

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
und aus dem Institut für Veterinär-Anatomie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Histomorphologische Untersuchungen der Kniegelenkkapsel von Hunden mit
und ohne kongenitaler Patellaluxation unter besonderer Berücksichtigung der
Kollagenzusammensetzung**

Inaugural-Dissertation

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

vorgelegt von

Petra Peer

Tierärztin aus Hafling

Berlin 2015

Journal-Nr.: 3857

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Jürgen Zentek
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Leo Brunnberg
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Johanna Plendl
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Johannes Handler

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Dogs; knees; patella; ligaments; femoral; rupture; fracture; capsule;
immunohistochemistry; histopathology; connective tissue; collagen;
semiquantitative analysis; Berlin; Brandenburg; case studies; joint capsule
(MeSH) ; prospective studies (MeSH)

Tag der Promotion: 29.06.2016

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: 978-3-86387-776-7

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2016

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 2016

Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meinen Eltern
In Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	LITERATUR	2
2.1	FUNKTIONELLE ANATOMIE DES KNIEGELENKS	2
2.2	LUXATIO PATELLAE	4
2.2.1	Definition der Luxation	4
2.2.2	Formen der Luxatio patellae	4
2.2.2.1	Luxatio patellae traumatica	4
2.2.2.2	Luxatio patellae congenita	5
2.2.2.2.1	Allgemeines	5
2.2.2.2.2	Pathophysiologie	7
2.2.2.2.3	Luxatio patellae congenita medialis	7
2.2.2.2.4	Luxatio patellae congenita lateralis	12
2.2.2.2.5	Degenerative Veränderungen bei der Luxatio patellae	13
2.2.3	Diagnostik der Luxatio patellae	14
2.2.3.1	Klinik	14
2.2.3.2	Palpation des Kniegelenks und Gradeinteilung	15
2.2.3.3	Röntgen	17
2.2.3.4	Computertomographie	18
2.2.4	Therapie der Luxatio patellae	19
2.2.4.1	Weichteilkorrekturen	19
2.2.4.2	Korrekturmaßnahmen am Skelett	21
2.2.5	Prognose der Luxatio patellae	24
2.3	DIE GELENKKAPSEL (CAPSULA ARTICULARIS)	25
2.3.1	Historischer Überblick der Erforschung der Gelenkkapsel	25
2.3.2	Synoviale Gelenke (Articulationes synoviales)	27
2.3.3	Anatomische Verhältnisse der Kniegelenkkapsel des Hundes	28
2.3.4	Makroskopische Struktur der Gelenkkapsel	28
2.3.5	Mikroskopische Natur der Gelenkkapsel	29
2.3.5.1	Gewebeschichten	30
2.3.5.1.1	Stratum synoviale	30

2.3.5.1.1.1	A-Zellen (M-Zellen)	32
2.3.5.1.1.2	B-Zellen (F-Zellen)	33
2.3.5.1.1.3	C-Zellen (intermediäre Zellen)	33
2.3.5.1.2	Stratum subsynoviale	33
2.3.5.1.3	Stratum fibrosum	34
2.3.5.1.4	Synovialzotten und -leisten (Villi et plicae synoviales)	35
2.3.5.1.5	Sensible Innervation der Gelenkkapsel	35
2.3.5.1.6	Vegetative Nervenendigungen in der Gelenkkapsel	37
2.3.5.1.7	Vaskularisation	38
2.3.6	Synovialitis - Entzündungsreaktion der Gelenkkapsel	38
2.4	KOLLAGEN	41
2.4.1	Allgemeines	41
2.4.2	Kollagene - Bestandteile der extrazellulären Matrix	42
2.4.3	Makrostruktur des kollagenen Netzwerks	42
2.4.4	Mikrostruktur des Kollagenmoleküls	43
2.4.5	Biosynthese einer Kollagenfaser	44
2.4.5.1	Intrazelluläre Transkription und Translation des Prokollagens	44
2.4.5.2	Extrazelluläre Modifikationen des Prokollagens	45
2.4.5.3	Fibrillogenese	46
2.4.6	Kollagentypen	46
2.4.6.1	Die Einteilung der Kollagene	47
2.4.6.2	Fibrilläre Kollagene	48
2.4.6.2.1	Kollagen Typ I, II, III, V und XI	48
2.4.6.2.2	Kollagen Typ XXIV und XXVII	49
2.4.6.3	Nicht-fibrilläre Kollagene	49
2.4.6.3.1	Kollagen IV, VI, VII, VIII, X und XIII	49
2.4.6.3.2	FACITs - Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple helices	52
2.4.7	Funktion der Kollagene im Bindegewebe	53
2.4.8	Abbau der Kollagene	54
2.4.9	Regulation des Kollagen-Stoffwechsels	55
2.4.10	Kollagendefekte und Kollagenstoffwechsel-Störungen	56
2.4.10.1	Erblich bedingte Defekte des Kollagenstoffwechsels	57

