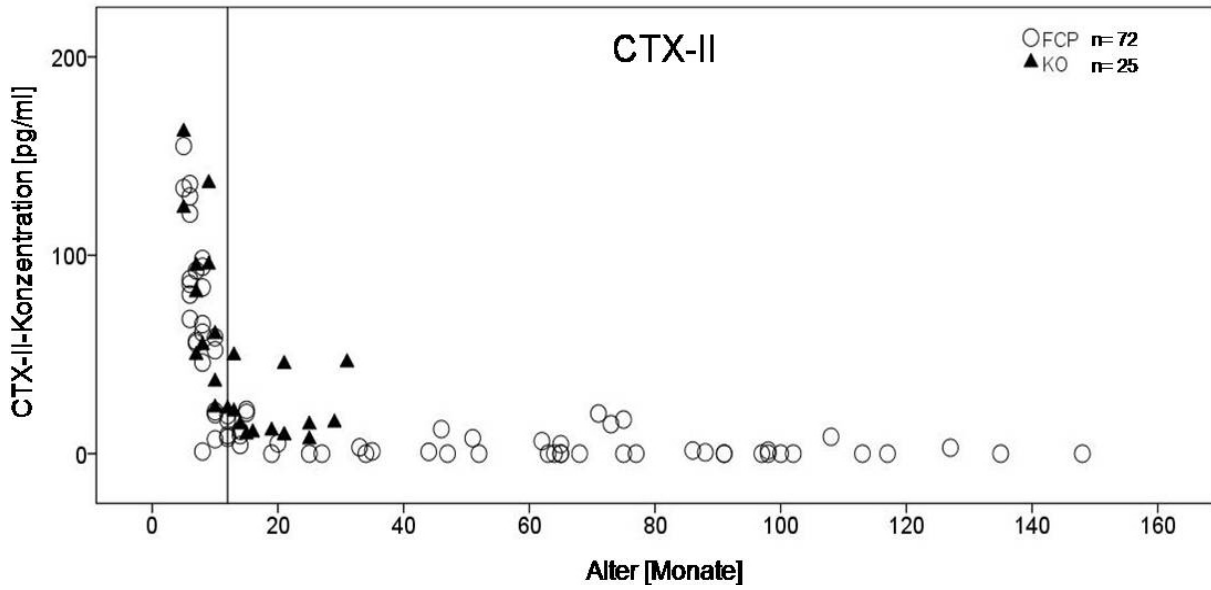


Abbildung 25: CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren (KO) sowie von Tieren mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Die vertikale Linie markiert die Altersgrenze von 12 Monaten.

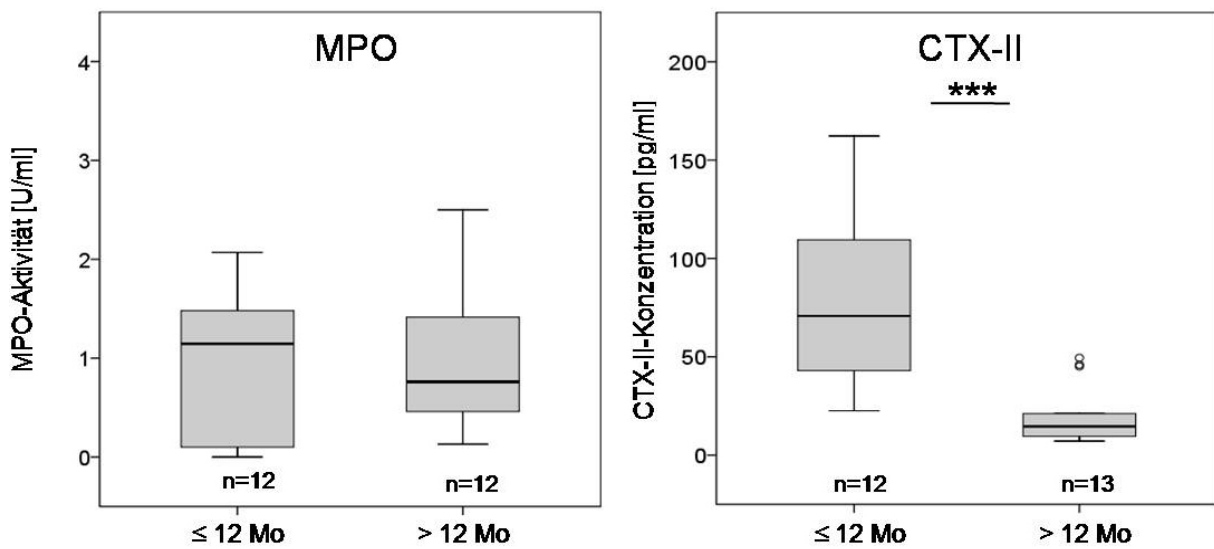


Abbildung 26: Altersabhängigkeit der MPO-Aktivität und CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren beim Vergleich der Altersgruppen  $\leq 12$  Mo und  $> 12$  Mo.



5.4.2 MPO-Aktivität

In Abbildung 27 wird die MPO-Aktivität im Serum von Kontrolltieren und Tieren mit FCP veranschaulicht.

Das Enzym wies eine signifikant höhere Aktivität ( $p < 0,050$ ) bei Tieren mit FCP im Vergleich zu Kontrolltieren auf (Anhang 4).

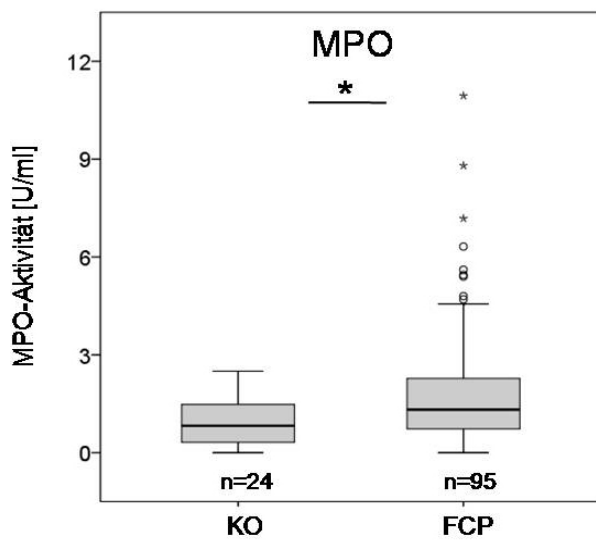


Abbildung 27: MPO-Aktivität im Serum von Kontrolltieren (KO) und Tieren mit FCP (FCP).

## ERGEBNISSE

Beim Vergleich der MPO-Aktivität im Serum in Abhängigkeit vom IEWG Grad bzw. vom modifizierten Outerbridge Grad wurde statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ermittelt (Abbildung 28; Anhang 5, 6).

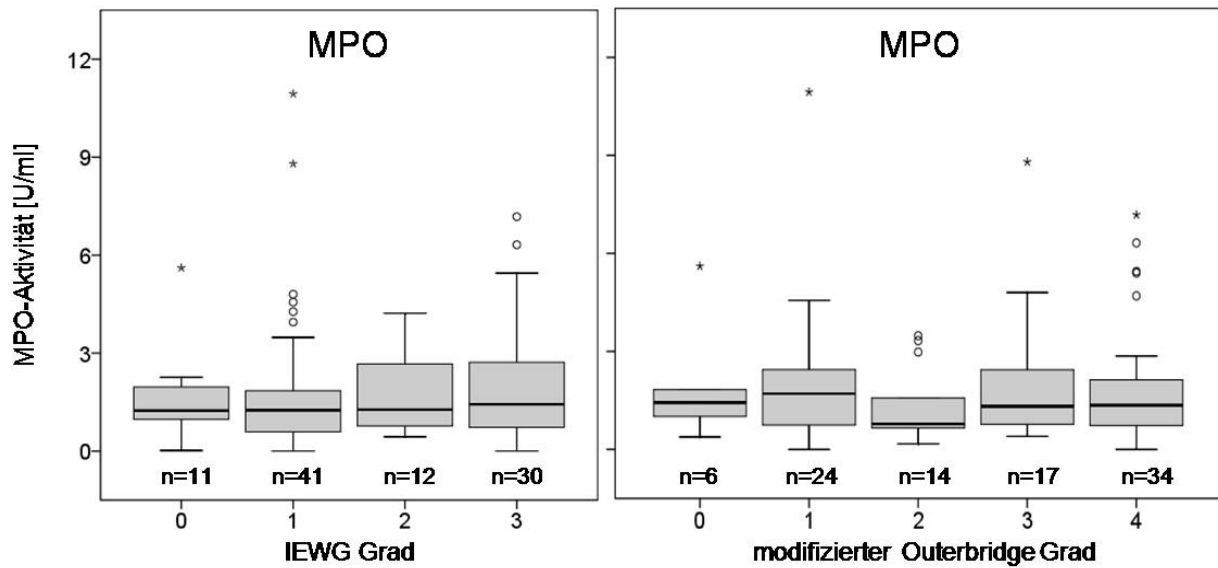


Abbildung 28: MPO-Aktivität im Serum von Tieren mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).

## ERGEBNISSE

### 5.4.3 CTX-II-Konzentration

Dargestellt ist die CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren und von Tieren mit FCP (Abbildung 29). Entsprechend der ermittelten Altersabhängigkeit der CTX-II-Konzentration im Serum ( $p < 0,001$ ) wurden die Tiere in 2 Altersgruppen unterteilt. In der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate war statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen beiden diagnostischen Gruppen nachweisbar. In der Altersgruppe  $> 12$  Monate wurde eine signifikant niedrigere CTX-II-Konzentration ( $p < 0,001$ ) bei Tieren mit FCP im Vergleich zu Kontrolltieren ermittelt (Anhang 4).

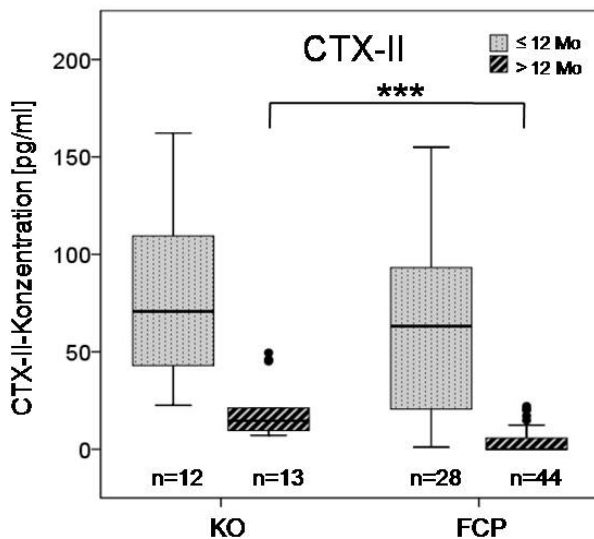


Abbildung 29: CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren (KO) und Tieren mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter ( $\leq 12$  Mo,  $> 12$  Mo) der Tiere.

Da sich die Interquartilsabstände überlappen, wurde kein Unterschied der CTX-II-Konzentration in Abhängigkeit vom IEWG Grad bzw. vom modifizierten Outerbridge Grad festgestellt. Auf einen Test auf statistische Signifikanz wurde aufgrund der geringen Fallzahl verzichtet (Anhang 5, 6).

## ERGEBNISSE

### 5.5 Verlaufsuntersuchungen in der Synovia

Abbildung 30 stellt Verlaufsuntersuchungen der Zellzahl sowie der Proteinkonzentration dar und zeigt die Differenzen der Parameter der drei Messzeitpunkte in der Synovia.

4 Wochen post operationem wiesen 94,5% der Proben eine signifikant höhere Zellzahl ( $p < 0,001$ ) und 75,0% eine signifikant höhere Proteinkonzentration ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zum Tag der Arthroskopie auf. 12 Wochen post operationem sanken bei etwa 75% der Proben die Proteinkonzentration ( $p < 0,010$ ) sowie die Zellzahl ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zu den Ergebnissen nach 4 Wochen, bei 31,3% (Proteinkonzentration) und 16,4% (Zellzahl,  $p < 0,001$ ) auch unterhalb des Ausgangswertes (Anhang 7, 8).

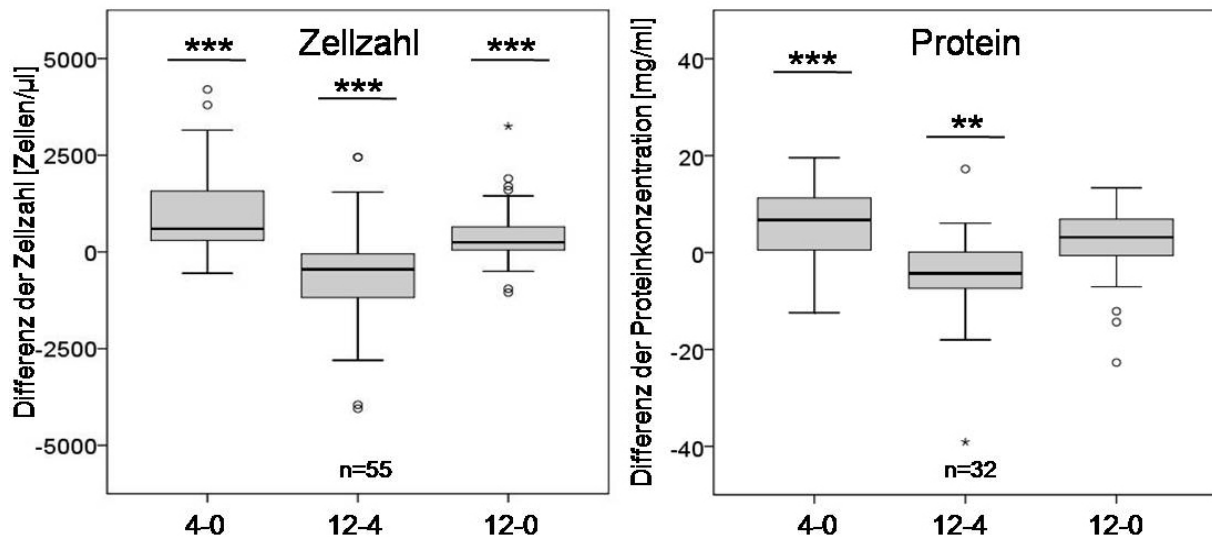


Abbildung 30: Verlaufsuntersuchungen der Zellzahl und Proteinkonzentration in der Synovia. Dargestellt sind die Differenzen der Zellzahl und der Proteinkonzentration (4-0, 12-4, 12-0) aus den Proben zum Zeitpunkt der Arthroskopie (0) sowie 4 Wochen (4) und 12 Wochen (12) nach der Arthroskopie.

## ERGEBNISSE

---

Die Differenzen der Aktivität der MPO, MMP-2 und -9 sowie der Konzentration von CTX-II, C2C und CPII der drei Messzeitpunkte in der Synovia sind in Abbildung 31 dargestellt. Für die Verlaufsuntersuchungen wurden aufgrund der Altersabhängigkeit der MMP-2-Aktivität und CTX-II-Konzentration nur Tiere der Altersgruppe > 12 Monate analysiert (Anhang 7, 8).

Für die Aktivität der MPO und MMP-9 wurde im Verlauf kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der Differenzen der einzelnen Zeitpunkte festgestellt.

Die MMP-2 zeigte 4 Wochen nach der Arthroskopie eine signifikant höhere Aktivität bei allen Proben ( $p < 0,010$ ). 12 Wochen post operationem sank bei 91,7% der Gelenke die MMP-2-Aktivität im Vergleich zu den Ergebnissen nach 4 Wochen ( $p < 0,010$ ), bei 25,0% auch unterhalb des Ausgangswertes ( $p < 0,050$ ).

Die CTX-II-Konzentration lag 4 Wochen nach der Arthroskopie bei 96,2% der Proben signifikant höher ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zur Ausgangskonzentration. Nach 12 Wochen lag die CTX-II-Konzentration aller Proben signifikant niedriger ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zu den Ergebnissen nach 4 Wochen, bei 23,1% auch niedriger ( $p < 0,010$ ) im Vergleich zur Ausgangskonzentration.

4 Wochen nach der Arthroskopie wiesen 81,3% der Gelenke eine signifikant höhere C2C-Konzentration ( $p < 0,050$ ) im Vergleich zum Tag der Arthroskopie auf. Bei 68,8% der Proben sank die C2C-Konzentration nach 12 Wochen unterhalb der Konzentration im Vergleich zu 4 Wochen ( $p < 0,050$ ), bei 56,3% auch unterhalb des Ausgangswertes.

4 und 12 Wochen nach der Arthroskopie zeigten 60,0% der Proben eine höhere CPII-Konzentration im Vergleich zum Tag der Arthroskopie. Betrachtet man die CPII-Konzentration nach 12 Wochen, lagen 73,3% der Werte unterhalb der Konzentration im Vergleich zu 4 Wochen ( $p < 0,050$ ) und 40,0% der Werte unterhalb der Konzentration im Vergleich zum Tag der Arthroskopie.

## ERGEBNISSE

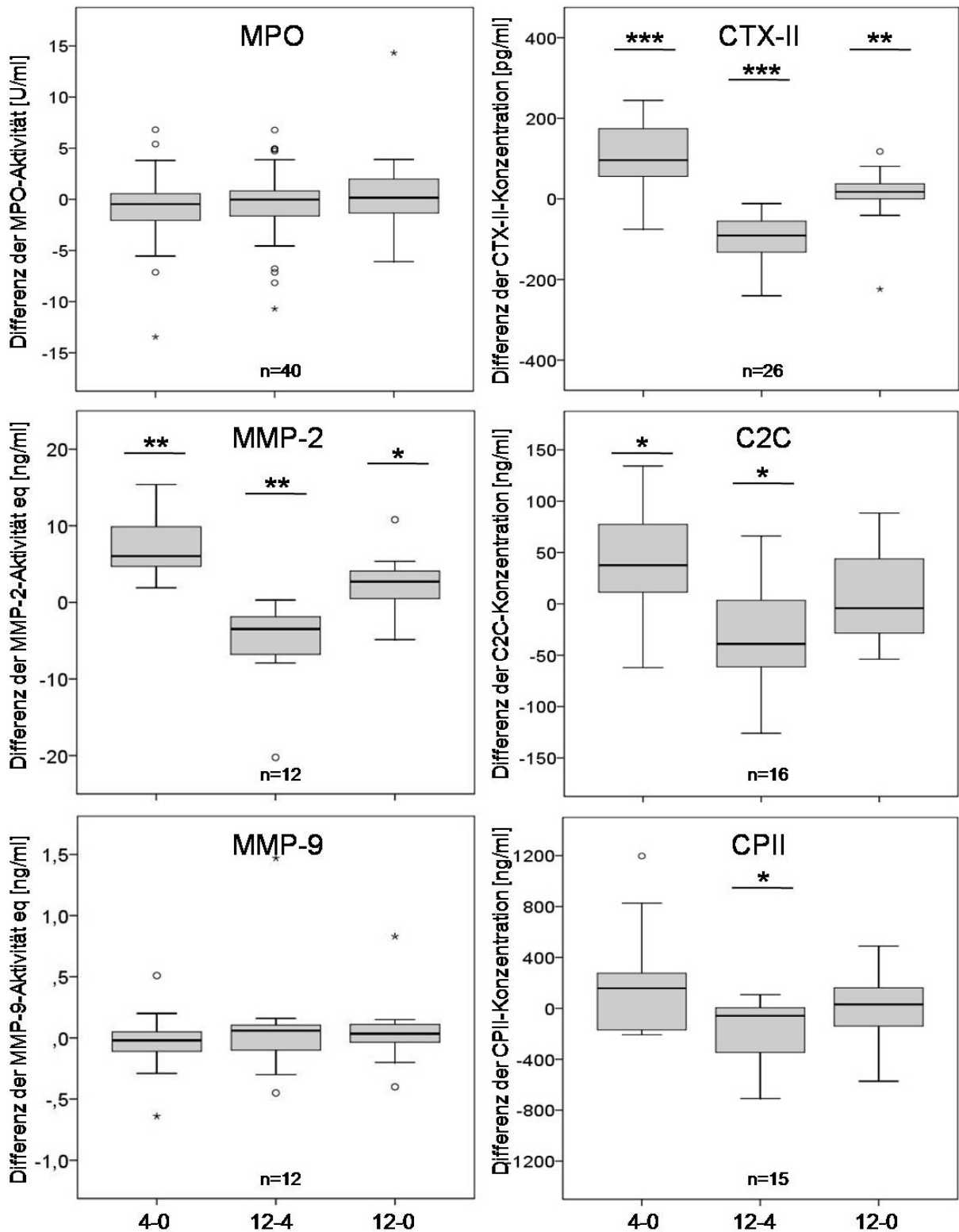


Abbildung 31: Verlaufsuntersuchungen der Biomarker in der Synovia. Dargestellt sind die Differenzen der Aktivität der MPO, MMP-2 und -9 sowie der Konzentration von CTX-II, C2C und CPII (4-0, 12-4, 12-0) aus den Proben zum Zeitpunkt der Arthroskopie (0) sowie 4 Wochen (4) und 12 Wochen (12) nach der Arthroskopie.

## ERGEBNISSE

### 5.6 Verlaufsuntersuchungen im Serum

Abbildung 32 stellt Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Serum dar und zeigt die Differenzen der Aktivität der MPO sowie der Konzentration von CTX-II der drei Messzeitpunkte. Aufgrund der Altersabhängigkeit der CTX-II-Konzentration wurden nur Tiere der Altersgruppe > 12 Monate analysiert (Anhang 7, 8).

4 Wochen post operationem wiesen 50,0% der Proben eine höhere MPO-Aktivität im Vergleich zum Tag der Arthroskopie auf. 12 Wochen post operationem sank bei 50,0% der Proben die MPO-Aktivität im Vergleich zu den Ergebnissen nach 4 Wochen, bei 59,1% auch unterhalb der Aktivität zum Zeitpunkt der Arthroskopie.

58,3% der Proben wiesen 4 Wochen post operationem eine höhere CTX-II-Konzentration im Vergleich zum Tag der Arthroskopie auf. 12 Wochen post operationem sank bei 50,0% der Proben die CTX-II-Konzentration im Vergleich zu den Ergebnissen nach 4 Wochen, bei 25,0% auch unterhalb der Ausgangskonzentration.

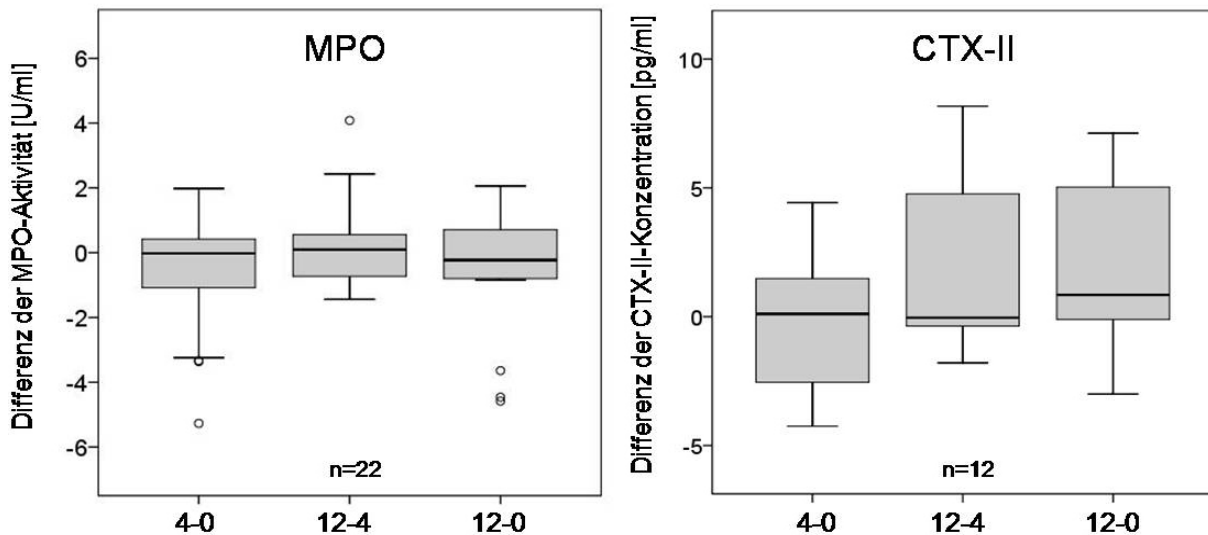


Abbildung 32: Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Serum. Dargestellt sind die Differenzen der Aktivität der MPO sowie der Konzentration von CTX-II (4-0, 12-4, 12-0) aus den Proben zum Zeitpunkt der Arthroskopie (0) sowie 4 Wochen (4) und 12 Wochen (12) nach der Arthroskopie.

### 6. DISKUSSION

Ziel der Untersuchungen war es, die Aktivität der MPO, MMP-2 und MMP-9 sowie die Konzentration von CTX-II, C2C und CPII im Serum und/oder in der Synovia bei Hunden mit FCP zu bestimmen und in Abhängigkeit vom IEWG Grad und modifizierten Outerbridge Grad der Gelenke zu analysieren. Um zusätzliche Aussagen über den postoperativen Krankheitsverlauf zu treffen, wurden diese Biomarker nach 4 und 12 Wochen erneut analysiert. Im Folgenden werden die Ergebnisse in Bezug zu diesen untersuchten Biomarkern einzeln diskutiert.

#### 6.1 Untersuchungsgut

Als Kontrolltiere dienten Hunde ohne röntgenologische Anzeichen einer OA in beiden Ellbogengelenken. Klinisch ist eine OA zwar ausgeschlossen worden, jedoch sind röntgenologische Veränderungen an anderen Gelenken denkbar, die gerade bei den Untersuchungen im Serum aufgrund der systemischen Beeinflussung eine Rolle spielen könnten.

Die an einem FCP erkrankten Tiere der vorliegenden Studie waren größtenteils Hunde schnell- und großwüchsiger Rassen mit einem medianen Gewicht von 35 kg. Am häufigsten waren Labrador Retriever, Mischlingshunde, Deutsche Schäferhunde, Rottweiler, Golden Retriever und Berner Sennenhunde erkrankt. Diese Verteilung bestätigt die Angaben anderer Autoren, die eine Prädisposition für einen FCP bei diesen Rassen angeben (Bennett et al., 1981; Berzon und Quick, 1980; Crouch, 2000; Danielson et al., 2006; Fitzpatrick et al., 2009b; Meyer-Lindenberg et al., 2002).

Mit einem Geschlechtsverhältnis von 2:1 wurde ein FCP in dieser Studie bei überwiegend männlichen Tieren diagnostiziert. Ähnliche Angaben zum Geschlechtsverhältnis zwischen männlichen und weiblichen Hunden finden sich in der Literatur und variieren zwischen 1,4:1 bis 3,6:1 (Bennett et al., 1981; Danielson et al., 2006; Fitzpatrick et al., 2009b; Gutbrod und Festl, 1999; Janthur et al., 2000; Meyer-Lindenberg et al., 2002; Winhart, 1991). Der Zusammenhang des schnelleren Größenwachstums und des damit verbundenen höheren



## DISKUSSION

---

Gewichts wird von mehreren Autoren als Ursache für die Prädisposition männlicher Tiere für einen FCP vermutet (Bennett et al., 1981; Fitzpatrick et al., 2009b; Grondalen und Grondalen, 1981; Meyer-Lindenberg et al., 2006). Auch in den eigenen Ergebnissen waren die männlichen Patienten im Vergleich zu den weiblichen schwerer.

Das Alter des Patientenguts lag zwischen 4 und 168 Monaten. Zwar treten laut Literaturangaben Lahmheiten meist zwischen dem 4. und 12. Lebensmonat auf (Denny und Gibbs, 1980; Fox et al., 1983; Grondalen, 1979; Meyer-Lindenberg et al., 2002; Morgan et al., 2000; Olsson, 1975), jedoch wird der FCP auch bei älteren Tieren diagnostiziert (Berzon und Quick, 1980; Fitzpatrick et al., 2009b; Grondalen und Grondalen, 1981; Gutbrod und Festl, 1999; Meyer-Lindenberg et al., 2002). 77,4% der Tiere waren in dieser Studie älter als 12 Monate. Da erkrankte Hunde aufgrund intermittierender Lahmheiten und Vorbehandlungen beim Haustierarzt meist relativ spät zur Arthroskopie vorgestellt werden, erfolgt die Diagnosestellung überwiegend erst nach dem 12. Lebensmonat.

In der vorliegenden Studie waren 11,5% der Ellbogen röntgenologisch unauffällig und zeigten dennoch einen FCP mit verändertem modifizierten Outerbridge Grad bei arthroskopischer Diagnostik. Dies deckt sich mit den Angaben anderer Autoren (Fitzpatrick et al., 2009b; Meyer-Lindenberg et al., 2002; Punke et al., 2009) und zeigt, dass die radiologische Untersuchung nach den Kriterien der IEWG nicht alle an einem FCP erkrankten Hunde erfasst.

Neben der IEWG-Klassifikation stellt auch die modifizierte Outerbridge-Klassifikation keine sensitive Methode zur Beurteilung des Schweregrades von Knorpelveränderungen als Folge des FCP dar, da bereits bei geringen röntgenologischen und arthroskopischen Veränderungen starke histologische Veränderungen im Gelenkknorpel nachgewiesen wurden (Goldhammer et al., 2010). Die Einteilung der arthroskopisch diagnostizierten morphologischen Veränderungen basiert nur auf subjektiven Beurteilungskriterien, da noch keine etablierten Methoden beschrieben wurden, die eine quantitative Befundung des Grades der Knorpelschäden ermöglichen (Beale et al., 2003). Zur Ergänzung der röntgenologischen und arthroskopischen Untersuchung wird daher aktuell nach objektiv messbaren Biomarkern für die Diagnostik der OA gesucht.

## DISKUSSION

---

Als Hauptprotein des artikulären Knorpels wurde Kollagen Typ-II fast ausschließlich im hyalinen Gelenkknorpel nachgewiesen. Wegen seines normalerweise sehr langsamen Metabolismus und seiner Schlüsselfunktion in der Pathogenese der OA wird Kollagen Typ-II daher als idealer Marker des Knorpelstoffwechsels postuliert (Birmingham et al., 2006).

Knorpelspezifische Biomarker wurden schon früher in verschiedenen Körperflüssigkeiten untersucht (Fietz, 2008; Matyas et al., 2004). Die Untersuchung von Knorpelmarkern im Serum oder Urin wurde jedoch in Frage gestellt, da ein großer Teil des hyalinen Knorpels außer im Gelenk auch im respiratorischen System und Rippenskelett lokalisiert ist. Eine Zunahme der systemischen Konzentration kann daher möglicherweise gelenkspezifische Veränderungen maskieren (Garvican et al., 2010b; Matyas et al., 2004). In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb das Hauptaugenmerk auf die Analyse der Biomarker in der Synovia gelegt. Diese dient dem Gelenkknorpel zum Austausch von Nährstoffen und Stoffwechselmetaboliten, so dass Veränderungen ihrer Zusammensetzung lokale, intraartikuläre pathologische Prozesse widerspiegeln (Freemont, 1996).

Die Analyse der Synovia beim Hund ist jedoch mit Problemen behaftet, da im Vergleich zum Hund von anderen Spezies ein größeres Volumen Synovia gewonnen werden kann (el Amrousi et al., 1966; Heilmann et al., 1996; van Pelt, 1967). Je nach Gelenk ist bei Pferden die Aspiration von maximal 21 ml (van Pelt, 1967) bzw. bei Rindern von bis zu 30 ml (el Amrousi et al., 1966) möglich. Pederson (1978) hingegen beschreibt die Schwierigkeit, mehr als 0,05-0,30 ml im gesunden Hundegelenk zu erhalten. Dies konnte auch im eigenen Untersuchungsgut bestätigt werden.

In der vorliegenden Studie wurde über einen Zeitraum von 2 Jahren Probenmaterial einer großen Anzahl von Tieren (n=159) gewonnen. Dennoch ist, angesichts des geringen Synoviavolumens und der Notwendigkeit mehrere Biomarker zu analysieren (Birmingham et al., 2006; Williams, 2009), der Umfang der Stichproben gerade für die Analyse in Abhängigkeit vom IEWG Grad bzw. vom modifizierten Outerbridge Grad begrenzt. Aufgrund der Vielzahl der Gruppen (IEWG Grad 0-3; modifizierter Outerbridge Grad 0-4) war es nicht in jedem Fall möglich, das Ergebnis statistisch zu sichern.

### **6.2 Proteinkonzentration und Zellzahl**

Für die Kontrolltiere der vorliegenden Studie liegt das Maximum der Zellzahl bei 1050/µl bzw. der Proteinkonzentration bei 27 mg/ml. Diese Werte liegen im Bereich der in der Literatur angegebenen Referenzwerte für normale Synovia (Boon, 1997; Ellison, 1988; Fernandez, 1983; Lipowitz, 1985; MacWilliams und Friedrichs, 2003; Parry, 1989; Sawyer, 1963). Bei degenerativen Gelenkerkrankungen können beide Parameter durch entzündliche Prozesse und der damit verbundenen Vasodilatation leicht erhöht sein (Boon, 1997; Ellison, 1988; Lipowitz, 1985; MacWilliams und Friedrichs, 2003; Parry, 1989). Entsprechend wurden in den eigenen Untersuchungen sowohl eine signifikant höhere Zellzahl (bis zu 3200 Zellen/µl) als auch eine signifikant höhere Proteinkonzentration (bis zu 46 mg/ml) bei Hunden mit FCP ermittelt. Dies deckt sich mit den Angaben von Spellmeyer (2003), die für Hunde mit FCP maximale Zellzahlen bis 3825 Zellen/µl und Proteinkonzentrationen bis 48 mg/ml angibt. Auch andere Autoren konnten bei Hunden mit degenerativen Gelenkerkrankungen signifikant höhere Zellzahlen und Proteinkonzentrationen ermitteln (Lammer, 2001; Volk et al., 2003). Da ein Anstieg der Proteinkonzentration und der Zellzahl jedoch auch bei septischen oder rheumatoiden Arthritiden zu verzeichnen ist (Boon, 1997; MacWilliams und Friedrichs, 2003) und beide Parameter keine morphologischen Veränderungen des Knorpels charakterisieren (Mc'Ilwraith et al., 2001), wurden zur Beurteilung der FCP-bedingten Knorpelveränderungen in dieser Arbeit auch spezifische Biomarker des Knorpelstoffwechsels zur Analyse herangezogen.

### **6.3 Altersabhängigkeit der Biomarker**

In kürzlich veröffentlichten Studien wurden altersabhängige Unterschiede von Biomarkern in der Synovia und im Serum von Pferden (Nicholson et al., 2010) sowie im Serum von Nagern (Huebner et al., 2010) und Hunden (Schoenherr et al., 2010) beschrieben. In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Einfluss des Alters auf knorpelspezifische Biomarker außer im Serum auch in der Synovia des caninen Ellbogengelenkes untersucht.

Während der enchondralen Ossifikation erfolgt bei juvenilen Tieren im Bereich der Epiphysen ein Abbau der extrazellulären Matrix des Knorpels zugunsten des Körperwachstums (Brama et al., 1998). Nach Beendigung des Skelettwachstums nimmt der

## DISKUSSION

---

Kollagenstoffwechsel rapide ab, so dass sich der einst physiologisch gesteigerte Gewebsumbau verringert (Eyre, 2002; Eyre et al., 2006). Da das Wachstum des Hundes mit der Fusion der Ossifikationszentren spätestens am Ende des ersten Lebensjahres beendet ist (Morgan et al., 2000; Temwichitr et al., 2010; Wolvekamp, 2002), erfolgte die Einteilung der Tiere entsprechend in die beiden Altersgruppen  $\leq 12$  Monate und  $> 12$  Monate.

In dieser Arbeit konnten altersabhängige Unterschiede der MPO-Aktivität in der Synovia und im Serum nicht nachgewiesen werden. Dem entspricht, dass auch neutrophile Granulozyten, die den Hauptspeicherort der MPO darstellen, keine altersabhängigen Unterschiede beim Hund aufweisen (Greeley et al., 2001; Strasser et al., 2000).

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals der Einfluss des Alters auf die Gruppe der Gelatinasen in der Synovia beim Hund untersucht. Dabei ergab sich eine signifikant höhere synoviale MMP-2-Aktivität in der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate im Vergleich zur Altersgruppe  $> 12$  Monate. Altersabhängige Unterschiede der MMP-9-Aktivität in der Synovia wurden nicht nachgewiesen. Vergleichbare Daten liegen aktuell für den Hund nicht vor.

In equiner Synovia wurden ebenfalls signifikant höhere Aktivitäten der MMPs bei juvenilen im Vergleich zu adulten Tieren ermittelt (Brama et al., 1998). Brama et al. (1998) setzten jedoch einen fluorimetrischen Aktivitäts-Assay mit einem unspezifischen MMP-Substrat zur Ermittlung der Gesamt-MMP-Aktivität ein. Der Einfluss der Subtypen der MMPs auf die Aktivität in der Synovia blieb dementsprechend unbeachtet.

Um den Einfluss des Alters auf die Gruppe der Gelatinasen zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Arbeit spezifische Aktivitäts-Assays zur Bestimmung der Aktivität der MMP-2 bzw. MMP-9 verwendet. Die dabei ermittelte signifikant höhere synoviale MMP-2-Aktivität gesunder, juveniler Tiere im Vergleich zu adulten, lässt auf einen physiologisch gesteigerten Gewebsumbau während der Wachstumsphase schließen. Weiterhin lassen diese Ergebnisse vermuten, dass der höhere Umsatz der Knorpelmatrix durch die Gelatinasen bei jüngeren Hunden im Wesentlichen auf die Aktivität der MMP-2 zurückzuführen ist.

In dieser Arbeit konnten signifikant höhere CTX-II-Konzentrationen im Serum und erstmals auch in der Synovia von juvenilen im Vergleich zu adulten Hunden gemessen werden. Diese Ergebnisse decken sich mit Studien im Urin von Ratten und Menschen (Hoegh-Andersen et al., 2004; Mouritzen et al., 2003), mit erst kürzlich veröffentlichten Studien im Serum von

## DISKUSSION

---

Hunden (Schoenherr et al., 2010) und Kaninchen (Duclos et al., 2010) sowie in der Synovia und im Serum von Pferden (Nicholson et al., 2010). Weiterhin zeigt diese Arbeit erstmals eine kontinuierliche Abnahme der CTX-II-Konzentration sowohl in der Synovia als auch im Serum bei Betrachtung der Jungtiere bis zum Alter von 12 Monaten. Die Wachstumsfugen enthalten eine erhebliche Menge an Kollagen Typ-II, das während des Körperwachstums kontinuierlichen Umbauprozessen unterliegt und damit zur Freisetzung von Kollagen Typ-II Metaboliten beiträgt (Olsen, 1996). Dementsprechend deutet die erhöhte CTX-II-Konzentration bei jungen Tieren darauf hin, dass ein erheblicher Teil der Analyte nicht aus dem Umsatz des Gelenkknorpels, sondern aus dem noch metabolisch aktiven Epiphysenfugenknorpel stammen könnte. Diese Ergebnisse verdeutlichen daher die potentielle Eignung von CTX-II als Biomarker zur Analyse des Kollagenstoffwechsels während der Wachstumsphase beim Hund.

Bei Hunden wies die synoviale C2C-Konzentration beim Vergleich juveniler mit adulten Tieren keinen signifikanten Unterschied auf. Dies deckt sich mit den Angaben einer erst kürzlich veröffentlichten caninen Studie von Prink et al. (2010), die jedoch Untersuchungen mit weniger Kontrolltieren (n=8) durchführten und diese nur in einer Altersgruppe von 11-24 Monaten betrachteten. Im Serum von heranwachsenden Pferden konnten signifikant höhere C2C-Konzentrationen jüngerer Tiere im Vergleich zu älteren ermittelt werden. Allerdings wurden Verlaufsuntersuchungen der C2C-Konzentrationen von Geburt an nur bis zum Alter von 12 Monaten analysiert, so dass Unterschiede zu adulten Tieren nicht erfasst wurden (Donabedian et al., 2008).

Altersabhängige Unterschiede der synovialen CPII-Konzentration beim Hund wurden in dieser Studie nicht nachgewiesen. Dies deckt sich mit Untersuchungen im caninen Serum (Schoenherr et al., 2010). Bei juvenilen Pferden nahmen die CPII-Konzentrationen bis zum Alter von 7 Monaten zu (Billinghurst et al., 2003; Donabedian et al., 2008). Im Gegensatz dazu wurden altersabhängige Unterschiede in der equinen CPII-Konzentration sowohl in der Synovia als auch im Serum zwischen Jährlingen und adulten Tieren nicht nachgewiesen (Nicholson et al., 2010).

## DISKUSSION

---

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen die Notwendigkeit einer altersabhängigen Analyse von Biomarkern, wenn Erkrankungen des Gelenkknorpels wachsender Hunde untersucht werden sollen.

Während für die Aktivität der MPO und MMP-9 sowie für die Konzentrationen von C2C und CPII keine Altersabhängigkeit ermittelt wurde, mussten für die Evaluierung der MMP-2-Aktivität und CTX-II-Konzentration in Abhängigkeit vom IEWG Grad und vom modifizierten Outerbridge Grad die Altersgruppen der Tiere ( $\leq 12$  Monate und  $> 12$  Monate) gesondert analysiert werden.

### 6.4 MPO-Aktivität

In der Pathogenese des FCP werden die degenerativen Vorgänge häufig von entzündlichen Prozessen der Synovialmembran begleitet (Goldhammer et al., 2010; van Ryssen und van Bree, 1997). Diese entzündlichen Stimuli führen zur Aktivierung und Infiltration neutrophiler Granulozyten (Steibeck et al. 2007), deren Akkumulation mit der Aktivität der MPO korreliert (Bradley et al., 1982; Mullane et al., 1985).

In der Humanmedizin wurde in der Synovia von Patienten mit Gelenkerkrankungen eine erhöhte Konzentration und/oder Aktivität der MPO nachgewiesen (Edwards et al., 1988; Hadler et al., 1979; Schiller et al., 1996; Steinbeck et al., 2007). Auch in der Veterinärmedizin konnten Korrelationen zwischen der MPO-Aktivität und der OA beim Hund (Bauer, 2006; Lammer, 2001; Spellmeyer, 2003; Spellmeyer et al., 2003; Wondratschek et al., 2009) und beim Pferd (Fietz et al., 2008a; Fietz, 2008) ermittelt werden.

Für die Kontrolltiere der vorliegenden Arbeit lag die MPO-Aktivität der Synovia im Bereich der angegebenen Werte von Bauer (2006). Im Seitenvergleich dieser gelenkgesunden Hunde wurde dabei kein signifikanter Unterschied in der synovialen MPO-Aktivität zwischen rechtem und linkem Ellbogengelenk der Kontrolltiere ermittelt. Dies wurde durch die Ergebnisse von Lammer (2001) bestätigt.

Bei einseitig erkrankten Tieren konnte im Seitenvergleich kein signifikanter Unterschied zwischen erkranktem und kontralateralem gesunden Gelenk nachgewiesen werden. Dennoch zeigten 64% der Tiere im erkrankten Gelenk eine höhere MPO-Aktivität als im kontralateralen gesunden Gelenk. Auch Bauer (2006) ermittelte bei 61% der Tiere eine

## DISKUSSION

---

höhere MPO-Aktivität des erkrankten Gelenkes im Vergleich zum kontralateralen gesunden Gelenk. Als Erkrankung des Ellbogengelenkes wird der FCP oft bilateral diagnostiziert (Fehr und Meyer-Lindenberg, 1992). Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung lag ein röntgenologischer Normalbefund der kontralateralen gesunden Gelenke vor. Da radiologisch unauffällige Ellbogengelenke einen FCP nicht ausschließen können (Lang et al., 1998; Punke et al., 2009), wäre eine Erkrankung der kontralateralen gesunden Seite jedoch denkbar. Außerdem könnte eine veränderte Belastung des kontralateralen gesunden Gelenkes durch schmerzhaft Zustände im erkrankten Gelenk zu entzündlichen Veränderungen und damit ebenfalls zum Anstieg der MPO-Aktivität führen. Für den Vergleich der MPO-Aktivität erkrankter mit gesunden Gelenken wurden deshalb nur Kontrolltiere verwendet, die klinisch und röntgenologisch keine Anzeichen einer OA in beiden Ellbogengelenken aufwiesen.

In der vorliegenden Studie ist die MPO-Aktivität in der Synovia von Hunden mit FCP im Vergleich zu Kontrolltieren signifikant erhöht. Entsprechende Ergebnisse konnten auch von anderen Autoren bestätigt werden, die für Hunde mit FCP bis zu 30-fach höhere synoviale MPO-Aktivitäten angeben (Lammer, 2001; Spellmeyer, 2003). Sowohl in den Untersuchungen von Bauer (2006) als auch im eigenen Untersuchungsgut lässt sich dies im selben Ausmaß nicht bestätigen. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass Lammer (2001) und Spellmeyer (2003) die MPO-Aktivität mit einem unspezifischen o-Dianisidin-Assay bestimmten. Sowohl in der vorliegenden Arbeit als auch in den Untersuchungen anderer Autoren (Bauer, 2006; Fietz, 2008) wurde ABAH als spezifischer Inhibitor der MPO (Winterbourn et al., 2000) eingesetzt. Da Lammer (2001) keinen Inhibitor einsetzte und Spellmeyer (2003) den unspezifischen Inhibitor Natriumazid (Davies und Edwards, 1989) verwendete, ist die hohe Enzymaktivität möglicherweise durch die Messung der Gesamtperoxidaseaktivität zu erklären, da auch andere Peroxidasen o-Dianisidin als Substrat umsetzen können (Vygodina und Konstantinov, 2007).