2.4.10.2	Erworbene Störungen des Kollagenmetabolismus.....	61
2.4.10.2.1	Erworbene Veränderungen der synthetisierten Kollagen Typen.....	61
2.4.10.2.2	Erworbene Veränderungen in der synthetisierten Menge an Kollagen.....	62
2.4.10.2.3	Erworbene Veränderungen in der Hydroxylierung von Prolin und Lysin.....	62
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	64
3.1.	Patienten und Material	64
3.1.1.	Patienten.....	64
3.1.2.	Untersuchungsmaterial.....	65
3.2.	Methoden	66
3.2.1.	Probenentnahme und -aufbereitung	66
3.2.1.1.	Intraoperative Entnahme der Kniegelenkkapselprobe.....	66
3.2.1.2.	Fixierung	66
3.2.2.	Lichtmikroskopische Techniken.....	67
3.2.2.1.	Vorbereitung für die Lichtmikroskopie	67
3.2.2.1.1.	Auswaschen und Entwässern der Präparate	67
3.2.2.1.2.	Einbettung	68
3.2.2.1.3.	Schneidetechnik	68
3.2.2.2.	Färbetechniken	69
3.2.2.2.1.	Entparaffinieren - Vorbereitung der Schnittpräparate.....	69
3.2.2.2.2.	Histologische Übersichtsfärbungen	70
3.2.2.2.2.1.	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	71
3.2.2.2.2.2.	Kombinierte Weigert-Masson-Goldner-Färbung	71
3.2.2.2.2.3.	Kombinierte Weigert-Volkman-Strauß-Färbung.....	73
3.2.2.2.2.4.	Fibrinnachweis nach Ladewig.....	73
3.2.2.2.3.	Immunhistochemie	74
3.2.2.2.3.1.	Antikörper-Charakteristik	76
3.2.2.2.2.2.	Differenzierung von Kollagen Typen in der caninen Kniegelenkkapsel.....	76
3.2.2.2.3.3.	Vorversuche und Kontrollen.....	78
3.2.2.2.3.4.	Beurteilung der Antigendarstellung.....	81
3.2.3.	Morphometrie	84
3.2.3.1.	Erklärungen zu den einzelnen Untersuchungen.....	84
3.2.4.	Statistische Methoden	90

4	ERGEBNISSE	91
4.1	Signalement der Patienten.....	91
4.2	Ergebnisse des klinischen und orthopädischen Untersuchungsgangs	97
4.3	Histologische Ergebnisse.....	100
4.3.1	Morphologie der Kniegelenkkapsel des Hundes	100
4.3.2	Metrische Ergebnisse an der Kniegelenkkapsel.....	102
4.3.2.1	Deckzellschicht	102
4.3.2.2	Kapseloberfläche - Villi et plicae synoviales	109
4.3.2.3	Fehlen des mittleren Stratum subsynoviale	118
4.3.2.4	Dicke der Kniegelenkkapsel im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt	126
4.3.2.5	Flächenanteile (in %) der Fibrinablagerungen	137
4.3.2.6	Flächenanteile (in %) des Gesamtkollagens.....	139
4.4	Immunhistochemische Ergebnisse	141
4.4.1	Signifikante Korrelationen der Kollagene bezüglich ihrer Lokalisation	141
4.4.2	Scores der Kollagen Typen I, III, IV, V und VI hinsichtlich der vier Rassegruppen	144
4.4.3	Scores der Kollagen Typen I, III, IV, V und VI hinsichtlich der vier Erkrankungen	147
4.4.4	Scores der Kollagen Typen I, III, IV, V und VI hinsichtlich der Lahmheitsdauer.....	150
4.4.5	Spezielle Beobachtungen bei zwei Fällen - Verknorpelung der Gelenkkapsel	152
5	DISKUSSION.....	156
5.1	Diskussion der verwendeten Methoden	158
5.1.1	Probenentnahme	158
5.1.2	Fixierung.....	159
5.1.3	Färbemethoden - Färbung nach Volkmann-Strauß.....	160
5.2	Diskussion der Ergebnisse	161
5.2.1	Signalement der Patienten.....	161
5.2.2	Diskussion der histologischen Ergebnisse	162
5.2.3	Diskussion der immunhistochemischen Ergebnisse	167
5.2.4	Spezialfälle - Verknorpelung der Gelenkkapsel.....	170
6	ZUSAMMENFASSUNG	172
7	SUMMARY	175
8	LITERATURVERZEICHNIS	177
9	REAGENZIERVERZEICHNIS	230

Publikationen	233
Danksagung.....	234
Selbstständigkeitserklärung	235

1 EINLEITUNG

Die kongenitale Patellaluxation ist eine der häufigsten erblich bedingten Funktionsstörungen des Bewegungsapparates des Hundes und stellt vor allem bei Klein- und Zwerghunderassen ein großes züchterisches Problem dar (WANGDEE et al., 2014). Die Ätiologie der Erkrankung ist bis heute nicht eindeutig geklärt, ein multifaktorieller Defekt im Erbgut wird angenommen (WANGDEE et al., 2014; FARRELL et al., 2015). Biomechanische Zusammenhänge der kongenitalen Patellaluxation wurden bisher hinsichtlich ihrer Weichteil- und Knochendeformitäten und der damit zusammenhängenden Winkelveränderungen in den verschiedenen Gelenken der Hintergliedmaße eingehend untersucht (FITZPATRICK et al. 2012; BARNES et al., 2015). So wurde von KAISER (1999) der sogenannte Q-Winkel als Parameter zur Bestimmung der Zugrichtungsabweichung des M. quadriceps bei der Luxatio congenita medialis entwickelt. Mit einem weiteren Beitrag zur Diagnostik der Patellaluxation durch MEYER (2001), der anhand der indirekten Vermessung der Tiefe der Trochlea ossis femoris unter der Verwendung der DIMA-Röntgentechnik das Ausmaß der Trochleahypoplasie bestimmte, wurden folglich die zwei charakteristischen und markantesten Skelettveränderungen der kongenitalen Patellaluxation erörtert. Im Hinblick auf die chirurgischen Korrekturmaßnahmen der Deformitäten lässt sich damit präoperativ eine verbesserte Planung und Aussage über die Prognose treffen. Unter demselben Aspekt der präoperativen Visualisierung der pathologischen Veränderungen bei der kongenitalen Patellaluxation strebten BARNES et al. (2015) ein reproduzierbares Protokoll für die computertomografische Rekonstruktion der Hintergliedmaßen an. Über Abweichungen in der Mikrostruktur der Kniegelenkkapsel bei Hunden mit kongenitaler Patellaluxation liegen bisher keine Daten vor. Aus ätiologischer Sicht kommen jedoch verschiedene Bindegewebsdefekte für die erhöhte Laxizität im Kniegelenk in Frage (PACIELLO et al. 2003; TEMWICHITR et al., 2007). Angesichts der zahlreichen Kollagendefekte beim Menschen, die meistens mit einer Überstreckbarkeit der Gelenke einhergehen, ist das Ziel dieser Arbeit, die kongenitale Patellaluxation in ihrer histomorphologischen Dimension zu erforschen und relevante Bindegewebsveränderungen nachzuweisen. Im Rahmen der operativen Korrekturmaßnahmen sollen daher Kniegelenkkapselproben von Hunden mit kongenitaler Patellaluxation entnommen werden, die anschließend histologisch und immunhistochemisch auf die selektierten Kollagen Typen I, III, IV, V, VI und X hin untersucht werden. Eine qualitative Analyse und der Vergleich mit gesundem Gewebematerial soll einerseits Aufschluss über die bisher mangelhaft histologisch untersuchte Kniegelenkkapsel des Hundes geben und andererseits einen Beitrag zu den mikrostrukturellen Verhältnissen der Kniegelenkkapsel bei der kongenitalen Patellaluxation leisten.