In der Synovia der Tiere mit FCP wurden hohe MPO-Aktivitäten mit Maximalwerten bis 11,53 U/ml ermittelt. Die Proben wurden zwar makroskopisch auf Blutverunreinigungen untersucht, aber eine mögliche Kontamination mit Blut kann punktionsbedingt nicht völlig ausgeschlossen werden (Hardy und Wallace, 1974).

## DISKUSSION

---

Sowohl die eigenen Untersuchungen als auch die Untersuchungen von Bauer (2006) zeigten eine höhere MPO-Aktivität im Serum erkrankter Hunde im Vergleich zu Kontrolltieren. Im Gegensatz dazu konnte Spellmeyer (2003) keinen Unterschied in der MPO-Aktivität nachweisen. Wie bereits erwähnt ist dabei zu berücksichtigen, dass andere Peroxidasen zur Beeinflussung der MPO-Aktivität geführt haben könnten (Spellmeyer, 2003).

Sowohl in der Synovia als auch im Serum wurde kein signifikanter Unterschied zwischen dem IEWG Grad bzw. dem modifizierten Outerbridge Grad und der Enzymaktivität ermittelt, was in Übereinstimmung zu den Ergebnissen von anderen Autoren steht (Lammer, 2001; Spellmeyer, 2003).

### 6.5 MMP-2- und MMP-9-Aktivität

MMP-2 und -9 gehören zur Familie der MMPs, die eine Schlüsselfunktion bei der Degradation der Knorpelmatrix einnehmen (Martel-Pelletier et al., 2001). Bei degenerativen Gelenkerkrankungen konnten im Knorpel von Hunden erhöhte mRNA-Expressionen der Gelatinasen MMP-2 und -9 nachgewiesen werden (Clements et al., 2009; Muir et al., 2005). Diese muss jedoch nicht unbedingt mit der Aktivität der jeweiligen Enzyme korrelieren (Volk et al., 2003). In der vorliegenden Arbeit wurde bei Hunden erstmals die Aktivität der Gelatinasen mittels Aktivitäts-Assay bestimmt und mit den Ergebnissen der Zymographie verglichen.

Die Gelatine-Zymographie dient dem Nachweis von MMP-2 und -9 (Kleiner und Stetler-Stevenson, 1994). Sie liefert wichtige Informationen über die Identität der Proteinase und dient dem semiquantitativen Vergleich deren Aktivität in verschiedenen Proben (Snoek-van Beurden und Von den Hoff, 2005; Volk et al., 2003). Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt, kann die proteolytische Aktivität der Gelatinasen durch EDTA inhibiert werden, was deren Zugehörigkeit zur Gruppe der Metalloenzyme bestätigt (Birkedal-Hansen et al., 1993; Gendron et al., 1999).

Bezüglich des Molekulargewichts der Gelatinasen beim Hund werden in der Literatur unterschiedliche Angaben gemacht. Verschiedene Autoren beschreiben charakteristische Banden mit einem Molekulargewicht von 62-67 kDa (aktive MMP-2) bzw. von 88-92 kDa (latente MMP-9) und 75-84 kDa (aktive MMP-9) (Chu Py et al., 2002; Coughlan et al., 1998a;



## DISKUSSION

---

Coughlan et al., 1998b; Gilbert et al., 1997; Hirayama et al., 2002; Volk et al., 2003; Yokota et al., 2001). Da in dieser Arbeit die Hauptbande in der Zymographie zwischen der 55 kDa- und 72 kDa-Bande des Proteinstandards bzw. auf Höhe der mitgeführten humanen MMP-2 (aktive Form = 64 kDa) (Kim et al., 2010) lag und Untersuchungen in caniner Synovia eine latente Form der MMP-2 bisher nicht nachwiesen (Volk et al., 2003), wurde die detektierte Bande als aktive Form der MMP-2 interpretiert.

In normaler Synovia wurde beim Hund (Coughlan et al., 1998a), Rind (Arican et al., 2000) und Pferd (Clegg et al., 1997) nur die gelatinolytische Bande der MMP-2, nicht aber der MMP-9 gezeigt. Zu berücksichtigen ist dabei jedoch, dass diese Autoren die Synovialproben ausschließlich in einer Verdünnung von 1:20 einsetzten. Auch in der vorliegenden Arbeit wurde in einer Verdünnung von 1:20 ausschließlich die gelatinolytische Bande der MMP-2 dargestellt. Nach Optimierung der Menge der eingesetzten Synovia konnte in einer Verdünnung von 1:2 erstmals auch die gelatinolytische Aktivität der MMP-9 in der Synovia gelenkgesunder Hunde nachgewiesen werden. Da die gezeigte Bande der eigenen Untersuchungen auf Höhe des eingesetzten Standards der humanen MMP-9 (92 kDa) lag, wurde die gelatinolytische Bande als latente Form der MMP-9 interpretiert.

Die Darstellung intensiverer Gelatinolysebanden sowohl der MMP-2 als auch der MMP-9 in der Synovia von Gelenken mit FCP lässt auf eine höhere Aktivität der MMP-2 und -9 im Vergleich zu Kontrollen schließen. Diese Ergebnisse werden durch die Untersuchungen von Synovia arthritischer Hunde bestätigt (Coughlan et al., 1998a; Volk et al., 2003). Auch bei Gelenkerkrankungen von Pferden (Clegg et al., 1997; Fietz et al., 2008b), Rindern (Arican et al., 2000) und Menschen (Maiotti et al., 2000) wurden erhöhte synoviale Gelatinase-Aktivitäten beschrieben.

Die quantitative Analyse der Gelatinasen mit Hilfe der Zymographie ist jedoch auch mit Problemen behaftet. Canine Standards fehlen bisher, so dass humane MMP-2 und -9 eingesetzt wurde, um die Identität der Gelatinasen nachzuweisen. Weiterhin sind der enorme Zeitaufwand und die geringere Spezifität von Nachteil, so dass die Anwendung von Aktivitäts-Assays, die eine spezifische, quantitative Analyse dieser Biomarker ermöglichen, wesentliche Vorteile bietet (Kupai et al., 2010; Smith et al., 1999; Zucker et al., 1994).

Zur Messung der Gelatinasen in der Synovia fanden Aktivitäts-Assays bereits bei verschiedenen Spezies Anwendung (Fietz et al., 2008b; Smith et al., 1999; Tchetverikov et al., 2004). In der vorliegenden Arbeit erfolgte ihr Einsatz auch erstmals in caniner Synovia.

## DISKUSSION

---

Aufgrund der ermittelten Altersabhängigkeit wurden beim Vergleich der MMP-2-Aktivität in der Synovia von Gelenken mit FCP und Kontrollgelenken die Altersgruppen  $\leq 12$  Monate und  $> 12$  Monate gesondert analysiert. In der Altersgruppe  $\leq 12$  Monate lassen sich keine Unterschiede in der MMP-2-Aktivität zwischen Kontrollen und erkrankten Tieren ermitteln. Da der Gelenkknorpel während der enchondralen Ossifikation ständigen Umbauprozessen unterliegt (Liebich, 2004), ist die Evaluierung der MMP-2-Aktivität während des Zeitraums der Wachstumsphase jedoch kritisch zu betrachten. Anhand der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wird deutlich, dass in der Wachstumsphase nur Tiere im selben Lebensmonat verglichen werden sollten.

Bei adulten Tieren, bei denen der Knorpelmetabolismus im Vergleich zu juvenilen deutlich langsamer ist (Brama et al., 1998), soll die erhöhte MMP-2-Aktivität eine Zunahme der Degradation der Knorpelmatrix reflektieren (Marini et al., 2003). In der Altersgruppe  $> 12$  Monate wurde eine signifikant höhere synoviale MMP-2-Aktivität von Gelenken mit FCP im Vergleich zu Kontrollen ermittelt, was in Übereinstimmung zu den Ergebnissen von Fietz (2008) bei osteoarthritischen Pferden steht.

Der Nachweis einer signifikant erhöhten synovialen Aktivität der MMP-2 und -9 in Gelenken mit FCP mittels Aktivitäts-Assay unterstreicht die Ergebnisse der Zymographie. Der Einsatz des höheren Verdünnungsfaktors für die MMP-2, sowohl in der zymographischen Analyse als auch bei Verwendung des Aktivitäts-Assays, bestätigt die höhere Aktivität der MMP-2 im Vergleich zur MMP-9 in der Synovia von Gelenken mit FCP.

Die synoviale Aktivität der Gelatinasen in Abhängigkeit vom IEWG Grad und vom modifizierten Outerbridge Grad wurde in dieser Studie erstmals beschrieben. Humanstudien belegen, dass die zymographische Aktivität der MMPs mit dem Schweregrad der arthroskopisch diagnostizierten Knorpelveränderungen korreliert (Maiotti et al., 2000; Marini et al., 2003). Patienten mit gering- bis mittelgradigen Knorpelveränderungen zeigten eine signifikant niedrigere zymographische MMP-2-Aktivität als Patienten mit hochgradigen Knorpelläsionen bis zum subchondralen Knochen (Marini et al., 2003). Eine kürzlich veröffentlichte Arbeit von Clements et al. (2009) wies eine positive Korrelation der mRNA-Expressionen der Gelatinasen bei Hunden in Abhängigkeit vom IEWG Grad nach. Allerdings wurde nicht untersucht, ob diese mRNA-Expression auch mit der Aktivität der MMP-2 und -9 korreliert (Clements et al., 2009). In der vorliegenden Arbeit erfolgte daher die Analyse erstmals mittels Aktivitäts-Assay. So wurden zunehmende Gelatinase-Aktivitäten sowohl in

Abhängigkeit von arthroskopisch diagnostizierten Knorpelveränderungen als auch in Abhängigkeit von röntgenologischen Veränderungen ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Gelatinasen geeignete Biomarker zur Unterstützung der bildgebenden diagnostischen Verfahren sein könnten. Allerdings sollte dies durch einen höheren Stichprobenumfang in weiterführenden Untersuchungen abgesichert werden.

### **6.6 CTX-II- und C2C-Konzentration**

In der Pathogenese der OA führt die Degradation der extrazellulären Knorpelmatrix durch proteolytische Spaltung von Kollagen Typ-II zur Freisetzung von CTX-II und C2C (Birmingham et al., 2006). In der Veterinärmedizin konzentriert sich die Evaluierung von CTX-II (Duclos et al., 2010; Lindhorst et al., 2005; Oestergaard et al., 2006) und C2C (Chu et al., 2002; Lopez et al., 2006; Wei et al., 2010) in der Synovia und/oder im Serum vorwiegend auf experimentelle Studien. Bei Hunden ermittelten Studien im experimentellen Tiermodell sowohl eine signifikant höhere CTX-II-Konzentration (Intema et al., 2010; Matyas et al., 2004) als auch eine signifikant höhere C2C-Konzentration (Chu et al., 2002; Matyas et al., 2004) osteoarthritischer Gelenke, so dass beide Parameter als potentielle Biomarker in der Diagnostik der Frühphase der OA postuliert wurden. Wie unter Punkt 6.8 diskutiert, ist der direkte Vergleich der Ergebnisse von experimentellen und klinischen Studien nur bedingt möglich.

Die klinische Relevanz von C2C als Biomarker in der Diagnostik der OA beim Hund wurde bisher nur vereinzelt untersucht (Hayashi et al., 2009; Prink et al., 2010). Prink et al. (2010) geben eine signifikant höhere synoviale C2C-Konzentration erkrankter Gelenke an. Da ihre Untersuchungen sowohl beide Gelenke bilateral erkrankter Tiere als auch beide Kontrollgelenke einschließen, führt dies zu einer statistischen Überrepräsentation. In der vorliegenden klinischen Arbeit konnte zwischen Kontrollgelenken und erkrankten Gelenken kein signifikanter Unterschied in der C2C-Konzentration ermittelt werden. Gleiche Ergebnisse fanden auch Hayashi et al. (2009), so dass die Messung der C2C-Konzentration in der Diagnostik der OA infolge des FCP beim Hund eher kritisch zu beurteilen ist.

## DISKUSSION

---

Die vorliegende Arbeit stellt eine erste klinische Studie dar, die CTX-II in der Synovia und im Serum osteoarthritischer Hunde analysiert. Während zwischen rechtem und linkem Gelenk der Kontrolltiere kein Unterschied festgestellt wurde, konnte bei Hunden mit FCP eine signifikant höhere CTX-II-Konzentration des erkrankten Gelenkes im Vergleich zum kontralateralen gesunden Gelenk desselben Tieres ermittelt werden. Dies deckt sich mit Ergebnissen aus einem caninen Tiermodell von Matyas et al. (2004). Beim Vergleich der synovialen CTX-II-Konzentration von Kontrollgelenken mit erkrankten Gelenken wurde in beiden Altersgruppen kein Unterschied nachgewiesen. Bei osteoarthritischen Pferden konnte in einer klinischen Studie eine signifikant höhere Konzentration von CTX-II ermittelt werden (Fietz, 2008). Zu berücksichtigen ist dabei jedoch, dass auch bei Analysen equiner Synovia der Einfluss des Alters eine wesentliche Rolle spielt. Bei Jährlingen wurde eine signifikant niedrigere CTX-II-Konzentration im Vergleich zu Adulten ermittelt (Nicholson et al., 2010). Dies konnte bei Fietz (2008) aufgrund des geringen Stichprobenumfangs in der Altersgruppe der Jährlinge beim Pferd nicht berücksichtigt werden.

Im Serum wiesen Oestergaard et al. (2006) keinen signifikanten Unterschied der CTX-II-Konzentration zwischen Kontrollen und erkrankten Tieren nach. Andere Studien ermittelten bei degenerativen Gelenkerkrankungen sowohl höhere (Duclos et al., 2010; Matyas et al., 2004) als auch niedrigere Konzentrationen (Nicholson et al., 2010) des Biomarkers im Vergleich zu Kontrolltieren. Auch in der vorliegenden Arbeit wurden unterschiedliche Ergebnisse in Abhängigkeit der analysierten Altersgruppen ermittelt. Es ist daher fraglich, ob die CTX-II-Konzentration im Serum in der Diagnostik der OA infolge des FCP herangezogen werden kann.

### 6.7 CII-Konzentration

Als Biomarker der Knorpelsynthese ist CII ein Propeptid-Fragment, das im Prozess der Kollagen-Synthese freigesetzt wird (Henrotin et al., 2007).

Beim Hund spricht eine gesteigerte mRNA-Expression von Kollagen Typ-II im OA Knorpel für eine erhöhte metabolische Aktivität der Knorpelzellen (Matyas et al., 1995, 1997). Wie Nelson et al. (1998) nachwies, korreliert die von den Chondrozyten modulierte Synthese von Kollagen Typ-II dabei direkt mit der CII-Konzentration.

## DISKUSSION

---

In der vorliegenden Arbeit wird erstmals die CPII-Konzentration in der Synovia von Hunden mit FCP untersucht. Es konnten sowohl signifikant höhere CPII-Konzentrationen von erkrankten Gelenken im Vergleich zu kontralateralen gesunden Gelenken als auch im Vergleich zu Gelenken von Kontrolltieren nachgewiesen werden. Ähnliche Ergebnisse wurden auch bei degenerativen Gelenkerkrankungen von Menschen (Lohmander et al., 1996; Sugiyama et al., 2003) und Pferden (Frisbie et al., 2008; Nicholson et al., 2010) ermittelt.

Bei Menschen wird beschrieben, dass bereits Fehlbelastungen des Kniegelenkes zu einer Zunahme der Kollagen Typ-II Synthese führen, da die synoviale CPII-Konzentration signifikant positiv mit gesteigertem biomechanischen Stress korreliert (Kobayashi et al., 2000). Auch in der Pathogenese des FCP beim Hund wird von einigen Autoren eine abnorme Biomechanik des Ellbogengelenkes mit Überlastung des Proc. coronoideus medialis ulnae angenommen (Samoy et al., 2006; Temwichitr et al., 2010). Die Degradation der extrazellulären Matrix des Knorpels führt zur gesteigerten Kollagen Typ-II Synthese durch die Chondrozyten (Birmingham et al., 2006). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen daher auf eine höhere Syntheserate von Kollagen Typ-II in der Pathogenese des FCP schließen.

In dieser Studie wiesen Gelenke mit modifiziertem Outerbridge Grad 4 niedrigere CPII-Konzentrationen im Vergleich zu Gelenken mit geringeren Knorpelveränderungen auf. Auch beim Menschen wurden, verglichen mit mittelgradigen Knorpelläsionen, niedrigere synoviale CPII-Konzentration bei Patienten mit hochgradigen Veränderungen ermittelt (Ishiguro et al., 1999). Nach der modifizierten Outerbridge-Klassifikation charakterisiert Grad 4 einen Knorpelverlust bis zum subchondralen Knochen (Schulz, 2003). Das Ausmaß der histologisch diagnostizierten degenerativen Veränderungen der Knorpelmatrix korreliert dabei stark mit einer zunehmenden Apoptose der Chondrozyten (Hashimoto et al., 1998). Da diese für die Produktion der extrazellulären Matrix verantwortlich sind (Muir, 1995), ist der Abfall der CPII-Konzentration durch eine Verringerung der Syntheseleistung zu erklären. Der Einfluss des Grades der Knorpeldegradation sollte in weiteren Untersuchungen mit einem höheren Stichprobenumfang analysiert werden.

### 6.8 Verlaufsuntersuchungen

Untersuchungen von Biomarkern des Knorpelstoffwechsels zum Verlauf der OA wurden bisher in der Synovia und/oder im Serum vorwiegend in experimentellen Studien durchgeführt (Chu et al., 2002; Duclos et al., 2010; Lindhorst et al., 2005; Lopez et al., 2006; Stoop et al., 2001). Wesentliche Vorteile dieser Tiermodelle, die eine klinische OA imitieren, sind zum einen die Kenntnis des genauen Zeitpunktes des Krankheitsbeginns und zum anderen die Möglichkeit der Evaluierung von Biomarkern sowohl vor als auch nach induziertem Trauma (Matyas et al., 2004).

Die vorliegende Arbeit ist eine erste klinische Pilotstudie beim Hund, in der ausgewählte Biomarker des Knorpelstoffwechsels 4 und 12 Wochen nach arthroskopischer Entfernung des FCP untersucht wurden. Ziel dieser postoperativen Verlaufsuntersuchungen war es, zu analysieren, ob diese Biomarker zur Bewertung therapeutischer Maßnahmen herangezogen werden können.

Die Untersuchung von knorpelspezifischen Biomarkern wird in klinischen Studien dadurch erschwert, dass der Beginn der Knorpeldegradation für jeden Probanden nicht genau definiert werden kann. Außerdem reflektieren die ermittelten Konzentrationen bzw. Aktivitäten der Biomarker in der Therapiekontrolle nur den momentanen Zustand zum jeweiligen Messzeitpunkt. Ein weiterer Diskussionspunkt dieser und weiterer klinischer Studien ist der unvermeidbare Einsatz von nichtsteroidalen Antiphlogistika. Zwar wurden eventuelle Vorbehandlungen beim Haustierarzt durch die Anamnese weitgehend ausgeschlossen, jedoch ist der Verzicht auf analgetisch wirkende Medikamente aufgrund der Besitzer-Compliance nach dem arthroskopischen Eingriff nicht möglich. Wegen ihrer analgetischen Wirkung werden sie bei Hunden mit FCP nach der Operation eingesetzt (Fitzpatrick et al., 2009a). Da verschiedene Studien ihren antiinflammatorischen Effekt und den Einfluss auf Biomarker des Knorpelstoffwechsels in der Synovia und/oder im Serum bei Gelenkerkrankungen nachwiesen (Fradette et al., 2007; Gineyts et al., 2004; Oestergaard et al., 2008), wurde ihr Einsatz in dieser Studie auf einen Zeitraum von 14 Tagen begrenzt.

In der vorliegenden Arbeit ließen sich 4 Wochen nach der OP signifikant höhere Konzentrationen von C2C und bei adulten Hunden auch signifikant höhere Konzentrationen von CTX-II in der Synovia nachweisen. Auch im experimentellen Tiermodell konnten nach 4 Wochen signifikant höhere Konzentrationen dieser Biomarker bei Kaninchen (Lindhorst et

## DISKUSSION

---

al., 2005) bzw. bei Hunden (Chu et al., 2002; Lopez et al., 2006) nachgewiesen werden. Einige Autoren führen den postoperativen Anstieg von CTX-II und C2C auf die Entzündungsreaktion infolge des chirurgischen Eingriffs zurück (Duclos et al., 2010; Lopez et al., 2006). Im Rahmen der postoperativen Entzündungsreaktion werden auch proinflammatorische Zytokine sezerniert (Martel-Pelletier, 1999), die zum Anstieg der Proteinkonzentration, zur Einwanderung von Entzündungszellen in den Gelenkspalt (MacWilliams und Friedrichs, 2003) und zur Freisetzung von MMPs (Cawston et al., 1995; Goldring et al., 2008) führen können. Diese Zusammenhänge wurden auch in dieser Studie nachgewiesen. So zeigen die vorliegenden Ergebnisse 4 Wochen nach der Arthroskopie einen Anstieg aller Biomarker, der für die synoviale Proteinkonzentration, die Zellzahl und die MMP-2-Aktivität signifikant war. Nach 12 Wochen kann ein Abfall der Werte beobachtet werden. In einigen Verläufen erreichen diese Werte nach 12 Wochen sogar signifikant niedrigere Werte als am Tag der Arthroskopie, was auf die potentielle Eignung dieser Parameter für die Therapiekontrolle hinweist. Um genauere Aussagen zu treffen, ob sich diese Biomarker als prognostische Marker im Krankheitsverlauf beim FCP eignen, sollten weitere Untersuchungen über einen längeren Zeitverlauf und mit größerem Stichprobenumfang durchgeführt werden.

### 7. ZUSAMMENFASSUNG

#### **Biochemische Marker in der Diagnostik der Osteoarthritis infolge des fragmentierten Processus coronoideus medialis ulnae beim Hund**

Als Erkrankung des Ellbogengelenkes wird der fragmentierte Processus coronoideus medialis ulnae (FCP) häufig schon bei jungen Hunden als Ursache für chronische Lahmheiten der Schultergliedmaße bei prädisponierten Rassen diagnostiziert. Im Rahmen der Osteoarthritis führt die Entwicklung von degenerativen Gelenkveränderungen bereits frühzeitig zur Schmerz- und Bewegungseinschränkung der Hunde. Derzeit existieren keine bildgebenden Verfahren, die eine Frühdiagnose der Osteoarthritis ermöglichen und die auch für Verlaufsuntersuchungen zur Beurteilung der Progression von Knorpelschäden herangezogen werden können. Die Analyse von knorpelspezifischen Biomarkern, die bisher noch auf experimentelle und pre-klinische Studien begrenzt ist, könnte daher eine wertvolle Ergänzung zur klinischen und bildgebenden Diagnostik darstellen.

Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Aktivitäten der MPO, MMP-2 und MMP-9 sowie der Konzentrationen von CTX-II, C2C und CPII auf ihren potentiellen Einsatz als biochemische Marker in der Diagnostik der Osteoarthritis infolge des FCP beim Hund. Weiterhin wurde untersucht, ob diese Biomarker Aussagen zur Beurteilung des Grades der Gelenkdestruktion und zum Verlauf der Erkrankung erlauben.

Synovia- und Serumproben wurden von 159 an einem FCP erkrankten Tieren am Tag der Arthroskopie gewonnen. Einige Proben wurden in Verlaufsuntersuchungen nach 4 und 12 Wochen analysiert. Kontrollproben entstammen von röntgenologisch unauffälligen Tieren. Der Schweregrad der Osteoarthritis bei Tieren mit einem FCP wurde röntgenologisch in Anlehnung an die Kriterien der International Elbow Working Group (IEWG) sowie arthroskopisch nach der modifizierten Outerbridge Klassifikation beurteilt.

Im Verlauf dieser Studie wurde die Notwendigkeit einer altersabhängigen Untersuchung der Biomarker des Kollagenstoffwechsels deutlich. Da für die CTX-II-Konzentration und die MMP-2-Aktivität starke altersabhängige Unterschiede in den Tieren ermittelt wurden, erfolgte



## ZUSAMMENFASSUNG

---

die Analyse dieser Biomarker in 2 Altersgruppen ( $\leq 12$  Monate,  $> 12$  Monate). Der Einfluss des Alters konnte bei der Analyse der MMP-9- und MPO-Aktivität sowie der C2C- und CPII-Konzentration vernachlässigt werden.

Mittels MPO-Aktivitätsassay wurde sowohl in der Synovia als auch im Serum eine signifikant höhere MPO-Aktivität von Tieren mit FCP im Vergleich zu Kontrolltieren nachgewiesen. In Abhängigkeit vom IEWG-Grad und modifizierten Outerbridge-Grad konnte kein signifikanter Unterschied ermittelt werden.

In der Gelatine-Zymographie wurde in der Synovia von Gelenken mit FCP eine höhere MMP-2- und MMP-9-Aktivität im Vergleich zu Kontrollgelenken nachgewiesen. Eine genaue Quantifizierung erfolgte mittels Aktivitäts-Immuno-Assays. Die MMP-9-Aktivität in der Synovia erkrankter Gelenke war im Vergleich zu Kontrollgelenken signifikant erhöht. Die MMP-2-Aktivität war in der Altersgruppe  $> 12$  Monaten in der Synovia erkrankter Gelenke signifikant höher im Vergleich zu Kontrollen.

Die knorpelabbauenden (CTX-II und C2C) und knorpelaufbauenden (CPII) Marker des Kollagen-Typ-II Stoffwechsels wurden mittels Immunoassays bestimmt. Zwischen der synovialen C2C-Konzentration von Kontrollgelenken und erkrankten Gelenken wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Beim Vergleich von erkrankten Gelenken mit kontralateralen gesunden Gelenken desselben Tieres konnte eine signifikant höhere synoviale CTX-II-Konzentration ermittelt werden. In der Altersgruppe  $> 12$  Monate konnte in der Synovia ein signifikanter Unterschied innerhalb der IEWG Grade mit höheren CTX-II-Konzentrationen bei stärkeren röntgenologischen Veränderungen nachgewiesen werden. Die CPII-Konzentration in der Synovia war signifikant höher in Gelenken mit FCP im Vergleich zu Kontrollgelenken.

Postoperative Verlaufsuntersuchungen in der Synovia zeigten nach einem signifikanten Anstieg von Zellzahl, Proteinkonzentration, MMP-2-Aktivität sowie von CTX-II- und C2C-Konzentrationen nach 4 Wochen einen Abfall nach 12 Wochen. Für einzelne Tiere wurden niedrigere Werte im Vergleich zur Ausgangskonzentration ermittelt.

## ZUSAMMENFASSUNG

---

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Aktivität der MPO, MMP-2 und MMP-9 sowie die CII-Konzentration Gelenkveränderungen in der Synovia widerspiegeln und als zusätzliche Parameter in der Diagnostik der Osteoarthritis infolge des FCP beim Hund herangezogen werden können. Erste Ergebnisse von Verlaufsuntersuchungen weisen auf die potentielle Eignung dieser Biomarker für die Therapiekontrolle beim FCP hin.

### 8. SUMMARY

#### **Biochemical markers in the diagnostics of osteoarthritis due to fragmented medial coronoid process of the ulna in the dog**

As a condition affecting the elbow joint, fragmented medial coronoid process (FMCP) is frequently diagnosed as causing chronic lameness of the thoracic limb even in young dogs of predisposed breeds. In the form of osteoarthritis, the development of degenerative processes within the joint typically causes pain and restrictions to movement early on. Currently, no imaging techniques exist allowing for an early diagnosis of osteoarthritis and for follow-up examinations to assess the progression of cartilage damage. The analysis of cartilage-specific biomarkers, which so far has been limited to experimental and pre-clinical trials, could therefore prove a valuable complement to clinical and imaging diagnostics.

The aim of this study was to examine MPO, MMP-2 and MMP-9 activities as well as CTX-II, C2C and CPII concentrations with a view to their potential use as biochemical markers in the diagnostics of osteoarthritis due to FMCP in dogs. Furthermore, it was examined whether these biomarkers allow an assessment of the degree of joint destruction and of the progression of the disease.

Samples of synovia and serum were taken immediately before arthroscopy from 159 dogs suffering from FMCP. Some samples were analysed in follow-up examinations after 4 and 12 weeks. Control samples were obtained from radiologically normal animals. The severity of osteoarthritis of animals with FMCP was determined by radiography according to the International Elbow Working Group's (IEWG) criteria and by arthroscopy according to the modified Outerbridge classification.

In the course of this study the necessity of an age-specific analysis of biomarkers for the collagen metabolism became evident. For the CTX-II concentration and the MMP-2 activity sizeable age-dependent differences were found. Therefore the analysis of these biomarkers was conducted in separate within two age groups of animals ( $\leq 12$  months,  $> 12$  months).

## SUMMARY

---

Age-dependency could be disregarded for the analysis of MMP-9 and MPO activities as well as for C2C and CPII concentrations.

Using an MPO activity assay, this study revealed a significantly increased MPO activity both in the synovia and in the serum of animals with FMCP relative to the control group. As measured by the IEWG-score and the modified Outerbridge-score no significant difference could be found.

By way of gelatine-zymography an increased MMP-2 and MMP-9 activity could be detected in the synovia of FMCP affected joints relative to control joints. Immunocapture activity assays were then employed for exact quantification. MMP-9 activity was significantly elevated in the synovia of FMCP affected joints. MMP-2 activity was significantly increased in the synovia of FMCP affected joints within the age group > 12 months as compared to the controls.

Biomarkers of cartilage degradation (CTX-II and C2C) and synthesis (CPII) of collagen type-II metabolism were detected by way of immunoassays. No significant difference was found between the synovial C2C concentration within FMCP affected and control joints. A comparison of FMCP affected joints with contralateral healthy joints of the same animal revealed a significant increased synovial CTX-II concentration. In the age group > 12 month a significant difference within the IEWG scores with elevated CTX-II concentration together with severe radiographic change could be established. The CPII concentration in the synovia was significantly elevated in joints affected by FMCP relative to the control.

Post-surgical follow-up examination of the synovia revealed first a significant increase after 4 weeks in cell counts, protein concentration, MMP-2 activity as well as CTX-II and C2C concentrations and then a reduction after 12 weeks. For some animals, values were found below their initial concentration.

The results of the present study show that activities of MPO, MMP-2 and MMP-9 as well as CPII concentration in the synovia reflect changes in the joints and are, therefore, suitable for use as additional parameters in the diagnosis of osteoarthritis due to FMCP in dogs. First results of follow-up examinations also suggest the usefulness of these biomarkers in the monitoring of therapeutic interventions with regard to FMCP.

### 9. LITERATURVERZEICHNIS

Abe, S.; Nagai, Y. (1973):

Evidence for the presence of a complex of collagenase with alpha2-macroglobulin in human rheumatoid synovial fluid: a possible regulatory mechanism of collagenase activity in vivo. *J Biochem.* 73(4), 897-900.

Abu-Soud, H. M.; Hazen, S. L. (2000):

Nitric oxide modulates the catalytic activity of myeloperoxidase. *J Biol Chem.* 275(8), 5425-30.

ap Gwynn, I.; Wade, S.; Ito, K.; Richards, R. G. (2002):

Novel aspects to the structure of rabbit articular cartilage. *Eur Cell Mater.* 4, 18-29.

Arican, M.; Coughlan, A. R.; Clegg, P. D.; Carter, S. D. (2000):

Matrix metalloproteinases 2 and 9 activity in bovine synovial fluids. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 47(8), 449-56.

Babior, B. M. (1999):

NADPH oxidase: an update. *Blood.* 93(5), 1464-76.

Baker, M. S.; Green, S. P.; Lowther, D. A. (1989):

Changes in the viscosity of hyaluronic acid after exposure to a myeloperoxidase-derived oxidant. *Arthritis Rheum.* 32(4), 461-7.

Bardet, J. F. (1997):

Arthroscopy of the elbow in dogs. Part II: The cranial portals in the diagnosis and treatment of the lesions of the coronoid process. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 10, 60-66.

Barr, A. R. S.; Denny, H. R. (1985):

The management of elbow instability caused by premature closure of the distal radius growth plate in dogs. *Journal of Small Animal Practice.* 26, 427-435.

Baskol, G.; Demir, H.; Baskol, M.; Kilic, E.; Ates, F.; Karakukcu, C.; Ustdal, M. (2006):

Investigation of protein oxidation and lipid peroxidation in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Biochem Funct.* 24(4), 307-11.

Bauer, E. L. (2006):

Myeloperoxidase und C-reaktives Protein als Marker bei caniner Osteoarthritis. Berlin, Freie Universität, Dissertation.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Beale, B. S.; Hulse, D. A.; Schulz, K. S.; Whitney, W. O. (2003):  
Small animal arthroscopy.  
Philadelphia: Saunders. ISBN:0-7216-8969-8.

Bennett, D.; Duff, S. R.; Kene, R. O.; Lee, R. (1981):  
Osteochondritis dissecans and fragmentation of the coronoid process in the elbow joint of the dog.  
Vet Rec. 109(15), 329-36.

Berzon, J. L.; Quick, C. B. (1980):  
Fragmented coronoid process: Anatomical, clinical, and radiographic considerations with case analyses.  
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 16, 241-251.

Bhosale, A. M.; Richardson, J. B. (2008):  
Articular cartilage: structure, injuries and review of management.  
Br Med Bull. 87, 77-95.

Billinghurst, R. C.; Brama, P. A.; van Weeren, P. R.; Knowlton, M. S.; McIlwraith, C. W. (2003):  
Significant exercise-related changes in the serum levels of two biomarkers of collagen metabolism in young horses.  
Osteoarthritis Cartilage. 11(10), 760-9.

Billinghurst, R. C.; Dahlberg, L.; Ionescu, M.; Reiner, A.; Bourne, R.; Rorabeck, C.; Mitchell, P.; Hambor, J.; Diekmann, O.; Tschesche, H.; Chen, J.; Van Wart, H.; Poole, A. R. (1997):  
Enhanced cleavage of type II collagen by collagenases in osteoarthritic articular cartilage.  
J Clin Invest. 99(7), 1534-45.

Birkedal-Hansen, H.; Moore, W. G.; Bodden, M. K.; Windsor, L. J.; Birkedal-Hansen, B.; DeCarlo, A.; Engler, J. A. (1993):  
Matrix metalloproteinases: a review.  
Crit Rev Oral Biol Med. 4(2), 197-250.

Birmingham, J. D.; Vilim, V.; Kraus, V. B. (2006):  
Collagen biomarkers for arthritis applications.  
Biomarker Insights. 1, 61-76.

Boon, D. (1997):  
Synovial fluid analysis: a guide for small-animal practitioners.  
Vet Med. 92, 443-451.

Boulay, J. P. (1998):  
Fragmented medial coronoid process of the ulna in the dog.  
Vet Clin North Am Small Anim Pract. 28(1), 51-74.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Bradford, M. M. (1976):

A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.

Anal Biochem. 72, 248-54.

Bradley, P. P.; Priebat, D. A.; Christensen, R. D.; Rothstein, G. (1982):

Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker.

J Invest Dermatol. 78(3), 206-9.

Brama, P. A.; TeKoppele, J. M.; Beekman, B.; van Weeren, P. R.; Barneveld, A. (1998):

Matrix metalloproteinase activity in equine synovial fluid: influence of age, osteoarthritis, and osteochondrosis.

Ann Rheum Dis. 57(11), 697-9.

Brannan, S. R.; Jerrard, D. A. (2006):

Synovial fluid analysis.

J Emerg Med. 30(3), 331-9.

Breit, S.; Kunzel, W.; Seiler, S. (2004):

Variation in the ossification process of the anconeal and medial coronoid processes of the canine ulna.

Res Vet Sci. 77(1), 9-16.

Brew, K.; Nagase, H. (2010):

The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity.

Biochim Biophys Acta. 1803(1), 55-71.

Brunnberg, L.; Allgoewer, I. (1996):

Age-related results of the treatment of elbow dysplasia (FCP) in the Bernese mountain Dog.

Vet Comp Orthop Traumatol. 9, 65-66.

Brunnberg, L.; Smith, J. G.; Hannon, R. L.; Gebski, V.; Cullis-Hill, D. (2007):

Eine Vergleichsstudie über Pentosanpolysulfat und Carprofen über die klinischen

Symptome Schmerz und Lahmheit bei Osteoarthritis.

Kleintierpraxis. 52(3), 133-142.

Brunnberg, L.; Viehmann, B.; Waibl, H. (1999):

Computergestützte Auswertung von Röntgenbildern zur Erfassung von Parametern der Ellbogengelenkdysplasie - Teil 2: Stufenbildung im Gelenk.

Kleintierpraxis. 44, 637-646.

Bühl, A. (2006):

SPSS 14: Einführung in die moderne Datenanalyse, 10. Auflage.

Pearson Education Deutschland GmbH, München, 341-352.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Carter, E. M.; Raggio, C. L. (2009):  
Genetic and orthopedic aspects of collagen disorders.  
*Curr Opin Pediatr.* 21(1), 46-54.
- Cawston, T. E.; Ellis, A. J.; Humm, G.; Lean, E.; Ward, D.; Curry, V. (1995):  
Interleukin-1 and oncostatin M in combination promote the release of collagen fragments from bovine nasal cartilage in culture.  
*Biochem Biophys Res Commun.* 215(1), 377-85.
- Charni-Ben Tabassi, N.; Desmarais, S.; Bay-Jensen, A. C.; Delaisse, J. M.; Percival, M. D.; Garnero, P. (2008):  
The type II collagen fragments Helix-II and CTX-II reveal different enzymatic pathways of human cartilage collagen degradation.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 16(10), 1183-91.
- Charni-Ben Tabassi, N.; Garnero, P. (2007):  
Monitoring cartilage turnover.  
*Curr Rheumatol Rep.* 9(1), 16-24.
- Chu Py, P. Y.; Salamonsen, L. A.; Lee, C. S.; Wright, P. J. (2002):  
Matrix metalloproteinases (MMPs) in the endometrium of bitches.  
*Reproduction.* 123(3), 467-77.
- Chu, Q.; Lopez, M.; Hayashi, K.; Ionescu, M.; Billinghamurst, R. C.; Johnson, K. A.; Poole, A. R.; Markel, M. D. (2002):  
Elevation of a collagenase generated type II collagen neoepitope and proteoglycan epitopes in synovial fluid following induction of joint instability in the dog.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 10(8), 662-9.
- Clegg, P. D.; Coughlan, A. R.; Riggs, C. M.; Carter, S. D. (1997):  
Matrix metalloproteinases 2 and 9 in equine synovial fluids.  
*Equine Vet J.* 29(5), 343-8.
- Clements, D. N.; Fitzpatrick, N.; Carter, S. D.; Day, P. J. (2009):  
Cartilage gene expression correlates with radiographic severity of canine elbow osteoarthritis.  
*Vet J.* 179(2), 211-8.
- Cook, C. R.; Cook, J. L. (2009):  
Diagnostic imaging of canine elbow dysplasia: a review.  
*Vet Surg.* 38(2), 144-53.
- Coughlan, A. R.; Robertson, D. H.; Bennett, D.; May, C.; Beynon, R. J.; Carter, S. D. (1998a):  
Matrix metalloproteinases 2 and 9 in canine rheumatoid arthritis.  
*Vet Rec.* 143(8), 219-23.



## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Coughlan, A. R.; Robertson, D. H.; Burke, R.; Beynon, R. J.; Carter, S. D. (1998b):  
Isolation and identification of canine matrix metalloproteinase-2 (MMP-2).  
*Vet J.* 155(3), 231-7.
- Crouch, D. T., Cook, J.L., Lewis, D.D., Kreeger, J.M., Tomlinson, J.L. (2000):  
The presence of collagen types II and X in medial coronoid processes of 21 dogs.  
*Vet Comp Orthop Traumatol.* 13, 178-184.
- Danielson, K. C.; Fitzpatrick, N.; Muir, P.; Manley, P. A. (2006):  
Histomorphometry of fragmented medial coronoid process in dogs: a comparison of affected  
and normal coronoid processes.  
*Vet Surg.* 35(6), 501-9.
- Daumer, K. M.; Khan, A. U.; Steinbeck, M. J. (2000):  
Chlorination of pyridinium compounds. Possible role of hypochlorite, N-chloramines, and  
chlorine in the oxidation of pyridinoline cross-links of articular cartilage collagen type II during  
acute inflammation.  
*J Biol Chem.* 275(44), 34681-92.
- Davies, B.; Edwards, S. W. (1989):  
Inhibition of myeloperoxidase by salicylhydroxamic acid.  
*Biochem J.* 258(3), 801-6.
- de Mendez, I.; Young, K. R., Jr.; Bignon, J.; Lambre, C. R. (1991):  
Biochemical characteristics of alveolar macrophage-specific peroxidase activities in the rat.  
*Arch Biochem Biophys.* 289(2), 319-23.
- Deberg, M.; Dubuc, J. E.; Labasse, A.; Sanchez, C.; Quettier, E.; Bosseloir, A.; Crielaard, J.  
M.; Henrotin, Y. (2008):  
One-year follow-up of Coll2-1, Coll2-1NO2 and myeloperoxidase serum levels in  
osteoarthritis patients after hip or knee replacement.  
*Ann Rheum Dis.* 67(2), 168-74.
- Denny, H. R.; Gibbs, C. (1980):  
The surgical treatment of osteochondritis dissecans and ununited coronoid process in the  
canine elbow joint.  
*J Small Anim Pract.* 21, 323-331.
- Donabedian, M.; van Weeren, P. R.; Perona, G.; Fleurance, G.; Robert, C.; Leger, S.;  
Bergero, D.; Lepage, O.; Martin-Rosset, W. (2008):  
Early changes in biomarkers of skeletal metabolism and their association to the occurrence  
of osteochondrosis (OC) in the horse.  
*Equine Vet J.* 40(3), 253-9.
- Duclos, M. E.; Roualdes, O.; Cararo, R.; Rousseau, J. C.; Roger, T.; Hartmann, D. J. (2010):  
Significance of the serum CTX-II level in an osteoarthritis animal model: a 5-month  
longitudinal study.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 18(11), 1467-76.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Edwards, S. W.; Hughes, V.; Barlow, J.; Bucknall, R. (1988):  
Immunological detection of myeloperoxidase in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis.  
*Biochem J.* 250(1), 81-5.
- el Amrousi, S.; Soliman, M. K.; Youssef, L. B. (1966):  
Studies on the physiological chemistry of the tibio-tarsal synovial fluid of healthy bovines.  
*Can J Comp Med Vet Sci.* 30(9), 251-5.
- Ellison, R. S. (1988):  
The cytologic examination of synovial fluid.  
*Semin Vet Med Surg (Small Anim).* 3(2), 133-9.
- Elsaid, K. A.; Chichester, C. O. (2006):  
Review: Collagen markers in early arthritic diseases.  
*Clin Chim Acta.* 365(1-2), 68-77.
- Evans, H. E. (1993):  
Miller's anatomy of the dog. 3rd ed.  
Philadelphia: Saunders. ISBN:0-7216-3200-9.
- Eyre, D. (2002):  
Collagen of articular cartilage.  
*Arthritis Res.* 4(1), 30-5.
- Eyre, D. R.; Weis, M. A.; Wu, J. J. (2006):  
Articular cartilage collagen: an irreplaceable framework?  
*Eur Cell Mater.* 12, 57-63.
- Fehr, M.; Meyer-Lindenberg, A. (1992):  
Über die Ellbogengelenkerkrankungen beim Hund.  
*Kleintierpraxis.* 37, 427-438.
- Fernandes, J. C.; Martel-Pelletier, J.; Pelletier, J. P. (2002):  
The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology.  
*Biorheology.* 39(1-2), 237-46.
- Fernandez, F. R., Grindem, C.B., Lipowitz, A.J., Perman, V. (1983):  
Synovial fluid analysis: preparation of smears for cytologic examination of canine synovial fluid.  
*J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 19, 727-734.
- Fietz, S.; Bondzio, A.; Moschos, A.; Hertsch, B.; Einspanier, R. (2008a):  
Measurement of equine myeloperoxidase (MPO) activity in synovial fluid by a modified MPO assay and evaluation of joint diseases - an initial case study.  
*Res Vet Sci.* 84(3), 347-53.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Fietz, S.; Einspanier, R.; Hoppner, S.; Hertsch, B.; Bondzio, A. (2008b):  
Determination of MMP-2 and -9 activities in synovial fluid of horses with osteoarthritic and arthritic joint diseases using gelatin zymography and immunocapture activity assays.  
*Equine Vet J.* 40(3), 266-71.
- Fietz, S. A. (2008):  
Biomarkers in equine synovial fluid and serum for the diagnosis of joint diseases.  
Berlin, Freie Universität, Dissertation.
- Fitzpatrick, N.; Smith, T. J.; Evans, R. B.; O'Riordan, J.; Yeadon, R. (2009a):  
Subtotal coronoid ostectomy for treatment of medial coronoid disease in 263 dogs.  
*Vet Surg.* 38(2), 233-45.
- Fitzpatrick, N.; Smith, T. J.; Evans, R. B.; Yeadon, R. (2009b):  
Radiographic and arthroscopic findings in the elbow joints of 263 dogs with medial coronoid disease.  
*Vet Surg.* 38(2), 213-23.
- Fitzpatrick, N.; Yeadon, R. (2009):  
Working algorithm for treatment decision making for developmental disease of the medial compartment of the elbow in dogs.  
*Vet Surg.* 38(2), 285-300.
- Fitzpatrick, N.; Yeadon, R.; Smith, T.; Schulz, K. (2009c):  
Techniques of application and initial clinical experience with sliding humeral osteotomy for treatment of medial compartment disease of the canine elbow.  
*Vet Surg.* 38(2), 261-78.
- Fosang, A. J.; Stanton, H.; Little, C. B.; Atley, L. M. (2003):  
Neopeptides as biomarkers of cartilage catabolism.  
*Inflamm Res.* 52(7), 277-82.
- Fox, S. M.; Bloomberg, M. S.; Bright, R. M. (1983):  
Developmental anomalies of the canine elbow.  
*J Am Anim Hosp Assoc.* 19, 605-615.
- Fradette, M. E.; Celeste, C.; Richard, H.; Beauchamp, G.; Laverty, S. (2007):  
Effects of continuous oral administration of phenylbutazone on biomarkers of cartilage and bone metabolism in horses.  
*Am J Vet Res.* 68(2), 128-33.
- Freemont, A. J. (1996):  
Microscopic analysis of synovial fluid--the perfect diagnostic test?  
*Ann Rheum Dis.* 55(10), 695-7.
- Fridman, R.; Toth, M.; Pena, D.; Mobashery, S. (1995):  
Activation of progelatinase B (MMP-9) by gelatinase A (MMP-2).  
*Cancer Res.* 55(12), 2548-55.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Frisbie, D. D. (2006):  
Synovial joint biology and pathobiology.  
In: Equine Surgery (3rd ed). / Hrsg. J. A. Auer and J. A. Strick. St. Louis: Elsevier Saunders  
1036-1055.
- Frisbie, D. D.; Al-Sobayil, F.; Billingham, R. C.; Kawcak, C. E.; McIlwraith, C. W. (2008):  
Changes in synovial fluid and serum biomarkers with exercise and early osteoarthritis in  
horses.  
Osteoarthritis Cartilage. 16(10), 1196-204.
- Garnero, P.; Rousseau, J. C.; Delmas, P. D. (2000):  
Molecular basis and clinical use of biochemical markers of bone, cartilage, and synovium in  
joint diseases.  
Arthritis Rheum. 43(5), 953-68.
- Garvican, E. R.; Vaughan-Thomas, A.; Clegg, P. D.; Innes, J. F. (2010a):  
Biomarkers of cartilage turnover. Part 2: Non-collagenous markers.  
Vet J. 185(1), 43-9.
- Garvican, E. R.; Vaughan-Thomas, A.; Innes, J. F.; Clegg, P. D. (2010b):  
Biomarkers of cartilage turnover. Part 1: Markers of collagen degradation and synthesis.  
Vet J. 185(1), 36-42.
- Gelse, K.; Poschl, E.; Aigner, T. (2003):  
Collagens--structure, function, and biosynthesis.  
Adv Drug Deliv Rev. 55(12), 1531-46.
- Gemmill, T. J.; Clements, D. N. (2007):  
Fragmented coronoid process in the dog: is there a role for incongruity?  
J Small Anim Pract. 48(7), 361-8.
- Gemmill, T. J.; Mellor, D. J.; Clements, D. N.; Clarke, S. P.; Farrell, M.; Bennett, D.;  
Carmichael, S. (2005):  
Evaluation of elbow incongruity using reconstructed CT in dogs suffering fragmented  
coronoid process.  
J Small Anim Pract. 46(7), 327-33.
- Gendron, R.; Grenier, D.; Sorsa, T.; Mayrand, D. (1999):  
Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine.  
Clin Diagn Lab Immunol. 6(3), 437-9.
- Gilbert, S. J.; Wotton, P. R.; Tarlton, J. F.; Duance, V. C.; Bailey, A. J. (1997):  
Increased expression of promatrix metalloproteinase-9 and neutrophil elastase in canine  
dilated cardiomyopathy.  
Cardiovasc Res. 34(2), 377-83.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Gineyts, E.; Mo, J. A.; Ko, A.; Henriksen, D. B.; Curtis, S. P.; Gertz, B. J.; Garnero, P.; Delmas, P. D. (2004):  
Effects of ibuprofen on molecular markers of cartilage and synovium turnover in patients with knee osteoarthritis.  
Ann Rheum Dis. 63(7), 857-61.
- Goldhammer, M. A.; Smith, S. H.; Fitzpatrick, N.; Clements, D. N. (2010):  
A comparison of radiographic, arthroscopic and histological measures of articular pathology in the canine elbow joint.  
Vet J. 186(1), 96-103.
- Goldring, M. B.; Goldring, S. R. (2010):  
Articular cartilage and subchondral bone in the pathogenesis of osteoarthritis.  
Ann N Y Acad Sci. 1192(1), 230-7.
- Goldring, M. B.; Otero, M.; Tsuchimochi, K.; Ijiri, K.; Li, Y. (2008):  
Defining the roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism.  
Ann Rheum Dis. 67 Suppl 3, iii75-82.
- Goranov, N. V. (2007):  
Serum markers of lipid peroxidation, antioxidant enzymatic defense, and collagen degradation in an experimental (Pond-Nuki) canine model of osteoarthritis.  
Vet Clin Pathol. 36(2), 192-5.
- Greeley, E. H.; Ballam, J. M.; Harrison, J. M.; Kealy, R. D.; Lawler, D. F.; Segre, M. (2001):  
The influence of age and gender on the immune system: a longitudinal study in Labrador Retriever dogs.  
Vet Immunol Immunopathol. 82(1-2), 57-71.
- Green, S. P.; Baker, M. S.; Lowther, D. A. (1990):  
Depolymerization of synovial fluid hyaluronic acid (HA) by the complete myeloperoxidase (MPO) system may involve the formation of a HA-MPO ionic complex.  
J Rheumatol. 17(12), 1670-5.
- Grondalen, J. (1979):  
Arthrosis with special reference to the elbow joint of young rapidly growing dogs. II. Occurrence, clinical and radiographical findings.  
Nord Vet Med. 31(2), 69-75.
- Grondalen, J.; Grondalen, T. (1981):  
Arthrosis in the elbow joint of young rapidly growing dogs. V. A pathoanatomical investigation.  
Nord Vet Med. 33(1), 1-16.
- Gutbrod, F.; Festl, D. (1999):  
Operative Therapie der Fraktur des Processus coronoideus medialis ulnae und klinische Ergebnisse.  
Kleintierpraxis. 44, 405-420.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Guthrie, S.; Plummer, J. M.; Vaughan, L. C. (1992):  
Post natal development of the canine elbow joint: a light and electron microscopical study.  
*Res Vet Sci.* 52(1), 67-71.
- Hadler, N. M.; Spitznagel, J. K.; Quinet, R. J. (1979):  
Lysosomal enzymes in inflammatory synovial effusions.  
*J Immunol.* 123(2), 572-7.
- Hall, A. C.; Horwitz, E. R.; Wilkins, R. J. (1996):  
The cellular physiology of articular cartilage.  
*Exp Physiol.* 81(3), 535-45.
- Hampton, M. B.; Kettle, A. J.; Winterbourn, C. C. (1996):  
Involvement of superoxide and myeloperoxidase in oxygen-dependent killing of  
*Staphylococcus aureus* by neutrophils.  
*Infect Immun.* 64(9), 3512-7.
- Hardy, R. M.; Wallace, L. J. (1974):  
Arthrocentesis and synovial membrane biopsy.  
*Vet Clin North Am.* 4(2), 449-62.
- Harrison, J. E.; Schultz, J. (1976):  
Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase.  
*J Biol Chem.* 251(5), 1371-4.
- Hashimoto, S.; Ochs, R. L.; Komiya, S.; Lotz, M. (1998):  
Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum.* 41(9), 1632-8.
- Haudiquet, P. R.; Marcellin-Little, D. J.; Stebbins, M. E. (2002):  
Use of the distomedial-proximolateral oblique radiographic view of the elbow joint for  
examination of the medial coronoid process in dogs.  
*Am J Vet Res.* 63(7), 1000-5.
- Hayashi, K.; Kim, S. Y.; Lansdowne, J. L.; Kapatkin, A.; Dejardin, L. M. (2009):  
Evaluation of a collagenase generated osteoarthritis biomarker in naturally occurring canine  
cruciate disease.  
*Vet Surg.* 38(1), 117-21.
- Hazen, S. L.; Hsu, F. F.; Mueller, D. M.; Crowley, J. R.; Heinecke, J. W. (1996):  
Human neutrophils employ chlorine gas as an oxidant during phagocytosis.  
*J Clin Invest.* 98(6), 1283-9.
- Hazewinkel, H. A. W. (2008):  
Elbow dysplasia; definitions and clinical diagnoses.  
Proceedings of the 23rd annual meeting of the IEWG, Dublin.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Hazewinkel, H. A. W. (2009):  
Elbow dysplasia, definition and known aetiologies.  
Proceedings of the 24rd annual meeting of the IEWG, Sao Paulo.
- Heilmann, H. H.; Lindenhayn, K.; Walther, H. U. (1996):  
Synovial volume of healthy and arthrotic human knee joints.  
Z Orthop Ihre Grenzgeb. 134(2), 144-8.
- Henrotin, Y.; Addison, S.; Kraus, V.; Deberg, M. (2007):  
Type II collagen markers in osteoarthritis: what do they indicate?  
Curr Opin Rheumatol. 19(5), 444-50.
- Henrotin, Y.; Sanchez, C.; Balligand, M. (2005):  
Pharmaceutical and nutraceutical management of canine osteoarthritis: present and future perspectives.  
Vet J. 170(1), 113-23.
- Hirayama, K.; Yokota, H.; Onai, R.; Kobayashi, T.; Kumata, T.; Kihara, K.; Okamoto, M.; Sako, T.; Nakade, T.; Izumisawa, Y.; Taniyama, H. (2002):  
Detection of matrix metalloproteinases in canine mammary tumours: analysis by immunohistochemistry and zymography.  
J Comp Pathol. 127(4), 249-56.
- Hoegh-Andersen, P.; Tanko, L. B.; Andersen, T. L.; Lundberg, C. V.; Mo, J. A.; Heegaard, A. M.; Delaisse, J. M.; Christgau, S. (2004):  
Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application.  
Arthritis Res Ther. 6(2), R169-80.
- Holzer, B. E. (2008):  
Untersuchungen zur Knorpeldicke am kaninen Ellbogengelenk mittels 3D-Laserscantechnik.  
Wien, Veterinärmedizinischen Universität, Dissertation.
- Huebner, J. L.; Kraus, V. B. (2006):  
Assessment of the utility of biomarkers of osteoarthritis in the guinea pig.  
Osteoarthritis Cartilage. 14(9), 923-30.
- Huebner, J. L.; Williams, J. M.; Deberg, M.; Henrotin, Y.; Kraus, V. B. (2010):  
Collagen fibril disruption occurs early in primary guinea pig knee osteoarthritis.  
Osteoarthritis Cartilage. 18(3), 397-405.
- IEWG (2001):  
2001 International Elbow Protocol (Vancouver).  
Proceedings of the 12th annual meeting of the IEWG, Vancouver.
- Intema, F.; Sniekers, Y. H.; Weinans, H.; Vianen, M. E.; Yocum, S. A.; Zuurmond, A. M.; DeGroot, J.; Lafeber, F. P.; Mastbergen, S. C. (2010):  
Similarities and discrepancies in subchondral bone structure in two differently induced canine models of osteoarthritis.  
J Bone Miner Res. 25(7), 1650-7.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Ishiguro, N.; Ito, T.; Ito, H.; Iwata, H.; Jugessur, H.; Ionescu, M.; Poole, A. R. (1999):  
Relationship of matrix metalloproteinases and their inhibitors to cartilage proteoglycan and collagen turnover: analyses of synovial fluid from patients with osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum.* 42(1), 129-36.
- Iwanaga, T.; Shikichi, M.; Kitamura, H.; Yanase, H.; Nozawa-Inoue, K. (2000):  
Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint.  
*Arch Histol Cytol.* 63(1), 17-31.
- Janthur, I.; Meyer-Lindenberg, A.; Fehr, M. (2000):  
Arthroskopische Diagnostik von Ellbogengelenkserkrankungen des Hundes.  
*Tierärztliche Praxis.* 28, 11-18.
- Janutta, V.; Distl, O. (2008):  
Review on canine elbow dysplasia: pathogenesis, diagnosis, prevalence and genetic aspects.  
*Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 115(5), 172-81.
- Jeffrey, D. R.; Watt, I. (2003):  
Imaging hyaline cartilage.  
*Br J Radiol.* 76(911), 777-87.
- Johnston, S. A. (1997):  
Osteoarthritis. Joint anatomy, physiology, and pathobiology.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 27(4), 699-723.
- Kassner, A.; Tiedemann, K.; Notbohm, H.; Ludwig, T.; Morgelin, M.; Reinhardt, D. P.; Chu, M. L.; Bruckner, P.; Grassel, S. (2004):  
Molecular structure and interaction of recombinant human type XVI collagen.  
*J Mol Biol.* 339(4), 835-53.
- Kim, S.; Oh, J. H.; Lee, Y.; Lee, J.; Cho, K. H.; Chung, J. H. (2010):  
Induction of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 by cholesterol depletion leads to the conversion of proMMP-2 into active MMP-2 in human dermal fibroblasts.  
*Exp Mol Med.* 42(1), 38-46.
- Kirberger, R. M.; Fourie, S. L. (1998):  
Elbow dysplasia in the dog: pathophysiology, diagnosis and control.  
*J S Afr Vet Assoc.* 69(2), 43-54.
- Klebanoff, S. J. (1999):  
Myeloperoxidase.  
*Proc Assoc Am Physicians.* 111(5), 383-9.
- Klebanoff, S. J. (2005):  
Myeloperoxidase: friend and foe.  
*J Leukoc Biol.* 77(5), 598-625.



## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Kleesiek, K. (1981):  
Zur Analytik und Pathobiochemie des synovialen Systems.  
Aachen, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule, Habilitation.
- Kleiner, D. E.; Stetler-Stevenson, W. G. (1994):  
Quantitative zymography: detection of picogram quantities of gelatinases.  
Anal Biochem. 218(2), 325-9.
- Knudson, C. B.; Knudson, W. (2001):  
Cartilage proteoglycans.  
Semin Cell Dev Biol. 12(2), 69-78.
- Kobayashi, T.; Yoshihara, Y.; Yamada, H.; Fujikawa, K. (2000):  
Procollagen IIC-peptide as a marker for assessing mechanical risk factors of knee osteoarthritis: effect of obesity and varus alignment.  
Ann Rheum Dis. 59(12), 982-4.
- Kojima, T.; Mwale, F.; Yasuda, T.; Girard, C.; Poole, A. R.; Lavery, S. (2001):  
Early degradation of type IX and type II collagen with the onset of experimental inflammatory arthritis.  
Arthritis Rheum. 44(1), 120-7.
- König, H. E.; Liebich, H.-G. (2009):  
Anatomie der Haussäugetiere. 4. überarb. Auflage.  
Stuttgart [u.a.]: Schattauer. ISBN:978-3-7945-2650-5.
- Kuettner, K. E. (1992):  
Biochemistry of articular cartilage in health and disease.  
Clin Biochem. 25(3), 155-63.
- Kuettner, K. E.; Pauli, B. U.; Gall, G.; Memoli, V. A.; Schenk, R. K. (1982):  
Synthesis of cartilage matrix by mammalian chondrocytes in vitro. I. Isolation, culture characteristics, and morphology.  
J Cell Biol. 93(3), 743-50.
- Kumar, P.; Pai, K.; Pandey, H. P.; Sundar, S. (2002):  
NADH-oxidase, NADPH-oxidase and myeloperoxidase activity of visceral leishmaniasis patients.  
J Med Microbiol. 51(10), 832-6.
- Kupai, K.; Szucs, G.; Cseh, S.; Hajdu, I.; Csonka, C.; Csont, T.; Ferdinandy, P. (2010):  
Matrix metalloproteinase activity assays: Importance of zymography.  
J Pharmacol Toxicol Methods. 61(2), 205-9.
- Laemmli, U. K. (1970):  
Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4.  
Nature. 227(5259), 680-5.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Lammer, B. (2001):  
Untersuchung synovialer Parameter aus osteoarthritischen Gelenken beim Hund unter besonderer Berücksichtigung des Myeloperoxidasegehaltes.  
Berlin, Freie Universität, Dissertation.
- Lang, J.; Busato, A.; Baumgartner, D.; Fluckiger, M.; Weber, U. T. (1998):  
Comparison of two classification protocols in the evaluation of elbow dysplasia in the dog.  
J Small Anim Pract. 39(4), 169-74.
- Levick, J. R. (1995):  
Microvascular architecture and exchange in synovial joints.  
Microcirculation. 2(3), 217-33.
- Liebich, H.-G. (2004):  
Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 4., völlig überarb. und erw. Auflage.  
Stuttgart [u.a.]: Schattauer. ISBN:3-7945-2311-3.
- Liebich, H.-G.; König, H. E. (2005):  
Anatomie der Haussäugetiere. 3., überarb. und erw. Auflage.  
Stuttgart [u.a.]: Schattauer. ISBN:3-7945-2390-3.
- Lindhorst, E.; Wachsmuth, L.; Kimmig, N.; Raiss, R.; Aigner, T.; Atley, L.; Eyre, D. (2005):  
Increase in degraded collagen type II in synovial fluid early in the rabbit meniscectomy model of osteoarthritis.  
Osteoarthritis Cartilage. 13(2), 139-45.
- Lipowitz, A. J. (1985):  
Synovial fluid.  
In: Textbook of Small Animal Orthopaedics. / Hrsg. C. D. Newton and D. M. Nunamaker.  
Philadelphia: J.B. Lippincott 1015-1028.
- Lohmander, L. S.; Yoshihara, Y.; Roos, H.; Kobayashi, T.; Yamada, H.; Shinmei, M. (1996):  
Procollagen II C-propeptide in joint fluid: changes in concentration with age, time after knee injury, and osteoarthritis.  
J Rheumatol. 23(10), 1765-9.
- Lohmander, S. (1988):  
Proteoglycans of joint cartilage. Structure, function, turnover and role as markers of joint disease.  
Baillieres Clin Rheumatol. 2(1), 37-62.
- Lopez, M. J.; Robinson, S. O.; Quinn, M. M.; Hosgood, G.; Markel, M. D. (2006):  
In vivo evaluation of intra-articular protection in a novel model of canine cranial cruciate ligament mid-substance elongation injury.  
Vet Surg. 35(8), 711-20.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Macpherson, G. C.; Lewis, D. D.; Johnson, K. A.; Allen, G. S.; Yovich, J. C. (1992):  
Fragmented coronoid process associated with premature distal radial physeal closure in four dogs.  
*Vet Comp Orthop Traumatol.* 5, 93-9.
- MacWilliams, P. S.; Friedrichs, K. R. (2003):  
Laboratory evaluation and interpretation of synovial fluid.  
*Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 33(1), 153-78.
- Maiotti, M.; Monteleone, G.; Tarantino, U.; Fasciglione, G. F.; Marini, S.; Coletta, M. (2000):  
Correlation between osteoarthritic cartilage damage and levels of proteinases and proteinase inhibitors in synovial fluid from the knee joint.  
*Arthroscopy.* 16(5), 522-6.
- Makino, R.; Tanaka, T.; Iizuka, T.; Ishimura, Y.; Kanegasaki, S. (1986):  
Stoichiometric conversion of oxygen to superoxide anion during the respiratory burst in neutrophils. Direct evidence by a new method for measurement of superoxide anion with diacetyldeuteroheme-substituted horseradish peroxidase.  
*J Biol Chem.* 261(25), 11444-7.
- Makowski, G. S.; Ramsby, M. L. (2003):  
Zymographic analysis of latent and activated forms of matrix metalloproteinase-2 and -9 in synovial fluid: correlation to polymorphonuclear leukocyte infiltration and in response to infection.  
*Clin Chim Acta.* 329(1-2), 77-81.
- Marijnissen, A. C.; van Roermund, P. M.; TeKoppele, J. M.; Bijlsma, J. W.; Lafeber, F. P. (2002):  
The canine 'groove' model, compared with the ACLT model of osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 10(2), 145-55.
- Marini, S.; Fasciglione, G. F.; Monteleone, G.; Maiotti, M.; Tarantino, U.; Coletta, M. (2003):  
A correlation between knee cartilage degradation observed by arthroscopy and synovial proteinases activities.  
*Clin Biochem.* 36(4), 295-304.
- Maroudas, A. I. (1976):  
Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage.  
*Nature.* 260(5554), 808-9.
- Martel-Pelletier, J. (1999):  
Proinflammatory mediators and osteoarthritis.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 7(3), 315-6.
- Martel-Pelletier, J.; Welsch, D. J.; Pelletier, J. P. (2001):  
Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases.  
*Best Pract Res Clin Rheumatol.* 15(5), 805-29.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Mason, D. R.; Schulz, K. S.; Fujita, Y.; Kass, P. H.; Stover, S. M. (2005):  
In vitro force mapping of normal canine humeroradial and humeroulnar joints.  
*Am J Vet Res.* 66(1), 132-5.
- Mason, D. R.; Schulz, K. S.; Fujita, Y.; Kass, P. H.; Stover, S. M. (2008):  
Measurement of humeroradial and humeroulnar transarticular joint forces in the canine elbow joint after humeral wedge and humeral slide osteotomies.  
*Vet Surg.* 37(1), 63-70.
- Matyas, J. R.; Adams, M. E.; Huang, D.; Sandell, L. J. (1995):  
Discoordinate gene expression of aggrecan and type II collagen in experimental osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum.* 38(3), 420-5.
- Matyas, J. R.; Adams, M. E.; Huang, D.; Sandell, L. J. (1997):  
Major role of collagen IIB in the elevation of total type II procollagen messenger RNA in the hypertrophic phase of experimental osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum.* 40(6), 1046-9.
- Matyas, J. R.; Atley, L.; Ionescu, M.; Eyre, D. R.; Poole, A. R. (2004):  
Analysis of cartilage biomarkers in the early phases of canine experimental osteoarthritis.  
*Arthritis Rheum.* 50(2), 543-52.
- McIlwraith, C. W.; Billingham, R. C.; Frisbie, D. D. (2001):  
Current and future diagnostic means to better characterize osteoarthritis in the horse-routine synovial fluid analysis and synovial fluid and serum markers.  
Proceedings of the Annual Convention of the AAEP.
- McCarthy, T. C. (2005):  
Arthroscopy: Diagnostic and surgical applications in small animal practice.  
In: *Veterinary Endoscopy for the Small Animal Practitioner.* / Hrsg. T. C. McCarthy. St. Louis: Elsevier Saunders.
- Meyer-Lindenberg, A.; Fehr, M.; Nolte, I. (2006):  
Co-existence of ununited anconeal process and fragmented medial coronoid process of the ulna in the dog.  
*J Small Anim Pract.* 47(2), 61-5.
- Meyer-Lindenberg, A.; Langhann, A.; Fehr, M.; Nolte, I. (2002):  
Prevalence of fragmented medial coronoid process of the ulna in lame adult dogs.  
*Vet Rec.* 151(8), 230-4.
- Miyabayashi, T.; Takiguchi, M.; Schrader, S. C.; Biller, D. S. (1995):  
Radiographic anatomy of the medial coronoid process of dogs.  
*J Am Anim Hosp Assoc.* 31(2), 125-32.
- Moore, A. P.; Benigni, L.; Lamb, C. R. (2008):  
Computed tomography versus arthroscopy for detection of canine elbow dysplasia lesions.  
*Vet Surg.* 37(4), 390-8.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Morgan, J. P.; Wind, A.; Davidson, A. P. (2000):  
Hereditary bone and joint diseases in the dog: Osteochondroses, Hip dysplasia, Elbow dysplasia.  
Hannover: Schlütersche. ISBN:3-87706-548-1.
- Mort, J. S.; Billington, C. J. (2001):  
Articular cartilage and changes in arthritis: matrix degradation.  
Arthritis Res. 3(6), 337-41.
- Mouritzen, U.; Christgau, S.; Lehmann, H. J.; Tanko, L. B.; Christiansen, C. (2003):  
Cartilage turnover assessed with a newly developed assay measuring collagen type II degradation products: influence of age, sex, menopause, hormone replacement therapy, and body mass index.  
Ann Rheum Dis. 62(4), 332-6.
- Mow, V. C.; Holmes, M. H.; Lai, W. M. (1984):  
Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review.  
J Biomech. 17(5), 377-94.
- Muir, H. (1995):  
The chondrocyte, architect of cartilage. Biomechanics, structure, function and molecular biology of cartilage matrix macromolecules.  
Bioessays. 17(12), 1039-48.
- Muir, P.; Danova, N. A.; Argyle, D. J.; Manley, P. A.; Hao, Z. (2005):  
Collagenolytic protease expression in cranial cruciate ligament and stifle synovial fluid in dogs with cranial cruciate ligament rupture.  
Vet Surg. 34(5), 482-90.
- Mullane, K. M.; Kraemer, R.; Smith, B. (1985):  
Myeloperoxidase activity as a quantitative assessment of neutrophil infiltration into ischemic myocardium.  
J Pharmacol Methods. 14(3), 157-67.
- Murphy, G.; Nagase, H. (2008):  
Progress in matrix metalloproteinase research.  
Mol Aspects Med. 29(5), 290-308.
- Nagase, H. (1997):  
Activation mechanisms of matrix metalloproteinases.  
Biol Chem. 378(3-4), 151-60.
- Nagase, H.; Woessner, J. F., Jr. (1999):  
Matrix metalloproteinases.  
J Biol Chem. 274(31), 21491-4.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Nelson, F.; Dahlberg, L.; Laverty, S.; Reiner, A.; Pidoux, I.; Ionescu, M.; Fraser, G. L.; Brooks, E.; Tanzer, M.; Rosenberg, L. C.; Dieppe, P.; Robin Poole, A. (1998):  
Evidence for altered synthesis of type II collagen in patients with osteoarthritis.  
*J Clin Invest.* 102(12), 2115-25.
- Nemirovskiy, O. V.; Sunyer, T.; Aggarwal, P.; Abrams, M.; Hellio Le Graverand, M. P.; Mathews, W. R. (2008):  
Discovery and development of the N-terminal procollagen type II (NP11) biomarker: a tool for measuring collagen type II synthesis.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 16(12), 1494-500.
- Nicholson, A. M.; Trumble, T. N.; Merritt, K. A.; Brown, M. P. (2010):  
Associations of horse age, joint type, and osteochondral injury with serum and synovial fluid concentrations of type II collagen biomarkers in Thoroughbreds.  
*Am J Vet Res.* 71(7), 741-9.
- Nickel, R.; Schummer, A.; Seiferle, E. (2004):  
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Band 1. Bewegungsapparat 8., unveränd.Auflage.  
Berlin: Parey. ISBN:3-8304-4149-5.
- Nurcombe, H. L.; Bucknall, R. C.; Edwards, S. W. (1991):  
Activation of the neutrophil myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system by synovial fluid isolated from patients with rheumatoid arthritis.  
*Ann Rheum Dis.* 50(4), 237-42.
- Oestergaard, S.; Chouinard, L.; Doyle, N.; Karsdal, M. A.; Smith, S. Y.; Qvist, P.; Tanko, L. B. (2006):  
The utility of measuring C-terminal telopeptides of collagen type II (CTX-II) in serum and synovial fluid samples for estimation of articular cartilage status in experimental models of destructive joint diseases.  
*Osteoarthritis Cartilage.* 14(7), 670-9.
- Oestergaard, S.; Rasmussen, K. E.; Doyle, N.; Varela, A.; Chouinard, L.; Smith, S. Y.; Qvist, P.; Karsdal, M. A. (2008):  
Evaluation of cartilage and bone degradation in a murine collagen antibody-induced arthritis model.  
*Scand J Immunol.* 67(3), 304-12.
- Okada, Y.; Gonoji, Y.; Naka, K.; Tomita, K.; Nakanishi, I.; Iwata, K.; Yamashita, K.; Hayakawa, T. (1992):  
Matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase/type IV collagenase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells. Purification and activation of the precursor and enzymic properties.  
*J Biol Chem.* 267(30), 21712-9.
- Olsen, B. R. (1996):  
Role of cartilage collagens in formation of the skeleton.  
*Ann N Y Acad Sci.* 785, 124-30.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Olsson, S. E. (1974):