2 LITERATUR

2.1 FUNKTIONELLE ANATOMIE DES KNIEGELENKS

Das Kniegelenk, *Articulatio genus*, ist aus anatomischer Sicht ein zusammengesetztes Gelenk, das aus zwei sehr unterschiedlichen Gelenkarten, der *Articulatio femoropatellaris* und der *Articulatio femorotibialis*, besteht. Funktionell handelt es sich aber um ein einheitliches Gelenk. Aufgrund seines komplexen biomechanischen Bewegungsablaufs und der funktionellen Zusammengehörigkeit des Kniescheiben- und des Kniekehlgelenkes wird das Kniegelenk auch als „kompliziertes Gelenkes“ bezeichnet (VOLLMERHAUS et al., 1994; NICKEL et al., 2003).

Das **Kniescheibengelenk**, *Articulatio femoropatellaris*, ist ein Schlittengelenk, bei dem die Kniescheibe, *Patella*, in der Kniescheibenrolle, *Trochlea ossis femoris*, entlang gleitet.

Die *Trochlea ossis femoris* bildet das distale Ende des Femurs, *Os femoris* und ist seitlich von einem medialen und einem lateralen Rollkamm, *Condylus medialis* und *Condylus lateralis ossis femoris*, begrenzt. Nach ROUSH (1993) ist der mediale Rollkamm etwas breiter als der laterale, beide haben in etwa dieselbe Höhe (SHUTTLEWORTH, 1935). Eine physiologisch ausgebildete *Trochlea ossis femoris* sollte nach ROUSH (1993) sowie SLOCUM und SLOCUM (1993) annähernd die Hälfte der Patelladicke betragen. TOMLINSON und CONSTANTINESCU (1994) hingegen erwähnen, dass eine physiologische *Trochlea* mindestens so tief wie die Hälfte der Patelladicke sein sollte.

Die *Patella* ist das größte Sesambein des Körpers (SALOMON, 2015). Sie ist tropfenförmig und in der Endsehne des *Musculus quadriceps femoris*, dem *Ligamentum patellae*, eingebettet (NICKEL et al., 2003). Die Oberfläche der *Patella* ist mit Knorpelanteilen überzogen, die entsprechend als *Fibrocartilaginee suprapatellaris* sowie *parapatellaris medialis* und *lateralis* bezeichnet werden. Diese seitlichen Knorpelfortsätze wirken einer Luxation entgegen. Die artikulierende Fläche der *Patella*, *Facies articularis patellae*, ist konvex und doppelt so lang wie breit (ROUSH, 1993). Die distale Spitze wird als *Apex* bezeichnet, am proximalen Ende, der *Basis*, setzt der *Musculus quadriceps femoris* an (NICKEL et al., 2003).

Der *Musculus quadriceps femoris* ist ein vierköpfiger Muskel, von dem drei Anteile (*M. vastus medialis*, *M. vastus intermedius*, *M. vastus lateralis*) proximal am *Os femoris* und der vierte Anteil (*M. rectus femoris*) an der Darmbeinsäule entspringen. Seine Endsehne, das

Ligamentum patellae, schließt die Patella in sich ein bevor sie an der Tuberositas tibiae inseriert.

Zu den Bändern des Kniescheibengelenkes werden das Ligamentum patellae und die Retinacula patellae gezählt (VOLLMERHAUS et al., 1994; NICKEL et al., 2003). Die Retinacula stellen eine Verstärkung der Faszien dar (NICKEL et al., 2003) und verhindern, dass die Patella seitlich abgleitet. Sie enthalten die von den Faszien kaum zu unterscheidenden Ligg. femoropatellare mediale und laterale. Diese Ligamenta verlaufen von der Patella lateral und medial zum Os femoris, wo sie beidseits an den betreffenden Vesalischen Sesambeinen, Ossa sesamoidea musculi gastrocnemii, inserieren (NICKEL et al., 2003).