A new type of elbow dysplasia in the dog. A preliminary report.  
Svensk veterinärtidning. 5, 152-157.

Olsson, S. E. (1975):

Lameness in the dog. A review of lesions causing osteoarthritis of the shoulder, elbow, hip, stifle and hock joints.  
J Am Anim Hosp Assoc. 42, 363-370.

Olsson, S. E. (1983):

The early diagnosis of fragmented coronoid process and osteochondritis dissecans of the canine elbow joint.  
J Am Anim Hosp Assoc. 19, 616-626.

Parry, B. W. (1989):

Synovial fluid.

In: Diagnostic Cytology of the Dog and Cat. / Hrsg. R. L. Cowell and R. D. Tyler. Goleta: American Veterinary Publishers 121-136.

Pedersen, N. C. (1978):

Synovial fluid collection and analysis.  
Vet Clin North Am. 8(3), 495-9.

Peppin, G. J.; Weiss, S. J. (1986):

Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 83(12), 4322-6.

Perman, V. (1980):

Synovial fluid.

In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals (3rd ed). / Hrsg. J. J. Kaneko. New York: Academic Press Inc.

Preston, C. A.; Schulz, K. S.; Taylor, K. T.; Kass, P. H.; Hagan, C. E.; Stover, S. M. (2001):

In vitro experimental study of the effect of radial shortening and ulnar ostectomy on contact patterns in the elbow joint of dogs.

Am J Vet Res. 62(10), 1548-56.

Prink, A.; Hayashi, K.; Kim, S. Y.; Kim, J.; Kapatkin, A. (2010):

Evaluation of a collagenase generated osteoarthritis biomarker in the synovial fluid from elbow joints of dogs with medial coronoid disease and unaffected dogs.

Vet Surg. 39(1), 65-70.

Punke, J. P.; Hulse, D. A.; Kerwin, S. C.; Peycke, L. E.; Budsberg, S. C. (2009):

Arthroscopic documentation of elbow cartilage pathology in dogs with clinical lameness without changes on standard radiographic projections.

Vet Surg. 38(2), 209-12.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Rees, M. D.; Hawkins, C. L.; Davies, M. J. (2004):  
Hypochlorite and superoxide radicals can act synergistically to induce fragmentation of hyaluronan and chondroitin sulphates.  
Biochem J. 381(Pt 1), 175-84.
- Roughley, P. J. (2001):  
Articular cartilage and changes in arthritis: noncollagenous proteins and proteoglycans in the extracellular matrix of cartilage.  
Arthritis Res. 3(6), 342-7.
- Rousseau, J. C.; Delmas, P. D. (2007):  
Biological markers in osteoarthritis.  
Nat Clin Pract Rheumatol. 3(6), 346-56.
- Rudert, M.; Wirth, C. J. (1998):  
Cartilage regeneration and substitution.  
Orthopade. 27(5), W309-21.
- Salinardi, B. J.; Roush, J. K.; Schermerhorn, T.; Mitchell, K. E. (2006):  
Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in serum and synovial fluid of osteoarthritic dogs.  
Vet Comp Orthop Traumatol. 19(1), 49-55.
- Samoy, Y.; Van Ryssen, B.; Gielen, I.; Walschot, N.; van Bree, H. (2006):  
Review of the literature: elbow incongruity in the dog.  
Vet Comp Orthop Traumatol. 19(1), 1-8.
- Sawyer, D. C. (1963):  
SYNOVIAL FLUID ANALYSIS OF CANINE JOINTS.  
J Am Vet Med Assoc. 143, 609-12.
- Schiller, J.; Arnhold, J.; Sonntag, K.; Arnold, K. (1996):  
NMR studies on human, pathologically changed synovial fluids: role of hypochlorous acid.  
Magn Reson Med. 35(6), 848-53.
- Schoenherr, W. D.; Macleay, J. M.; Yamka, R. M. (2010):  
Evaluation of body composition and cartilage biomarkers in large-breed dogs fed two foods designed for growth.  
Am J Vet Res. 71(8), 934-9.
- Schulz, K. S. (2003):  
What's new in elbow arthroscopy?  
Proceedings of the 13th Annual American College of Veterinary Surgeons Symposium, Washington DC.
- Shabani, F.; McNeil, J.; Tippett, L. (1998):  
The oxidative inactivation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) by hypochlorous acid (HOCl) is suppressed by anti-rheumatic drugs.  
Free Radic Res. 28(2), 115-23.



## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Shinmei, M.; Ito, K.; Matsuyama, S.; Yoshihara, Y.; Matsuzawa, K. (1993):  
Joint fluid carboxy-terminal type II procollagen peptide as a marker of cartilage collagen biosynthesis.  
*Osteoarthritis Cartilage*. 1(2), 121-8.
- Shinmei, M.; Kobayashi, T.; Yoshihara, Y.; Samura, A. (1995):  
Significance of the levels of carboxy terminal type II procollagen peptide, chondroitin sulfate isomers, tissue inhibitor of metalloproteinases, and metalloproteinases in osteoarthritis joint fluid.  
*J Rheumatol Suppl.* 43, 78-81.
- Simon, W. H. (1970):  
Scale effects in animal joints. I. Articular cartilage thickness and compressive stress.  
*Arthritis Rheum.* 13(3), 244-56.
- Slocum, B.; Pfeil, I. (2004):  
Radius elongation for pressure relief of the coronoid process of the ulna.  
Proceedings of the 12th ESVOT Congress, München.
- Smith, L.; Marengi, A. S.; Capper, S. J. (1999):  
Determination of species cross-reactivity using MMP-2 Activity Assay and correlation with ELISA and gelatine zymography.  
*Life Science News, Amersham Biosciences.* 3, 1-3.
- Smith, T. J.; Fitzpatrick, N.; Evans, R. B.; Pead, M. J. (2009):  
Measurement of ulnar subtrochlear sclerosis using a percentage scale in labrador retrievers with minimal radiographic signs of periarticular osteophytosis.  
*Vet Surg.* 38(2), 199-208.
- Snoek-van Beurden, P. A.; Von den Hoff, J. W. (2005):  
Zymographic techniques for the analysis of matrix metalloproteinases and their inhibitors.  
*Biotechniques.* 38(1), 73-83.
- Song, X.; Zeng, L.; Jin, W.; Thompson, J.; Mizel, D. E.; Lei, K.; Billingham, R. C.; Poole, A. R.; Wahl, S. M. (1999):  
Secretory leukocyte protease inhibitor suppresses the inflammation and joint damage of bacterial cell wall-induced arthritis.  
*J Exp Med.* 190(4), 535-42.
- Spellmeyer, K. (2003):  
Myeloperoxidase-Aktivität im Serum und in der Synovia bei Hunden mit Osteoarthritis - Eine prospektive Studie.  
Berlin, Freie Universität, Dissertation.
- Spellmeyer, K.; Lemansky, P.; Hasilik, A.; Brunnberg, L. (2003):  
Myeloperoxidasekonzentration in Serum und in der Synovia bei Hunden mit Osteoarthritis.  
Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft/12. Jahrestagung der Fachgruppe Innere Medizin und Klinische Labordiagnostik, Gießen.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Spreng, D.; Schawalder, P. (1997):  
Die Osteoarthritis beim Hund.  
Praktischer Tierarzt 78, 364-376.

Springman, E. B.; Angleton, E. L.; Birkedal-Hansen, H.; Van Wart, H. E. (1990):  
Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of a Cys73 active-site zinc complex in latency and a "cysteine switch" mechanism for activation.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 87(1), 364-8.

Steinbeck, M. J.; Nesti, L. J.; Sharkey, P. F.; Parvizi, J. (2007):  
Myeloperoxidase and chlorinated peptides in osteoarthritis: potential biomarkers of the disease.  
J Orthop Res. 25(9), 1128-35.

Stoop, R.; Buma, P.; van der Kraan, P. M.; Hollander, A. P.; Billingham, R. C.; Meijers, T. H.; Poole, A. R.; van den Berg, W. B. (2001):  
Type II collagen degradation in articular cartilage fibrillation after anterior cruciate ligament transection in rats.  
Osteoarthritis Cartilage. 9(4), 308-15.

Strasser, A.; Teltscher, A.; May, B.; Sanders, C.; Niedermuller, H. (2000):  
Age-associated changes in the immune system of German shepherd dogs.  
J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 47(3), 181-92.

Sugiyama, S.; Itokazu, M.; Suzuki, Y.; Shimizu, K. (2003):  
Procollagen II C propeptide level in the synovial fluid as a predictor of radiographic progression in early knee osteoarthritis.  
Ann Rheum Dis. 62(1), 27-32.

Takei, I.; Takagi, M.; Santavirta, S.; Ida, H.; Hamasaki, M.; Ishii, M.; Fukushima, S.; Ogino, T.; Kontinen, Y. T. (1999):  
Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in joint fluid of the patients with loose artificial hip joints.  
J Biomed Mater Res. 45(3), 175-83.

Tchetverikov, I.; Runday, H. K.; Van El, B.; Kiers, G. H.; Verzijl, N.; TeKoppele, J. M.; Huizinga, T. W.; DeGroot, J.; Hanemaaijer, R. (2004):  
MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis.  
Ann Rheum Dis. 63(7), 881-3.

Temwichitr, J.; Leegwater, P. A.; Hazewinkel, H. A. (2010):  
Fragmented coronoid process in the dog: a heritable disease.  
Vet J. 185(2), 123-9.

Thonar, E. J. (1999):  
Molecular markers of metabolic changes in osteoarthritis.  
Osteoarthritis Cartilage. 7(3), 338-9.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Trumble, T. N.; Billinghamurst, R. C.; Mc'Ilwraith, C. W. (2003):  
Increased levels of synthesis and degradation markers of type II collagen in the synovial fluid of canine crutiate transaction model of osteoarthritis.  
Trans ORS. 27, 0679.
- Trumble, T. N.; Scarbrough, A. B.; Brown, M. P. (2008):  
Osteochondral injury increases type II collagen degradation products (C2C) in synovial fluid of Thoroughbred racehorses.  
Osteoarthritis Cartilage.
- van Bree, H.; van Ryssen, B. (1995):  
Imaging the canine elbow: radiography, computed tomography and arthroscopy.  
Vet Annual. 35, 118-129.
- van Herpen, H. (1988):  
Anatomy and development of the elbow joint.  
Tijdschr Diergeneeskd. 113 Suppl 1, 38S-41S.
- van Pelt, R. W. (1967):  
Characteristics of normal equine tarsal synovial fluid.  
Can J Comp Med Vet Sci. 31(12), 342-7.
- van Ryssen, B.; van Bree, H. (1997):  
Arthroscopic findings in 100 dogs with elbow lameness.  
Vet Rec. 140(14), 360-2.
- van Ryssen, B.; van Bree, H.; Simoens, P. (1993):  
Elbow arthroscopy in clinically normal dogs.  
Am J Vet Res. 54(1), 191-8.
- Van Wart, H. E.; Birkedal-Hansen, H. (1990):  
The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 87(14), 5578-82.
- Vanwanseele, B.; Lucchinetti, E.; Stussi, E. (2002):  
The effects of immobilization on the characteristics of articular cartilage: current concepts and future directions.  
Osteoarthritis Cartilage. 10(5), 408-19.
- Vezzoni, A.; Pisani, G.; Corbari, A.; Cirila, A. (2002):  
Surgical therapy of elbow displasia: technique and follow up (preliminare report).  
Proceedings of the 13th annual meeting of the IEWG, Granada
- Volk, S. W.; Kapatkin, A. S.; Haskins, M. E.; Walton, R. M.; D'Angelo, M. (2003):  
Gelatinase activity in synovial fluid and synovium obtained from healthy and osteoarthritic joints of dogs.  
Am J Vet Res. 64(10), 1225-33.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Vygodina, T. V.; Konstantinov, A. A. (2007):  
Peroxidase activity of mitochondrial cytochrome c oxidase.  
Biochemistry (Mosc). 72(10), 1056-64.
- Wachsmuth, L.; Soder, S.; Fan, Z.; Finger, F.; Aigner, T. (2006):  
Immunolocalization of matrix proteins in different human cartilage subtypes.  
Histol Histopathol. 21(5), 477-85.
- Walde, I.; Tellhelm, B. (1991):  
Der fragmentierte Processus coronoideus medialis ulnae (FPC) und die Osteochondrosis dissecans (OCD) im Ellbogengelenk und Sprunggelenk des Hundes.  
Wiener Tierärztliche Monatsschrift. 78, 414-424.
- Wei, L.; Fleming, B. C.; Sun, X.; Teeple, E.; Wu, W.; Jay, G. D.; Elsaid, K. A.; Luo, J.; Machan, J. T.; Chen, Q. (2010):  
Comparison of differential biomarkers of osteoarthritis with and without posttraumatic injury in the Hartley guinea pig model.  
J Orthop Res. 28(7), 900-6.
- Weir, C. J.; Walley, R. J. (2006):  
Statistical evaluation of biomarkers as surrogate endpoints: a literature review.  
Stat Med. 25(2), 183-203.
- Williams, F. M. (2009):  
Biomarkers: in combination they may do better.  
Arthritis Res Ther. 11(5), 130.
- Wind, A. P. (1982):  
Incidence and radiographic appearance of fragmented coronoid process.  
Calif. Vet. 36, 19-25.
- Wind, A. P. (1986):  
Elbow incongruity and developmental elbow diseases in the dog: Part 1.  
J Am Anim Hosp Assoc. 22, 711-724.
- Wind, A. P.; Packard, M. E. (1986):  
Elbow incongruity and developmental elbow diseases in the dog: Part 2.  
J Am Anim Hosp Assoc. 22, 725-730.
- Winhart, S. (1991):  
Zur Fraktur des Processus coronoideus medialis ulnae beim Hund.  
München, Ludwig-Maximilian-Universität, Dissertation.
- Winterbourn, C. C.; Vissers, M. C.; Kettle, A. J. (2000):  
Myeloperoxidase.  
Curr Opin Hematol. 7(1), 53-8.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Woessner, J. F., Jr. (2002):  
MMPs and TIMPs--an historical perspective.  
Mol Biotechnol. 22(1), 33-49.
- Wolschrijn, C. F.; Gruys, E.; Weijs, W. A. (2005):  
Microcomputed tomography and histology of a fragmented medial coronoid process in a 20-week-old golden retriever.  
Vet Rec. 157(13), 383-6.
- Wolschrijn, C. F.; Weijs, W. A. (2004):  
Development of the trabecular structure within the ulnar medial coronoid process of young dogs.  
Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 278(2), 514-9.
- Wolvekamp, P. (2002):  
The Many Faces of Elbow Dysplasia.  
Proceedings from the 27th Annual World Small Animal Veterinary Association Congress, Gradada.
- Wondratschek, C.; Bauer, E.; Bondzio, A.; Rudolph, R.; Einspanier, R.; Brunberg, L. (2009):  
Kanine Osteoarthritis- Histopathologische Veränderungen an Gelenkkapsel und Gelenkknorpel in Korrelation zur Myeloperoxidase.  
Kleintierpraxis. 54(12), 681-687.
- Yokota, H.; Kumata, T.; Taketaba, S.; Kobayashi, T.; Moue, H.; Taniyama, H.; Hirayama, K.; Kagawa, Y.; Itoh, N.; Fujita, O.; Nakade, T.; Yuasa, A. (2001):  
High expression of 92 kDa type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) in canine mammary adenocarcinoma.  
Biochim Biophys Acta. 1568(1), 7-12.
- Zucker, S.; Mancuso, P.; DiMassimo, B.; Lysik, R. M.; Conner, C.; Wu, C. L. (1994):  
Comparison of techniques for measurement of gelatinases/type IV collagenases: enzyme-linked immunoassays versus substrate degradation assays.  
Clin Exp Metastasis. 12(1), 13-23.

## **10. ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

<b>Abbildung 1:</b> .....	<b>11</b>
Darstellung der knöchernen Strukturen des Ellbogengelenkes (Hurlbeck, persönliches Bildmaterial).	
<b>Abbildung 2:</b> .....	<b>26</b>
Schematische Darstellung der Freisetzung der MPO durch Entzündungszellen [modifiziert nach Steinbeck et al. (2007)].	
<b>Abbildung 3:</b> .....	<b>29</b>
Schematische Darstellung der generierten Neoepitope bei der Spaltung von Kollagen Typ-II (Rousseau und Delmas, 2007).	
<b>Abbildung 4:</b> .....	<b>48</b>
Anzahl und Prozentsatz der Tiere mit einseitig (n=124) oder beidseitig (n=35) erkranktem Gelenk.	
<b>Abbildung 5:</b> .....	<b>52</b>
Mediolaterale (a,d,g) und kraniokaudale (b,e,h) Röntgenaufnahmen sowie Arthroskopiebilder (c,f,i) verschiedener Gelenkpathologien.	
<b>Abbildung 6:</b> .....	<b>54</b>
CTX-II-Konzentration und MMP-2-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Die vertikale Linie markiert die Altersgrenze von 12 Monaten.	
<b>Abbildung 7:</b> .....	<b>55</b>
Altersabhängigkeit der Aktivität der MPO, MMP-2 und MMP-9 sowie der Konzentration von CTX-II, C2C und CPII in der Synovia von Kontrollgelenken beim Vergleich der Altersgruppen $\leq 12$ Mo und $> 12$ Mo.	
<b>Abbildung 8:</b> .....	<b>56</b>
Zellzahl und Proteinkonzentration in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).	
<b>Abbildung 9:</b> .....	<b>57</b>
Zellzahl und Proteinkonzentration in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).	

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

<b>Abbildung 10:</b> .....	<b>58</b>
Differenz der MPO-Aktivität in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).	
<b>Abbildung 11:</b> .....	<b>59</b>
MPO-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).	
<b>Abbildung 12:</b> .....	<b>59</b>
MPO-Aktivität in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).	
<b>Abbildung 13:</b> .....	<b>60</b>
Gelatine-Zymogramme der Synovia eines Gelenkes mit FCP mit Totalproteinmengen von 1-100 µg sowie humaner (h) MMP-2 und MMP-9.	
<b>Abbildung 14:</b> .....	<b>61</b>
Gelatine-Zymogramme von 10 µl Synovia in einer Verdünnung von 1:20 (a) bzw. 1:2 (b) von Gelenken mit FCP (FCP) und Kontrollgelenken (KO) sowie humaner (h) MMP-2 und MMP-9.	
<b>Abbildung 15:</b> .....	<b>61</b>
Gelatine-Zymogramme der Synovia aus einem Pool von Gelenken mit FCP (FCP) bzw. von Kontrollgelenken (KO). Die Inkubation der Gele erfolgte im Entwicklungspuffer ohne (-) und für eine Hemmung der Aktivität mit (+) Zusatz von 0,05 M EDTA.	
<b>Abbildung 16:</b> .....	<b>62</b>
Differenz der MMP-9-Aktivität in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).	
<b>Abbildung 17:</b> .....	<b>63</b>
MMP-2- und MMP-9-Aktivität in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP) abhängig (MMP-2) und unabhängig (MMP-9) vom Alter ( $\leq 12$ Mo, $> 12$ Mo) der Tiere.	
<b>Abbildung 18:</b> .....	<b>64</b>
MMP-2- und MMP-9-Aktivität in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).	
<b>Abbildung 19:</b> .....	<b>65</b>
Differenz der CTX-II-Konzentration in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).	

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

<b>Abbildung 20:</b> .....	<b>66</b>
CTX-II-Konzentration in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter ( $\leq 12$ Mo, $> 12$ Mo) der Tiere.	
<b>Abbildung 21:</b> .....	<b>67</b>
CTX-II-Konzentration in der Synovia von Gelenken mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4) der Altersgruppen $\leq 12$ Mo und $> 12$ Mo.	
<b>Abbildung 22:</b> .....	<b>68</b>
C2C-Konzentrationen in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).	
<b>Abbildung 23:</b> .....	<b>69</b>
Differenz der CPII-Konzentration in der Synovia von Tieren mit einseitig erkranktem Gelenk (FCP) und kontralateralem gesunden Gelenk (KL).	
<b>Abbildung 24:</b> .....	<b>70</b>
CPII-Konzentration in der Synovia von Kontrollgelenken (KO) und Gelenken mit FCP (FCP).	
<b>Abbildung 25:</b> .....	<b>72</b>
CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren (KO) sowie von Tieren mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter der Tiere. Die vertikale Linie markiert die Altersgrenze von 12 Monaten.	
<b>Abbildung 26:</b> .....	<b>72</b>
Altersabhängigkeit der MPO-Aktivität und CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren beim Vergleich der Altersgruppen $\leq 12$ Mo und $> 12$ Mo.	
<b>Abbildung 27:</b> .....	<b>73</b>
MPO-Aktivität im Serum von Kontrolltieren (KO) und Tieren mit FCP (FCP).	
<b>Abbildung 28:</b> .....	<b>74</b>
MPO-Aktivität im Serum von Tieren mit FCP in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3) und vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).	
<b>Abbildung 29:</b> .....	<b>75</b>
CTX-II-Konzentration im Serum von Kontrolltieren (KO) und Tieren mit FCP (FCP) in Abhängigkeit vom Alter ( $\leq 12$ Mo, $> 12$ Mo) der Tiere.	



## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

---

<b>Abbildung 30:</b> .....	<b>76</b>
Verlaufsuntersuchungen der Zellzahl und Proteinkonzentration in der Synovia. Dargestellt sind die Differenzen der Zellzahl und der Proteinkonzentration (4-0, 12-4, 12-0) aus den Proben zum Zeitpunkt der Arthroskopie (0) sowie 4 Wochen (4) und 12 Wochen (12) nach der Arthroskopie.	
<b>Abbildung 31:</b> .....	<b>78</b>
Verlaufsuntersuchungen der Biomarker in der Synovia. Dargestellt sind die Differenzen der Aktivität der MPO, MMP-2 und -9 sowie der Konzentration von CTX-II, C2C und CPII (4-0, 12-4, 12-0) aus den Proben zum Zeitpunkt der Arthroskopie (0) sowie 4 Wochen (4) und 12 Wochen (12) nach der Arthroskopie.	
<b>Abbildung 32:</b> .....	<b>79</b>
Verlaufsuntersuchungen der Biomarker im Serum. Dargestellt sind die Differenzen der Aktivität der MPO sowie der Konzentration von CTX-II (4-0, 12-4, 12-0) aus den Proben zum Zeitpunkt der Arthroskopie (0) sowie 4 Wochen (4) und 12 Wochen (12) nach der Arthroskopie.	

### 11. TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tabelle 1:</b> .....	<b>33</b>
Liste der verwendeten Geräte und Software.	
<b>Tabelle 2:</b> .....	<b>35</b>
Liste der verwendeten Chemikalien.	
<b>Tabelle 3:</b> .....	<b>37</b>
IEWG-Klassifikation zur Beurteilung der röntgenologischen Veränderungen (Hazewinkel, 2008).	
<b>Tabelle 4:</b> .....	<b>38</b>
modifizierte Outerbridge-Klassifikation [modifiziert nach Schulz (2003)] zur Beurteilung der Knorpelveränderungen (Goldhammer et al., 2010).	
<b>Tabelle 5:</b> .....	<b>46</b>
Rassen- und Geschlechtsverteilung der Kontrolltiere. Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=32); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=62) in Klammern.	
<b>Tabelle 6:</b> .....	<b>47</b>
Altersverteilung der Kontrolltiere in Monaten. Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=32); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=62) in Klammern.	
<b>Tabelle 7:</b> .....	<b>49</b>
Rassen- und Geschlechtsverteilung der Hunde mit FCP. Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=159); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=194) in Klammern.	
<b>Tabelle 8:</b> .....	<b>50</b>
Altersverteilung der Hunde mit FCP in Monaten (zum Zeitpunkt der Arthroskopie). Anzahl und Prozentsatz der Tiere (n=159); Anzahl und Prozentsatz der Gelenke (n=194) in Klammern.	
<b>Tabelle 9:</b> .....	<b>52</b>
Anzahl (Prozentsatz) der Gelenke mit IEWG Grad (0-3) und modifiziertem Outerbridge Grad (0-4).	
<b>Tabelle 10:</b> .....	<b>132</b>
Daten der Kontrolltiere.	
<b>Tabelle 11:</b> .....	<b>133</b>
Daten der Tiere mit FCP.	

## TABELLENVERZEICHNIS

---

<b>Tabelle 12:</b> .....	<b>138</b>
Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum in Abhängigkeit vom Alter ( $\leq$ 12 Monate, $>$ 12 Monate) der Kontrolltiere.	
<b>Tabelle 13:</b> .....	<b>139</b>
Statistik aus der Differenz der Parameter des rechten und linken Gelenkes der Kontrolltiere (KO R – L) sowie des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes (FCP – KL) in der Synovia.	
<b>Tabelle 14:</b> .....	<b>140</b>
Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum von Kontrolltieren (KO) und Tieren mit FCP (FCP).	
<b>Tabelle 15:</b> .....	<b>141</b>
Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3).	
<b>Tabelle 16:</b> .....	<b>143</b>
Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum in Abhängigkeit vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).	
<b>Tabelle 17:</b> .....	<b>146</b>
Statistik der Verlaufsuntersuchungen der Parameter in der Synovia und im Serum (4-0; 12-4; 12-0).	
<b>Tabelle 18:</b> .....	<b>148</b>
Differenz der Parameter aus den Messungen am Tag der OP, nach 4 Wochen und 12 Wochen (4-0; 12-4; 12-0).	

**12. ANHANG**

Nr.	Tier	Rasse	Alter in Mo	sex	Gew. in kg
1	1	Deutscher Schäferhund	21	m	30,5
2	2	Deutscher Schäferhund	25	w	30,0
3	3	Malinois	31	w	24,0
4	4	Deutscher Schäferhund	25	w	26,3
5	6	Deutscher Schäferhund	9	m	34,0
6	7	Mischling	10	wk	35,8
7	8	Labrador Retriever	8	w	22,0
8	9	Labrador Retriever	13	w	26,0
9	10	Kuvasz	25	w	44,5
10	11	Dalmatiner	24	w	26,5
11	13	Malinois	21	m	23,5
12	14	Deutscher Schäferhund	9	m	31,0
13	16	Deutscher Schäferhund	10	m	30,5
14	17	Malinois	21	m	25,5
15	18	Deutscher Schäferhund	15	w	26,0
16	19	Malinois	14	m	25,0
17	20	Belgischer Schäferhund	19	wk	24,5
18	21	Deutscher Schäferhund	16	m	37,0
19	22	Deutscher Schäferhund	7	m	29,8
20	23	Malinois	14	m	26,0
21	25	Deutscher Schäferhund	7	w	23,7
22	26	Deutscher Schäferhund	13	w	27,0
23	27	Deutscher Schäferhund	7	w	24,0
24	28	Riesenschnautzer	29	m	42,0
25	29	Deutscher Schäferhund	12	w	28,5
26	31	Malinois	5	m	23,0
27	32	Deutscher Schäferhund	5	w	19,7
28	33	Deutscher Schäferhund	15	w	26,0
29	34	Malinois	10	m	20,0
30	35	Deutscher Schäferhund	7	m	30,5
31	36	Deutscher Schäferhund	8	m	30,5
32	37	Malinois	8	m	24,5

Tabelle 10: Daten der Kontrolltiere.

## ANHANG 1 b

Nr.	Tier	Rasse	Alter in Mo	sex	Gew. in kg	Seite	IEWG	Outer
1	1	Deutscher Schäferhund	100	mk	35,2	L	1	2
2	2	Airedale Terrier	30	m	35,0	R	0	1
3	3	Berner Sennenhund	62	m	38,6	L	1	2
4	4	Labrador Retriever	44	m	33,0	R	3	4
5	5	Rottweiler	14	m	35,0	R	1	4
6	6	Labrador Retriever	14	m	30,0	L	1	3
7	7	Golden Retriever	30	m	33,2	R	3	4
8	9	Golden Retriever	97	m	37,5	R	3	4
9	10	Labrador Retriever	12	w	22,8	L	1	1
10	11	Staffordshire Bullterrier	49	w	32,0	L	0	1
11	13	Bearded Collie	53	w	27,0	L	1	4
12	14	Labrador Retriever	71	w	29,5	R	3	2
13	15	Deutscher Schäferhund	18	w	27,4	L	1	2
14	18	Riesenschnautzer	45	w	43,8	L	2	3
15	19	Labrador Retriever	27	m	28,3	R	3	4
16	20	Labrador Retriever	102	m	30,0	L	3	4
17	21	Boxer	17	w	18,0	R/L	1/1	1/1
18	22	Labrador Retriever	65	m	36,1	L	3	4
19	23	Bordeaux Dogge	19	m	47,0	R/L	2/2	1/1
20	24	Deutscher Schäferhund	21	w	30,0	R/L	2/1	4/2
21	25	Rottweiler	119	mk	35,0	R/L	1/1	2/3
22	27	Deutscher Schäferhund	6	w	27,5	R	1	2
23	28	Deutscher Schäferhund	148	w	32,5	L	3	4
24	29	Golden Retriever	11	m	30,0	R	2	1
25	31	Riesenschnautzer	57	m	44,0	L	3	2
26	32	Rottweiler	60	wk	60,0	R/L	1/1	1/2
27	33	Labrador Retriever	31	m	42,0	L	1	2
28	34	Mischling	9	w	21,0	L	1	2
29	35	Mischling	103	m	47,0	R/L		4/4
30	36	Neufundländer	80	mk	77,0	R	0	3
31	37	Deutscher Schäferhund	95	m	42,0	L	3	3
32	38	Rottweiler	99	w	38,0	R	0	1
33	40	Husky	168	w	17,6	R	1	2
34	41	Rhodesian Ridgeback	5	m	37,0	R/L	1/0	1/0
35	42	Rottweiler	27	m	42,7	L	3	2

Tabelle 11: Daten der Tiere mit FCP.

## ANHANG 1 b

Nr.	Tier	Rasse	Alter in Mo	sex	Gew. in kg	Seite	IEWG	Outer
36	43	Amerikanische Bulldogge	27	w	45,0	R/L	2/2	2/1
37	45	Golden Retriever	91	m	43,0	L	3	4
38	46	Labrador Retriever	8	m	22,7	R/L	2/2	2/3
39	47	Labrador Retriever	9	w	29,0	R/L	2/1	3/1
40	48	Mischling	33	m	34,0	R/L	2/3	4/4
41	49	Mischling	34	wk	16,0	L	1	1
42	50	Briard	14	m	38,0	R	2	3
43	52	Mischling	117	m	34,5	L	3	4
44	53	Deutscher Schäferhund	67	m	36,0	R	2	4
45	54	Labrador Retriever	71	m	44,0	R	1	2
46	55	Englische Bulldogge	8	m	20,0	L	1	2
47	56	Bordeaux Dogge	10	m	43,0	R	1	2
48	57	Husky	64	w	23,2	L	0	1
49	58	Malinois	4	m	17,0	R	1	1
50	59	Berner Sennenhund	80	mk	57,0	R/L	1/1	2/2
51	61	Magyar Vizsla	97	w	26,3	L	1	3
52	62	Berner Sennenhund	20	wk	33,5	R	1	1
53	63	Landseer	16	m	65,2	R	1	0
54	64	Berner Sennenhund	46	m	53,2	L	3	4
55	65	Englische Bulldogge	15	m	29,0	R/L	1/1	4/1
56	66	Golden Retriever	94	m	40,0	R/L	2/3	4/4
57	67	Boxer	22	w	28,0	L	0	0
58	68	Rottweiler	8	m	33,0	R/L	1/0	0/1
59	69	Labrador Retriever	77	m	34,0	L	3	4
60	70	Rottweiler	10	m	35,4	R	1	1
61	71	Labrador Retriever	52	m	38,0	R	1	3
62	73	Schweizer Sennenhund	6	m	42,0	L	0	0
63	74	Malinois	79	w	23,6	R	1	3
64	75	Deutscher Schäferhund	75	m	47,5	L	3	4
65	76	Golden Retriever	44	m	26,3	R/L	3/3	4/4
66	77	Rottweiler	10	m	35,0	L	1	1
67	78	Mischling	37	w	23,0	R	0	0
68	79	Bernhardiner	47	m	81,0	R	1	1
69	80	Mischling	83	m	30,0	R	0	1
70	81	Schweizer Sennenhund	43	m	56,0	R	1	2
71	82	Labrador Retriever	14	m	25,0	R/L	2/2	4/2

Fortsetzung Tabelle 11.

## ANHANG 1 b

Nr.	Tier	Rasse	Alter in Mo	sex	Gew. in kg	Seite	IEWG	Outer
72	84	Rottweiler	8	m	45,0	R	1	1
73	85	Mischling	100	w	22,5	R	2	4
74	86	Labrador Retriever	60	w	29,8	L	3	4
75	87	Golden Retriever	135	mk	36,0	R/L	1/1	2/2
76	88	Berner Sennenhund	65	wk	43,0	L	3	4
77	89	Beagle	90	w	14,0	R	0	1
78	90	Golden Retriever	62	m	34,5	R/L	3/3	4/4
79	91	Labrador Retriever	10	w	27,0	R	2	3
80	92	Mudi	40	m	27,0	R	1	1
81	93	Deutscher Wachtelhund	23	m	25,0	L	1	1
82	94	Schweizer Sennenhund	99	w	47,0	R	3	4
83	95	Kaukasischer Schäferhund	12	m	38,0	R	0	0
84	96	Golden Retriever	7	m	30,6	R	1	1
85	97	Deutscher Schäferhund	6	m	30,0	R	0	0
86	98	Labrador Retriever	5	m	34,5	R/L	1/1	1/1
87	100	Mischling	58	wk	28,6	R/L	2/1	4/2
88	101	Mischling	10	w	24,3	R	2	3
89	102	Berner Sennenhund	8	m	43,2	L	3	3
90	103	Mischling	56	mk	26,7	R	1	2
91	104	Rottweiler	12	m	38,0	L	1	3
92	106	Mischling	25	m	36,0	R/L	3/3	4/4
93	107	Mischling	91	m	32,0	R	2	3
94	108	Alano	61	w	41,5	R/L	2/1	3/2
95	109	Landseer	35	w	50,0	R	1	1
96	111	Rottweiler	67	m	45,0	R/L	1/2	2/1
97	112	Labrador Retriever	6	m	30,0	R/L	0/0	0/1
98	114	Labrador Retriever	6	w	16,0	L	1	0
99	115	Berner Sennenhund	75	m	51,0	L	3	4
100	116	Mischling	89	m	36,4	R	3	4
101	117	Kaukasischer Schäferhund	86	wk	55,0	R	1	1
102	118	Mischling	13	m	35,0	R	1	1
103	119	Labrador Retriever	64	w	31,5	R/L	1/1	4/4
104	120	Shar-Pei	35	m	21,0	R	2	4
105	121	Rottweiler	94	w	42,5	R	2	2
106	122	Mischling	74	mk	35,0	L	1	1
107	123	Neufundländer	68	w	55,0	R	1	1

Fortsetzung Tabelle 11.

## ANHANG 1 b

Nr.	Tier	Rasse	Alter in Mo	sex	Gew. in kg	Seite	IEWG	Outer
108	124	Rhodesian Ridgeback	88	m	37,0	L	1	3
109	125	Golden Retriever	73	m	35,0	L	2	4
110	126	Deutscher Schäferhund	110	w	40,7	R	3	4
111	127	Rottweiler	15	m	43,0	L	1	1
112	128	Deutscher Schäferhund	8	m	34,0	L	2	4
113	129	Deutscher Schäferhund	68	m	45,0	R	3	4
114	130	Labrador Retriever	93	m	28,1	R	3	4
115	131	Deutscher Schäferhund	47	m	36,6	L	3	4
116	132	Mischling	60	mk	25,0	R	1	0
117	133	Riesenschnautzer	10	m	31,5	R	1	3
118	134	Deutscher Schäferhund	14	m	45,0	R/L	1/1	2/1
119	135	Rottweiler	83	m	53,6	R	3	4
120	136	Deutscher Schäferhund	96	w	40,0	R	3	4
121	137	Deutscher Schäferhund	71	m	50,0	L	3	4
122	138	Berner Sennenhund	12	m	46,5	R	3	4
123	139	Deutscher Schäferhund	108	m	37,0	L	1	1
124	140	Deutscher Schäferhund	63	m	42,0	R	3	4
125	141	Labrador Retriever	46	wk	32,0	R	3	4
126	142	Labrador Retriever	83	m	40,0	R	0	1
127	143	Golden Retriever	21	m	28,6	R/L	1/3	1/4
128	144	Labrador Retriever	49	mk	34,8	L	1	2
129	145	Rottweiler	45	m	27,6	R/L	1/1	3/3
130	146	Rottweiler	117	wk	40,0	R	1	3
131	147	Kuvasz	75	w	47,0	R/L	0/1	1/1
132	148	Labrador Retriever	22	m	40,0	R	3	4
133	149	Golden Retriever	60	w	30,3	R	1	2
134	151	Englische Bulldogge	10	m	23,0	R	2	3
135	152	Deutscher Schäferhund	10	m	34,5	L	2	2
136	153	Labrador Retriever	33	wk	32,0	L	2	0
137	154	Mischling	127	m	46,0	R	1	3
138	155	Golden Retriever	113	m	37,0	L	1	3
139	156	Labrador Retriever	73	m	42,3	R/L	3	4
140	157	Labrador Retriever	20	wk	22,7	R	3	4
141	158	Bordeaux Dogge	6	m	27,4	R/L	1/2	3/3
142	159	Kaukasischer Schäferhund	37	m	56,0	L	1	1
143	163	Mischling	44	m	32,5	R	3	4

Fortsetzung Tabelle 11.



## ANHANG 1 b

Nr.	Tier	Rasse	Alter in Mo	sex	Gew. in kg	Seite	IEWG	Outer
144	164	Schweizer Sennenhund	43	m	28,0	L	1	1
145	165	Labrador Retriever	8	m	32,0	R/L	1/1	0/0
146	166	Pyrenäenberghund	65	wk	45,0	R	1	1
147	167	Riesenschnautzer	98	wk	40,0	L	0	1
148	168	Mischling	61	wk	37,0	R	1	2
149	169	Bernhardiner	7	wk	53,0	R/L	3/1	4/1
150	170	Chow Chow	77	m	25,0	R	3	4
151	171	Rottweiler	95	wk	45,0	R	2	4
152	172	Labrador Retriever	6	m	36,5	L	1	4
153	173	Labrador Retriever	51	wk	37,0	L	0	2
154	174	Mischling	27	wk	33,5	R	1	2
155	175	Mischling	36	m	35,0	R	0	1
156	176	Deutscher Schäferhund	66	m	39,5	R	1	3
157	178	Mischling	98	mk	37,2	R/L	1/0	1/3
158	180	Golden Retriever	7	m	31,1	L	1	2
159	181	Berner Sennenhund	6	m	36,0	R	1	1

Fortsetzung Tabelle 11.