Das **Kniekehlgelenk** stellt ein inkongruentes, einachsiges Wechselgelenk dar. Es artikuliert der Oberschenkelknochen, Os femoris, mit den Unterschenkelknochen, Tibia und Fibula. Die stark gekrümmten Kondylen des Os femoris treffen auf die nahezu ebene proximale Gelenkfläche der Tibia, die aus den Condyli tibiae gebildet wird (VOLLMERHAUS et al., 1994). Das Kniekehlgelenk erlaubt außer der Beugung und Streckung von einem Bewegungsumfang von bis zu 130° zusätzlich geringgradige Rotationsbewegungen (BUDRAS et al., 1996). Rotationen in der Beugstellung werden durch die in der Seitenansicht ersichtliche Spiralförmigkeit der Femurkondylen, durch die Asymmetrie der Condylus medialis und lateralis von Os femoris und Tibia sowie durch die Verschiebbarkeit der Menisken erlaubt (WAIBL et al., 1997; NICKEL et al., 2003). Aufgrund dieser vielseitigen Funktionsmöglichkeiten wird das Kniekehlgelenk auch als Spiralgelenk angesehen (VOLLMERHAUS et al., 1994). Die Menisken dienen der Dämpfung und gleichen die Inkongruenz der Facies articulares des Os femoris und der Tibia aus. An jeder Seite des Kniekehlgelenkes befindet sich ein apfelsinenscheibenförmiger Meniscus articularis, die beide einen scharfen, konkaven Innenrand und einen dicken, konvexen Außenrand aufweisen (WÜNSCHE und BUDRAS, 2004; KÖNIG und LIEBICH, 2009). Die Außenränder der Menisken stehen mit der Gelenkkapsel in Verbindung, was auch als kapsulogene Fixierung der Menisken bezeichnet wird. Sie reichen medial und lateral in die Gelenkhöhle, womit sie diese - mit Ausnahme eines zentralen Bereiches - in zwei Synovialsäcke unterteilen (BUDRAS et al., 1996).

Das Kniegelenk ist beim stehenden Tier gebeugt. Os femoris und Tibia treffen in keiner physiologischen Bewegung in einer geraden Linie aufeinander. Bei Hunden ist der kaudale Winkel maximal 150°. Beuge- und Streckumfang bewegen sich in einem Ausmaß zwischen 90° und 130°. Ab- und Adduktions- sowie Rotationsbewegungen sind um bis zu 20° möglich (VOLLMERHAUS et al., 1994).

2.2 LUXATIO PATELLAE

2.2.1 Definition der Luxation

Laut PSCHYREMBEL (2015) ist eine Luxation eine Verrenkung, bei der es zu einer vollständigen Diskontinuität der gelenkbildenden Knochenenden kommt. Die Patellaluxation ist eine Kniegelenksverletzung, bei der die Kniescheibe aus ihrer Führung, der Trochlea ossis femoris, springt.

2.2.2 Formen der Luxatio patellae

Hinsichtlich der Ätiologie der Luxatio patellae unterscheidet man zwischen der angeborenen (Luxatio patellae congenita) und der erworbenen Form (Luxatio patellae traumatica). Dabei kann die Patella jeweils medial, lateral oder in beide Richtungen luxieren. Je nach Häufigkeit des individuellen Auftretens spricht man von einer habituellen oder einer stationären Patellaluxation (HULSE, 1981; BRINKER et al., 2006). Bei der habituellen Patellaluxation ist die Patella primär in situ und springt im Falle einer Luxation im Verlauf der nächsten Schritte wieder spontan in die Trochlea ossis femoris zurück (Reposition). Die stationäre Patellaluxation ist hingegen dadurch gekennzeichnet, dass die Patella primär verlagert ist. Sie kann manuell durch Druck oder infolge mehrerer Bewegungsabläufe reponiert werden (temporär stationäre Form) oder eine Reposition ist weder manuell noch durch die Bewegung der Gliedmaße möglich (permanent stationäre Form). Im letzteren Fall kann sich sekundär eine Pseudotrochlea außen am jeweiligen Femurkondylus ausbilden (GITTERLE, 1991; GUENGO und BARDET, 1996).

2.2.2.1 Luxatio patellae traumatica

Nach BRUNNBERG et al. (1992) kann die traumatische Patellaluxation Folge einer Gelenkkapselruptur, Apophysenfraktur der Crista tibiae, Patellafraktur, Ruptur des Ligamentum patellae oder des Ligamentum cruciatum craniale sein. Sie kommt selten vor und ist nach HAYES et al. (1994) weitgehend rasse- und altersunabhängig. SLATTER (2003) beschreibt jedoch ein gehäuftes Auftreten beim Flat Coated Retriever in Großbritannien. Art und Stärke des einwirkenden Traumas bestimmen die Ausprägung der Luxation. Es wurden verschiedene Luxationen mit und ohne weitere Verletzungen des Kniegelenks beschrieben (SHUTTLEWORTH, 1935; SINGLETON, 1957; DE ANGELIS und HOHN, 1970; HORNE, 1971; BRINKER et al., 1990; FERGUSON, 1997). Eine akute, mittel- bis hochgradige Lahmheit ist kennzeichnend. Bei der Palpation ist das Kniegelenk

schmerzhaft und vermehrt gefüllt, die Weichteile geschwollen und die Trochlea ossis femoris korrekt ausgebildet (KÁSA, et al., 2001). Therapeutisch ist die Rekonstruktion der anatomischen Strukturen möglich, aber es kann hier, anders als bei der kongenitalen Form, auch je nach Art und Schwere der Verletzung mit einer Spontanheilung gerechnet werden (ROUSH, 1993). Die Prognose richtet sich nach dem Ausmaß der Verletzungen (LOEFFLER und LIEGER, 1964).

2.2.2.2 Luxatio patellae congenita

2.2.2.2.1 Allgemeines

Die kongenitale Patellaluxation ist eine der häufigsten erblich bedingten Erkrankungen des Bewegungsapparates beim Hund (KODITUWAKKU, 1962; PRIESTER, 1972; HULSE, 1981; WEBER, 1992), nach der Aufstellung von HODGMAN (1963) kommt sie am zweit meisten nach der Hüftgelenksdysplasie vor. Unbestritten ist, dass sich die Patellaluxation als Folgeerscheinung einer Reihe von mehr oder weniger stark ausgeprägten Weichteil- und Skelettveränderungen manifestiert. Diese bedingen eine biomechanische Fehlbelastung der Hintergliedmaße, die die Kniescheibe aus ihrem physiologischen Bahnverlauf im femoralen Gleitbett des Kondylenmassivs drängt. Zwar muss die Verlagerung bei Geburt noch nicht sichtbar sein, die ursächlichen Fehlbildungen, oftmals an beiden Hintergliedmaßen (KODITUWAKKU, 1962; BRINKER et al., 1990), bestehen jedoch bereits und sind für die weitere Entwicklung maßgebend (MATIS, 1999). Je jünger die Tiere zum Zeitpunkt der Diagnose sind, desto markanter sind die anatomischen Veränderungen (NUNAMAKER, 1985).

Die Ursache bleibt zwar bisher unklar, es ist jedoch ein familiär gehäuftes Auftreten festzustellen (LOEFFLER und MEYER, 1961; PRIESTER et al., 1970; LOEFFLER, 1990, LaFOND et al., 2002). In diesem Zusammenhang verzeichnet die Orthopedic Foundation of Animals (OFA), dass zu den sechs prädestiniertesten Rassen für eine kongenitale Patellaluxation in den USA der Zwergspitz (39,5%), der Yorkshire Terrier (24,4%), der Australische Terrier (16,4%), der Cocker Spaniel (14,5%), der Boykin Spaniel (13,5%) und der Tibet Spaniel (12,6%) gehören. DNA-Analysen von 59 Pommerschen Hunden aus Thailand konnten einen angenommenen Zusammenhang zwischen polymorphen Veränderungen der Gene für die Kollagen Typen VI und IX und dem Auftreten einer kongenitalen Patellaluxation nicht bestätigen. Eine weitere polymorphe Veränderung eines Nukleotids auf dem Chromosom 7 konnte jedoch identifiziert werden, die ebenso als

genetische Grundlage für die Erkrankung der kongenitalen medialen Patellaluxation bei dieser Hunderasse vermutet wird (SOONTORNVIPART et al., 2013).

Der genaue Erbgang bleibt bis heute nicht hinreichend geklärt. Vermutet wird ein multifaktorielles Geschehen (LOEFFLER und MEYER, 1961), wobei ein rezessiver Faktor als Ursache in Frage kommt (KODITUWAKKU, 1962). Weitgehend einheitlich sind die bisherigen Ergebnisse bezüglich der Rasseverteilung. Betroffen sind vor allem kleinwüchsige Rassen, wie Pudel, Yorkshire Terrier, West Highland White Terrier, Chihuahuas oder Rehpinscher (KODITUWAKKU, 1962; LÖFFLER und LIEGER, 1964; ÜBERREITER, 1966; SINGLETON, 1969; RODENBECK, 1971; PRIESTER, 1972; HULSE, 1981; SCHÄFER et al., 1982; REMEDIOS et al., 1992; ROUSH, 1993; ANDERSON, 1994; HAYES et al., 1994; ALBRECHT, 1999; MEYER, 2001; KINSCHER, 2007; BEHRENDT, 2008). Mittelgroße und große Rassen, wie Chow Chow, Labrador Retriever, Collie, Deutsche Dogge, Boxer, Bobtail und Irischer Wolfshund waren bisher ausnahmsweise betroffen (HODGMAN, 1963; DE ANGELIS und HOHN, 1970; SCHÄFER, 1981). Während bis unlängst in erster Linie die kleinen Rassen von der Erkrankung der kongenitalen Patellaluxation betroffen waren, zeigen die jüngsten Studien ein zunehmendes Vorkommen bei mittelgroßen und großen Hunderassen (KALFF et al., 2014). Das Auftreten der Erkrankung bei größeren Hunderassen ab einem Körpergewicht von 15 Kilogramm beschreiben GIBBONS et al. (2006) und diskutieren eine an die Körpergröße angepasste chirurgische Versorgung.

Über eine Geschlechtsprädisposition wird in der Literatur unterschiedlich diskutiert. PRIESTER (1972) beschrieb, dass Hündinnen 1,5-mal häufiger betroffen sind als Rüden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen KUWABARA et al. (1980), HOFFMANN(1983), WILLAUER und VASSEUR (1987) sowie WEBER (1992). ALBRECHT (1999) konnte ferner eine 1,7-mal höhere Inzidenz bei Hündinnen nachweisen. Im Gegensatz dazu fanden SINGLETON (1969), DE ANGELIS (1971), SCHÄFER (1981), HUTTER et al. (1983), KAISER (1999), KINSCHER (2007) und BEHRENDT (2008) keine Geschlechtsprädisposition. GUSTAFFSON et al. (1969) beobachteten das Auftreten einer Kniescheibenluxation bei Hunden, die für Versuchszwecke unter Östradiol-Einwirkung standen und es infolgedessen zu Fehlbildungen der Rollkämme des Femurs und zu Coxa vara führte.