## ANHANG 2

Parameter	KO	Synovia						Serum					
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
MPO [U/ml]	≤ 12 Mo	14	0,70	0,05 – 2,04	0,00	2,93	<1,000	12	1,15	0,05 – 1,49	0,00	2,07	<1,000
	> 12 Mo	12	0,48	0,18 – 1,76	0,00	2,82		12	0,76	0,41 – 1,60	0,13	2,50	
MMP-2 [pg/ml]	≤ 12 Mo	6	10,94	8,64 – 12,91	6,41	13,58	<0,050						
	> 12 Mo	8	7,25	6,58 – 8,26	5,63	9,34							
MMP-9 [pg/ml]	≤ 12 Mo	8	0,19	0,08 – 0,39	0,03	0,80	<1,000						
	> 12 Mo	8	0,15	0,04 – 0,45	0,00	0,88							
CTX-II [ng/ml]	≤ 12 Mo	15	266,40	159,50 – 367,50	93,50	630,25	<0,001	12	70,75	39,63 – 116,61	22,57	162,24	<0,001
	> 12 Mo	13	41,25	31,55 – 50,42	22,69	88,50		13	14,63	9,42 – 33,15	7,13	49,50	
C2C [ng/ml]	≤ 12 Mo	6	156,19	115,28 – 219,13	109,47	284,58	<1,000						
	> 12 Mo	6	195,89	166,80 – 265,04	157,30	276,79							
CPII [ng/ml]	≤ 12 Mo	7	238,47	225,69 – 312,67	213,63	430,60	<1,000						
	> 12 Mo	6	247,60	88,11 – 361,19	65,83	385,24							

Tabelle 12: Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum in Abhängigkeit vom Alter (≤ 12 Monate, > 12 Monate) der Kontrolltiere.

### ANHANG 3

Parameter	Differenz	Synovia						Serum					
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
Zellzahl [Zellen/ $\mu$ l]	KO R - L	21	0,00	-100,00 – 150,00	-450,00	250,00	<1,000						
	FCP - KL	12	400,00	62,50 – 1062,50	-150,00	2350,00	<1,000						
Protein [mg/ml]	KO R - L												
	FCP - KL												
MPO [U/ml]	KO R - L	17	0,07	-0,03 – 0,76	-1,43	2,04	<1,000						
	FCP - KL	14	0,28	-0,56 – 3,22	-2,25	9,88	<1,000						
MMP-2 [pg/ml]	KO R - L												
	FCP - KL												
MMP-9 [pg/ml]	KO R - L												
	FCP - KL												
CTX-II [ng/ml]	KO R - L	15	-0,75	-5,00 – 16,27	-92,99	57,98	<1,000						
	FCP - KL	12	9,72	6,90 – 25,59	-58,13	79,00	<0,050						
C2C [ng/ml]	KO R - L												
	FCP - KL												
CPII [ng/ml]	KO R - L												
	FCP - KL												

Tabelle 13: Statistik aus der Differenz der Parameter des rechten und linken Gelenkes der Kontrolltiere (KO R – L) sowie des Gelenkes mit FCP und des kontralateralen gesunden Gelenkes (FCP – KL) in der Synovia.

## ANHANG 4

Parameter	KO/FCP	Synovia						Serum						
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p	
Zellzahl [Zellen/ $\mu$ l]	KO	28	500,00	350,00 – 687,50	250,00	1050,00	<0,001							
	FCP	129	1100,00	900,00 – 1425,00	450,00	3200,00								
Protein [mg/ml]	KO	25	14,01	10,76 – 15,49	5,34	27,39	<0,001	24	40,38	32,54 – 48,68	26,95	60,70	<0,001	
	FCP	71	18,76	15,79 – 23,97	7,00	46,19		18	55,62	52,81 – 64,20	36,84	84,26		
MPO [U/ml]	KO	26	0,48	0,13 – 1,92	0,00	2,93	<0,050	24	0,83	0,30 – 1,49	0,00	2,50	<0,050	
	FCP	124	1,30	0,31 – 2,88	0,00	11,53		95	1,32	0,73 – 2,30	0,00	10,94		
MMP-2 [pg/ml]	$\leq 12$ Mo	KO	6	10,94	8,64 – 12,91	6,41	13,58	<1,000						
		FCP	8	15,29	8,31 – 19,04	6,08	23,55							
	$> 12$ Mo	KO	8	7,25	6,58 – 8,26	5,63	9,34	<0,010						
		FCP	13	10,41	8,71 – 13,89	6,98	15,83							
MMP-9 [pg/ml]	KO	16	0,15	0,06 – 0,39	0,00	0,88	<0,010							
	FCP	38	0,43	0,23 – 0,79	0,01	1,79								
CTX-II [ng/ml]	$\leq 12$ Mo	KO	15	266,40	159,50 – 367,50	93,50	630,25	<1,000	12	70,75	39,63 – 116,61	22,57	162,24	<1,000
		FCP	32	270,58	131,31 – 368,06	53,25	486,75		28	63,16	20,24 – 93,75	1,07	155,04	
	$> 12$ Mo	KO	13	41,25	31,55 – 50,42	22,69	88,50	<1,000	13	14,63	9,42 – 33,15	7,13	49,50	<0,001
		FCP	78	31,86	21,51 – 64,04	6,38	256,13		44	0,00	0,00 – 6,05	0,00	22,07	
C2C [ng/ml]	KO	12	180,66	150,34 – 245,95	109,47	284,58	<1,000							
	FCP	27	154,64	117,82 – 188,08	102,74	253,94								
CPII [ng/ml]	KO	13	238,47	219,35 – 332,92	65,83	430,60	<0,050							
	FCP	16	381,65	265,44 – 684,10	141,05	1458,11								

Tabelle 14: Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum von Kontrolltieren (KO) und Tieren mit FCP (FCP).

## ANHANG 5

Parameter	IEWG	Synovia						Serum					
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
Zellzahl [Zellen/ $\mu$ l]	0	19	950,00	750,00 – 1050,00	150,00	2450,00	<0,010						
	1	71	1050,00	850,00 – 1400,00	450,00	2300,00							
	2	24	1050,00	912,50 – 1287,50	550,00	2400,00							
	3	36	1275,00	1112,50 – 1662,50	500,00	3200,00							
Protein [mg/ml]	0	8	17,32	12,77 – 19,16	12,20	32,56	<1,000						
	1	29	17,33	13,46 – 23,57	7,20	46,19							
	2	18	18,38	15,46 – 24,95	7,00	45,64							
	3	26	19,02	17,46 – 22,54	12,12	41,87							
MPO [U/ml]	0	16	1,68	0,40 – 3,03	0,00	7,49	<1,000	11	1,24	0,94 – 2,09	0,02	5,61	<1,000
	1	66	1,31	0,27 – 2,85	0,00	11,03		41	1,25	0,58 – 2,08	0,00	10,94	
	2	24	0,84	0,21 – 1,78	0,00	11,36		12	1,27	0,77 – 3,00	0,44	4,22	
	3	36	1,82	0,71 – 3,08	0,07	11,53		30	1,44	0,72 – 2,76	0,00	7,18	
MMP-2 [pg/ml]	0	2	7,45		6,08	8,82							
	1	16	10,09	7,70 – 11,52	1,95	13,96							
	2	9	15,83	10,34 – 17,07	5,37	23,55							
	3	4	15,11		10,69	19,63							
MMP-9 [pg/ml]	0	1											
	1	16	0,31	0,19 – 0,57	0,01	1,24							
	2	7	0,47	0,25 – 0,48	0,13	0,59							
	3	16	0,65	0,39 – 1,08	0,02	1,79							

Tabelle 15: Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum in Abhängigkeit vom IEWG Grad (0-3).

## ANHANG 5

Parameter	IEWG		Synovia					Serum					
			n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max
CTX-II [ng/ml]	≤ 12 Mo	0	5	313,88		59,19	666,00	<0,050	4	103,29		8,00	129,63
		1	23	300,00	199,75 – 373,50	53,25	583,00		16	59,83	47,45 – 95,55	9,33	155,04
		2	9	178,62	123,51 – 401,72	116,92	476,81		5	21,30		1,07	83,78
		3	3	269,17		84,19	376,75		3	92,31		16,84	94,23
	> 12 Mo	0	8	13,03	7,41 – 21,61	6,38	256,13		3	0,00		0,00	7,79
		1	39	29,00	20,63 – 70,13	6,38	226,13		18	1,59	0,00 – 9,87	0,00	22,07
		2	10	42,49	35,67 – 74,13	17,81	182,63		5	0,00		0,00	4,38
		3	31	33,75	27,38 – 47,44	11,63	211,35		18	0,00	0,00 – 5,49	0,00	20,25
C2C [ng/ml]	0	4	118,50		102,74	167,40							
	1	12	172,65	140,22 – 187,92	111,96	243,02							
	2	7	155,06	117,82 – 245,96	105,38	253,94							
	3	8	151,67	138,83 – 218,41	110,84	239,68							
CPII [ng/ml]	0	1											
	1	7	366,41	231,99 – 415,18	185,20	721,42							
	2	7	372,93	292,15 – 765,96	259,76	768,88							
	3	5	382,97		141,05	1458,11							

Fortsetzung Tabelle 15.

## ANHANG 6

Parameter	IEWG	Synovia						Serum					
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
Zellzahl [Zellen/ $\mu$ l]	0	12	925,00	850,00 – 1050,00	500,00	1900,00	0,010						
	1	44	975,00	750,00 – 1237,50	150,00	2450,00							
	2	30	1075,00	812,50 – 1550,00	450,00	2300,00							
	3	22	1250,00	937,50 – 1562,50	600,00	3000,00							
	4	44	1225,00	962,50 – 1637,50	500,00	3200,00							
Protein [mg/ml]	0	6	16,03	9,69 – 18,15	7,30	18,24	<1,000						
	1	21	18,13	13,30 – 24,10	7,20	46,19							
	2	9	24,65	13,89 – 32,37	12,22	45,64							
	3	13	20,17	15,65 – 24,72	12,37	43,46							
	4	33	18,62	16,78 – 21,34	7,00	41,87							
MPO [U/ml]	0	9	1,29	0,22 – 2,63	0,00	4,59	<1,000	6	1,44	0,85 – 2,78	0,38	5,61	<1,000
	1	37	1,38	0,72 – 2,91	0,00	9,39		24	1,71	0,73 – 2,52	0,00	10,94	
	2	29	0,59	0,26 – 2,93	0,00	11,03		14	0,78	0,64 – 1,92	0,17	3,48	
	3	24	1,11	0,18 – 2,16	0,00	9,41		17	1,32	0,76 – 3,03	0,40	8,80	
	4	44	1,48	0,66 – 2,89	0,00	11,53		34	1,35	0,72 – 2,23	0,00	7,18	

Tabelle 16: Statistik der Parameter in der Synovia und im Serum in Abhängigkeit vom modifizierten Outerbridge Grad (0-4).

## ANHANG 6

Parameter	IEWG	Synovia						Serum					
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
MMP-2 [pg/ml]	0	5	5,37		1,95	9,76							
	1	10	9,91	7,37 – 11,21	6,98	13,69							
	2	6	13,70	11,41 – 15,99	8,63	16,47							
	3	5	17,25		10,41	23,55							
	4	5	13,81		8,78	15,51							
MMP-9 [pg/ml]	0	2	0,26		0,22	0,29							
	1	11	0,20	0,14 – 0,48	0,01	0,64							
	2	3	0,34		0,33	0,47							
	3	5	0,47		0,25	0,87							
	4	19	0,66	0,40 – 1,16	0,02	1,79							
CTX-II [ng/ml]	≤ 12 Mo	0	7	359,63	237,00 – 478,75	59,19	666,00	5	98,08		8,00	135,92	
		1	13	273,50	160,31 – 392,36	53,25	583,00	8	58,88	26,39 – 132,82	9,33	155,04	
		2	7	272,00	127,75 – 335,25	116,92	351,75	5	55,71		21,30	67,90	
		3	9	300,00	123,51 – 380,00	91,58	420,19	6	69,43	16,40 – 86,39	7,27	94,23	
		4	4	324,52		84,19	476,81	4	52,39		1,07	92,31	
	> 12 Mo	0	3	20,63		7,13	40,69	1					
		1	18	38,16	19,55 – 83,44	6,38	256,13	10	1,39	0,00 – 10,67	0,00	22,07	
		2	19	33,00	21,94 – 73,00	6,38	104,63	4	0,00		0,00	7,79	
		3	14	21,38	14,53 – 40,88	9,00	182,63	8	0,32	0,00 – 2,64	0,00	9,31	
		4	34	34,41	27,28 – 49,10	11,63	211,35	21	0,00	0,00 – 8,95	0,00	20,56	

Fortsetzung Tabelle 16.



## ANHANG 6

Parameter	IEWG	Synovia					Serum						
		n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
C2C [ng/ml]	0	2	177,43		167,40	187,45							
	1	9	125,59	111,68 – 196,25	102,74	245,96							
	2	6	178,87	169,22 – 201,82	165,18	243,02							
	3	5	155,06		117,82	253,94							
	4	9	142,57	124,21 – 185,65	105,38	239,68							
CPII [ng/ml]	0	1											
	1	5	396,88		231,99	721,42							
	2	4	324,45		185,20	372,93							
	3	4	767,42		481,52	1485,11							
	4	6	321,95	230,08 – 475,13	141,05	751,62							

Fortsetzung Tabelle 16.

## ANHANG 7

Parameter	Wochen		Synovia						Serum											
			n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p						
Zellzahl [Zellen/ $\mu$ l]	Differenz	4-0	55	600,00	300,00 – 1600,00	-550,00	4200,00	<0,001												
		12-4	55	-4500,00	-1200,00 – -50,00	-4050,00	2450,00	<0,001												
		12-0	55	250	50,00 – 700,00	-1050,00	3250,00	<0,001												
Protein [mg/ml]	Differenz	4-0	32	6,71	-0,50 – 11,69	-12,42	19,57	<0,001												
		12-4	32	-4,30	-7,41 – 0,33	-39,09	17,24	<0,010												
		12-0	32	3,15	-0,62 – 7,07	-22,70	13,36	<1,000												
MPO [U/ml]	Differenz	4-0	40	0,16	-1,38 – 1,99	-6,08	14,32	<1,000							22	-0,02	-1,32 – 0,43	-5,27	1,98	<1,000
		12-4	40	-0,47	-2,07 – 0,62	-13,45	6,81	<1,000							22	0,10	-0,74 – 0,59	-1,44	4,08	<1,000
		12-0	40	-0,03	-1,63 – 0,85	-10,70	6,78	<1,000							22	-0,23	-0,80 – 0,72	-4,58	2,06	<1,000
MMP-2 [pg/ml]	Differenz	4-0	12	6,05	4,51 – 10,15	1,91	15,39	<0,010												
		12-4	12	-3,49	-7,23 – -1,86	-20,24	0,30	<0,010												
		12-0	12	2,72	-0,09 – 4,10	-4,85	10,80	<0,050												
MMP-9 [pg/ml]	Differenz	4-0	12	-0,02	-0,11 – 0,05	-0,64	0,51	<1,000												
		12-4	12	0,06	-0,15 – 0,11	-0,45	1,47	<1,000												
		12-0	12	0,04	-0,05 – 0,13	-0,40	0,83	<1,000												

Tabelle 17: Statistik der Verlaufsuntersuchungen der Parameter in der Synovia und im Serum (4-0; 12-4; 12-0).

## ANHANG 7

Parameter	Wochen		Synovia						Serum					
			n	Median	IQA	Min	Max	p	n	Median	IQA	Min	Max	p
CTX-II [ng/ml]	Differenz	4-0	26	96,19	55,68 – 177,89	-75,19	244,50	<0,001	12	0,11	-2,63 – 1,53	-4,25	4,43	<1,000
		12-4	26	-90,75	-132,38 – -51,97	-240,50	-11,56	<0,001	12	-0,04	-0,36 – 4,78	-1,79	8,17	<1,000
		12-0	26	17,53	-0,25 – 37,55	-224,07	117,57	<0,010	12	0,85	-0,16 – 5,08	-3,00	7,12	<1,000
C2C [ng/ml]	Differenz	4-0	16	37,59	11,37 – 80,31	-62,09	134,30	<0,050						
		12-4	16	-38,98	-63,52 – 4,98	-126,02	66,09	<0,050						
		12-0	16	-4,20	-33,53 – 44,56	-53,89	88,40	<1,000						
CPII [ng/ml]	Differenz	4-0	15	157,73	-178,23 – 302,96	-207,36	1196,93	<1,000						
		12-4	15	-58,30	-355,26 – 16,47	-707,93	107,86	<0,050						
		12-0	15	31,46	-156,66 – 169,88	-572,23	489,00	<1,000						

Fortsetzung Tabelle 17.

## ANHANG 8

Parameter	Wochen		Synovia				Serum			
			> 0	< 0	= 0	gesamt	> 0	< 0	= 0	gesamt
Zellzahl [Zellen/ $\mu$ l]	Differenz	4-0	52 (94,5 %)	2 (3,6 %)	1 (1,8 %)	55 (100,0 %)				
		12-4	10 (18,2 %)	42 (76,4%)	3 (5,5 %)	55 (100,0 %)				
		12-0	44 (80,0 %)	9 (16,4 %)	2 (3,6 %)	55 (100,0 %)				
Protein [mg/ml]	Differenz	4-0	24 (75,0 %)	8 (25,0 %)	0 (0,0 %)	32 (100,0 %)				
		12-4	8 (25,0 %)	24 (75,0 %)	0 (0,0 %)	32 (100,0 %)				
		12-0	22 (68,8 %)	10 (31,3 %)	0 (0,0 %)	32 (100,0 %)				
MPO [U/ml]	Differenz	4-0	21 (52,5 %)	17 (42,5 %)	2 (5,0 %)	40 (100,0 %)	11 (50,0 %)	11 (50,0 %)	0 (0,0 %)	22 (100,0 %)
		12-4	14 (35,0 %)	26 (65,0 %)	0 (0,0 %)	40 (100,0 %)	11 (50,0 %)	11 (50,0 %)	0 (0,0 %)	22 (100,0 %)
		12-0	19 (47,5 %)	20 (50,0 %)	1 (2,5 %)	40 (100,0 %)	9 (40,9 %)	13 (59,1 %)	0 (0,0 %)	22 (100,0 %)
MMP-2 [pg/ml]	Differenz	4-0	12 (100,0 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	12 (100,0 %)				
		12-4	1 (8,3 %)	11(91,7 %)	0 (0,0 %)	12 (100,0 %)				
		12-0	9 (75,0 %)	3 (25,0 %)	0 (0,0 %)	12 (100,0 %)				
MMP-9 [pg/ml]	Differenz	4-0	5 (41,7 %)	7 (58,3 %)	0 (0,0 %)	12 (100,0 %)				
		12-4	8 (66,7 %)	3 (25,0 %)	1 (8,3 %)	12 (100,0 %)				
		12-0	7 (58,3 %)	3 (25,0 %)	2 (16,7 %)	12 (100,0 %)				

Tabelle 18: Differenz der Parameter aus den Messungen am Tag der OP, nach 4 Wochen und 12 Wochen (4-0; 12-4; 12-0).

## ANHANG 8

Parameter	Wochen		Synovia				Serum			
			> 0	< 0	= 0	gesamt	> 0	< 0	= 0	gesamt
CTX-II [ng/ml]	Differenz	4-0	25 (96,2 %)	1 (3,8 %)	0 (0,0 %)	26 (100,0 %)	7 (58,4 %)	4 (33,3 %)	1 (8,3 %)	12 (100,0 %)
		12-4	0 (0,0 %)	26 (100,0 %)	0 (0,0 %)	26 (100,0 %)	5 (41,7 %)	6 (50,0 %)	1 (8,3 %)	12 (100,0 %)
		12-0	19 (73,1 %)	6 (23,1 %)	1 (3,8 %)	26 (100,0 %)	6 (50,0 %)	3 (25,0 %)	3 (25,0 %)	12 (100,0 %)
C2C [ng/ml]	Differenz	4-0	13 (81,3 %)	3 (18,7 %)	0 (0,0 %)	16 (100,0 %)				
		12-4	5 (31,3 %)	11 (68,7 %)	0 (0,0 %)	16 (100,0 %)				
		12-0	7 (43,8%)	9 (56,2 %)	0 (0,0 %)	16 (100,0 %)				
CPII [ng/ml]	Differenz	4-0	9 (60,0 %)	6 (40,0 %)	0 (0,0 %)	15 (100,0 %)				
		12-4	4 (26,7 %)	11 (73,3 %)	0 (0,0 %)	15 (100,0 %)				
		12-0	9 (60,0 %)	6 (40,0 %)	0 (0,0 %)	15 (100,0 %)				

Fortsetzung Tabelle 18.

### 13. DANKSAGUNG

Meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. Ralf Einspanier danke ich für die Vergabe der Dissertation, sein Interesse an der Arbeit und die Möglichkeit, diese in seinem Institut durchführen zu dürfen.

Bei Dr. Angelika Bondzio möchte ich mich herzlich für ihre liebevolle, engagierte und kompetente Betreuung meiner Arbeit bedanken. Ganz besonders danke ich für eine tolle, lehrreiche Zeit, die mir immer in wertvoller Erinnerung bleiben wird.

Bei Dr. Ingo Pfeil bedanke ich mich für die Idee zu diesem Thema, der Bereitstellung des Patientengutes und der fachlichen Unterstützung bei der Auswertung der Arthroskopiebilder.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, die mir nicht nur das Studium und die Dissertation, sondern auch ein erfülltes Privatleben ermöglichten und dafür, dass sie immer an mich geglaubt haben.

Bedanken möchte ich mich bei den Laborantinnen Beate Anders und besonders bei Petra Schulze sowie Ulla Scholz, die für eine angenehme Atmosphäre bei der Arbeit gesorgt haben und mir durch ihre unerschöpfliche Geduld und Hilfsbereitschaft bei den kleinen Problemen im Laboralltag mit Rat und Tat zur Seite standen.

Für die gute kollegiale Zusammenarbeit sowie die Unterstützung beim praktischen Teil der Untersuchungen möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Tierklinik Dresdner Heide bedanken. Insbesondere danke ich Dr. Astrid Buder für ihre geduldige Hilfe bei der Auswertung der Röntgenbilder.

Dr. Gisela Arndt und Fabian Lotz danke ich sehr für ihre engagierte und kompetente Hilfe in allen Fragen zur Erstellung und Bearbeitung der Statistik.

Der Diensthundeschule Sachsen, insbesondere Matthias Richter, danke ich für die freundliche Zusammenarbeit.

## DANKSAGUNG

---

Bedanken möchte ich mich bei Dr. Uta Bormann für die Korrektur der Arbeit und bei Dr. Michael Kuhn für die Hilfe bei der Erstellung der Summary.

Der Firma IDS GmbH, Frankfurt a.M. danke ich für die zur Verfügung gestellten Serum Pre-clinical Cartilaps<sup>®</sup> ELISA.

## SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

---

### 14. SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit bestätige ich, Cornelia Hurlbeck, die vorliegende Arbeit selbständig und ausschließlich auf Grundlage der angegebenen Quellen und Hilfen verfasst zu haben.

Dippoldiswalde, den 18.05.2011

Cornelia Hurlbeck