Bei der Einteilung der Luxatio patellae nach Luxationsrichtung ist aus der bisherigen Literatur eine deutliche Mehrheit der Fälle mit medialer Patellaluxation festzustellen (GIBBONS, 2006). Die laterale Luxatio patellae ist hingegen selten. Vereinzelt kommt auch eine Kombination der lateralen und medialen Luxation ipsilateral vor (KODITUWAKKU, 1962; BRINKER et al., 1990; BEHRENDT, 2008), meist sind diese Fälle aber ohne skelettale Veränderungen.

2.2.2.2 Pathophysiologie

Bleibt die Ätiologie der Luxatio patellae congenita bisher auch ungeklärt und in der Literatur kontrovers diskutiert, so besteht dennoch Einigkeit über die muskuloskelettalen Fehlbildungen, die bei der kongenitalen Patellaluxation in individuellem Schweregrad auftreten. Diese können von geringen Weichteilveränderungen bis hin zu ausgeprägten Skelettdeformitäten reichen. Dauer der Luxation und Alter des Tieres zum Zeitpunkt der Diagnose spielen für den Schweregrad der Erkrankung und die Ausprägung der Fehlbildungen eine entscheidende Rolle (HULSE, 1981). Es gibt Veränderungen, die die Patellaluxation bedingen und Veränderungen, die durch die Patellaluxation entstehen. In diesem Zusammenhang herrscht allerdings wiederum Uneinigkeit darüber, was Ursache und was Folgeerscheinung ist. Einerseits wird eine Hypoplasie der Trochlea ossis femoris als Grundlage für die weiteren sich entwickelnden Fehlbildungen angenommen (KODITUWAKKU, 1962; KNIGHT, 1963; PEARSON und RAMSEY, 1963; LÖFFLER und LIEGER, 1964; HENSCHERL et al., 1981). Andererseits geht man von einer Zugrichtungsabweichung des Musculus quadriceps femoris aus, welche die weiteren Deformitäten am Os femoris bedingt (SINGLETON, 1957; KODITUWAKKU, 1962; REX, 1963; RUDY, 1965; HERRON, 1969; DE ANGELIS und HOHN, 1970; WHITTICK, 1974; SCHEBITZ und BRASS, 1999). Für GAZIEUX et al. (1977) kann eine Festlegung von Ursache und Folgeerscheinung bei den verschiedenen Fehlbildungen der kongenitalen Patellaluxation nicht definiert werden. Aufgrund der ätiologischen Vielfalt werden daher im folgenden Abschnitt die einzelnen muskuloskelettalen Deformationen unter dem klinischen Gesamtbild der medialen und lateralen Patellaluxation erläutert.

2.2.2.3 Luxatio patellae congenita medialis

Die Luxatio patellae congenita medialis, speziell die habituelle (SCHÄFER et al., 1982), tritt zu 85% - 90% häufiger als die laterale auf (KODITUWAKKU, 1962; DE ANGELIS und HOHN, 1970; FRITZ, 1989; BRINKER et al, 1990; HAYES et al., 1994; KAISER, 1999; KASA et al., 2001; MEYER, 2001). WANGDEE (2014) beschreibt speziell beim Niederländischen Kooikerhund ein doppelt so häufiges Auftreten der Luxatio patellae congenita medialis im Vergleich zur Luxatio patellae congenita lateralis. Häufig sind dabei beide Kniegelenke betroffen (ÜBERREITER, 1966; FRITZ, 1989; KAISER, 1999; KASA et al., 2001; MEYER, 2001; BEHRENDT, 2008, WANGDEE et al., 2014).

Coxa vara

„Coxa vara“ kommt aus dem Lateinischen und bedeutet übersetzt „auswärts gebogene Hüfte“. Man versteht darunter einen nicht korrekten Winkel zwischen Femurkopf und -hals, der unter 120° liegt. Dieser Winkel wird auch Centrum-Collum-Diaphysen-Winkel genannt, da die beiden gemessenen Geraden des Winkels durch diese anatomischen Strukturen verlaufen. Die Konsequenz daraus ist ein ventral absinkendes Caput und Collum ossis femoris (PUTNAM, 1968). Die Fehlstellung gilt in der Veterinärmedizin hauptsächlich als kongenital und in der Humanmedizin auch als altersbedingt. Bei der Luxatio congenita medialis geht diese Fehlstellung der Hintergliedmaße mit einer Verkleinerung der Femurhals-Inklination (Centrum-Collum-Diaphysenwinkel) und einer Femurhals-Antetorsion einher (PUTNAM; 1968). Die dabei entstehenden Winkelveränderungen bedingen eine Achsenabweichung der Muskulatur des Oberschenkels und führen somit zu biomechanischen Veränderungen, die letztendlich in einer O-beinigen Stellung resultieren. Folglich entstehen weitere Schäden im Hüft- und Kniegelenk. Eine besonders starke Verkleinerung des Winkels zwischen dem Oberschenkelschaft und dem Schenkelhals wurde an Hunden im Alter von drei Monaten festgestellt. PUTNAM (1968) schließt eine Fehlbelastung als Ursache für das Abdriften von Caput und Collum ossis femoris nicht aus. Verschiedene Autoren stimmen PUTNAMs Theorie der primären Femurhals-Inklination zu, welche weitere Veränderungen am Femur bei der Luxatio patellae medialis zur Folge hat (SINGLETON, 1969; CAMPBELL und POND, 1972; HUTTER et al., 1983; HULSE und SHIRES, 1993).

Laterale Torsion des distalen Femurs

Die Wachstumsfugen sind das Zentrum für Plastizität eines Knochens. Erfahren sie einen Torsionsdruck, wirkt eine nicht parallel in Richtung des physiologischen Wachstums verformende Kraft auf die Epiphysenfuge (ROBINS, 1990). Nach dem Wolff'schen Gesetz kommt es zur Abweichung der Knorpelsäulen der Proliferationszone in ein spiralisches Muster und somit zu einem verdrehten Wachstum dieses Knochens (WOLFF, 1892). Diese Form der Achsenabweichung ist im Falle der medialen Patellaluxation am distalen Femur zu sehen (KAISER, 1999). Die verformende Kraft wirkt lateral und impliziert eine Torsion des distalen Bereichs des Os femoris. OXLEY et al. (2013) entwickelten ein standardisiertes Protokoll zur Messung der Torsion des Femurs und des Inklinationswinkels des Femurkopfhalses. Da Hunde mit einer Patellaluxation aufgrund ihrer Malformationen des Femurs und der Tibia für eine Röntgenaufnahme im orthograden Strahlengang nur limitiert optimal gelagert werden können, untersuchten BARNES et al. (2015) die Torsion des Femurs bei Hunden anhand von CT-Bildern.

Laterale Verbiegung des distalen Bereichs des Os femoris

Sie entsteht durch das abnormale Epiphysenwachstum (HULSE, 1981). Nach den Wolffschen Transformationsgesetzen passen sich äußere Form und innere Struktur des Knochens ständig an die mechanische Beanspruchung an (WOLFF, 1892). Im Wachstum geben die Epiphysenfugen den Druckkräften in Ausmaß und Richtung am meisten nach. Parallel zur Wachstumsrichtung wirkende Druckkräfte bewirken im Fugenknorpel eine Hemmung des Längenwachstums. Durch das Ausbleiben der physiologischen Belastung gegen die Schwerkraft vermindert sich der Druck auf die Epiphysenfuge und verursacht ein beschleunigtes Wachstum. Eine Verzögerung des Wachstums ergibt sich im Fall der medialen Patellaluxation medial an der Epiphysenfuge, wo die von der physiologischen Gliedmaßenachse abweichende Zugkraft des Musculus quadriceps femoris einen erhöhten Druck auf die mediale Seite des Os femoris ausübt und folglich medial in der Wachstumszone eine Hemmung der Chondroblastenproliferation impliziert. Der Condylus medialis bleibt somit hypoplastisch. Der laterale Condylus erfährt einen nachlassenden Druck, sodass er gesteigert wächst (HULSE, 1981). Das Ausmaß der sich damit entwickelnden konvexen Verbiegung des distalen Abschnittes des Os femoris auswärts entspricht dem Grad der Patellaluxation. Für ENDRES (1977) liegt aufgrund dieser Befunde eher eine Dislocatio trochleae als Dislocatio patellae vor.

Hypoplasie der Trochlea ossis femoris

Eine flache Trochlea ossis femoris wird in der Literatur einheitlich als grundlegender Hauptbefund bei der kongenitalen Patellaluxation angesehen. In der Ansicht, ob sie die Ursache (KODITUWAKKU, 1962; KNIGHT, 1963; PEARSON und RAMSEY, 1963; LOEFFLER und LIEGER, 1964; HENSCHEL et al. 1981) oder eine Folge (SHUTTLEWORTH, 1935; PUTNAM, 1968; SINGLETON, 1969; LEIGHTON, 1970; DE ANGELIS, 1971; HUTTER et al., 1983; DÄMMRICH und BRASS, 1993) der Luxation ist, gehen die Meinungen der Autoren allerdings markant auseinander. Einerseits geht man von einem fehlenden formativen Reiz aus (SHUTTLEWORTH, 1935; HULSE und SHIRES, 1993; ROBINS, 1990; SCHEBITZ und BRASS, 1999), denn der Gelenkknorpel der Trochlea reagiert auf Druckänderungen in gleicher Weise wie die Epiphysenfugen. Ein normaler Druck der Patella an der dorsalen Oberfläche der Trochlea geht mit der Ausbildung einer normal konkaven Trochlea einher. Fehlt hingegen der physiologische Druck, kommt es zum überschießenden Knorpelwachstum und zu einer abgeflachten bis konvexen Rollfurche. Während HULSE (1981) an Kniegelenken mit experimentell entfernten Patellae eine Degeneration des trochlearen Gelenkknorpels findet, konnten HENSCHEL et al. (1981) in einer Studie an patellaektomierten Hunden normal ausgebildete Trochleae nachweisen. Im Gegensatz dazu wurde bei der zu flachen Rollfurche des Os femoris auf eine

Fehlentwicklung des Gelenks geschlossen (HEUCK, 1979). Nicht ein fehlender mechanischer Reiz, sondern ein Gendefekt soll dafür verantwortlich sein. Der Meinung ist auch KODITUWAKKU (1962), der die hypoplastische Trochlea ossis femoris durch einen rezessiven Gendefekt zu erklären versucht. LOEFFLER und LIEGER (1964) äußern in diesem Zusammenhang die Hypothese der multifaktoriellen Erbllichkeit. HULSE (1981) und OLMSTEAD (1981) sind der Meinung, dass die Patellaluxation primär auch durch eine Muskelhypoplasie bedingt sein kann. Die antagonistische Wirkung von M. vastus medialis und M. vastus lateralis könnte durch eine Unterentwicklung des einen bewirken, dass die Patella in die Zugrichtung des anderen abweicht und somit aus ihrem physiologischen Gelenkgefüge luxiert. Dies würde in Ansätzen dem Pathomechanismus der angeborenen Form der Patellaluxation beim Menschen nahekommen, wo der Streckapparat lateral verläuft und sich die Patella ebenfalls lateral entwickelt (SCHÖNBAUER et al., 2013).

Medialisierung des Musculus quadriceps femoris

Sie kann als Folge des Achsenfehlers des eingespannten Skelettabschnittes betrachtet werden. Nach LÖER (1999) sind drei Skelettdeformationen an der Beckengliedmaße für den Achsenfehler verantwortlich: Die Außenrotation des distalen Femurabschnittes, die Varusdeformität des Os femoris und die Innenrotation der Tibia. Nach INSALL et al. (1972) ist das Ausmaß der seitlichen Zugrichtungsabweichung des M. quadriceps femoris entscheidend dafür, ob es zu einer Subluxation oder Luxation der Patella kommt. Die Medialverlagerung des vierköpfigen M. quadriceps femoris bewirkt eine Innenrotation des Unterschenkels und damit die Deviation aus der femoralen Gleitbahn. In die Endsehne des M. quadriceps eingelagert, folgt die Patella seiner Zugkraft und luxiert aus ihrem Gleitbett, der Trochlea ossis femoris. Zunehmende Dauer der Luxation können nach FRITZ (1989) zu Veränderungen des M. quadriceps führen: Er wird mehr und mehr zur Extension unfähig, fixiert das Kniegelenk in gebeugter Stellung und kann schließlich mit zunehmender Kontraktur atrophieren und fibrosieren. Den Grad der Zugrichtungsabweichung bestimmt KAISER (1999) mit dem sogenannten Q-Winkel. Aus der Humanmedizin übernommen, dient er als messbarer Parameter für die Kraftkomponente, die einen seitlichen Zug auf die Patella ausübt (KAISER, 1999; MALGHEM und MALDAGUE, 1989; FROT et al., 1996). Er wird von zwei aufeinander treffenden Geraden definiert: Eine Gerade verläuft vom kranialen Rand des Acetabulums bis zum tiefsten Punkt der Trochlea ossis femoris. Die zweite Gerade bildet sich von diesem Punkt aus über die Spitze der Tuberositas tibiae. KAISER (1999) fand, dass der physiologische mediale Q-Winkel 10° beträgt und beschrieb ihn als neutralen Q-Winkel. Er konnte außerdem nachweisen, dass der Q-Winkel proportional mit zunehmendem Schweregrad der medialen Patellaluxation zunimmt. MEYER (2001) konnte dies in einer

nachfolgenden Studie mit einer anderen Messmethode, der DIMA-Röntgentechnik, bestätigen.

Deviation der Tuberositas tibiae

Die torsionsbedingte Medialverlagerung der Quadrizepsgruppe setzt sich mit der Patella im Ligamentum patellae über das Kniegelenk fort, wo sie an der Tuberositas tibiae eine nach innen ziehende Drehkraft ausübt. Dies führt mit der Zeit zu einer Deviation des Margo cranialis der Tuberositas tibiae medial. Die Innenrotation des proximalen Abschnittes der Tibia kann auch als kompensierende Reaktion auf die Außenrotation und Anteversion der Beckengliedmaße verstanden werden. Favorisiert wird dies zusätzlich durch das eigenständige Ossifikationszentrum der Tuberositas tibiae (SINGLETON, 1969). Die Deviation der Tuberositas tibiae verhält sich proportional zum Schweregrad der Patellaluxation (HULSE, 1981; LÖER, 1999) und ist um bis zu 90° möglich (SINGLETON, 1969; KODITUWAKKU, 1962; PUTNAM, 1968).

Medial konvexe Krümmung der Tibia

Die unphysiologischen Druckverhältnisse in der Beckengliedmaße bedingen des Weiteren ein unterschiedliches Wachstum zwischen dem medioproximalen und dem lateroproximalen Tibiaschaft, was mit einer medial konvexen Krümmung der Tibia einhergeht. Dies basiert auf den unterschiedlich einwirkenden Kräften auf die Wachstumsfuge proximal an der Tibia medial und lateral (HULSE, 1981). Der hyperplastische laterale Condylus ossis femoris drückt vermehrt auf die laterale Seite der Tibia und retardierte dort das Wachstum. Auf der medialen Seite zeigt sich das entgegengesetzte Bild, indem der Druck auf den Tibiaschaft medial durch den hypoplastischen medialen Condylus ossis femoris nachlässt. Dies ebnet den Weg für eine ungehinderte Proliferation, das Wachstum ist folglich gesteigert.

Torsion der distalen Tibia nach außen

In der Anfangsphase der Erkrankung sind die Hunde typisch O-beinig. Beim Laufen ist der Tarsus nach außen und die Pfote nach innen gerichtet. Um ein möglichst ungehindertes Laufen zu ermöglichen, geschieht im Laufe der Zeit eine Anpassung und die Tiere drehen die Gliedmaße vermehrt nach lateral. Ein permanenter Torsionsdruck kann dann eine Verdrehung der Tibia distal nach außen mit sich bringen (HULSE, 1981; LÖER, 1999). FITZPATRICK et al. (2012) konnten einen signifikanten Einfluss des Torsionsgrades der Tibia auf den Grad der medialen Patellaluxation bei Yorkshire Terriern belegen.

Rotationsinstabilität des Kniegelenks

Die Innenrotation der Tibia und die Medialisierung der Quadrizepsmuskulatur verursachen eine Überdehnung der Kniegelenkkapsel lateral, des Retinaculum lateral, des Ligamentum collaterale und der Fascia genus lateral. In weiterer Folge führt dies aufgrund von Anpassungsvorgängen des Gewebes zu einer zunehmenden Laxizität des Gelenks, die im Falle einer Verlagerung der Patella aus der physiologischen Achse des Streckapparates eine zusätzliche Rotationsinstabilität des Kniegelenks bedingt (KODITUWAKKU, 1962; KAISER, 1999; MEYER, 2001; BEHRENDT, 2008).

2.2.2.2.4 Luxatio patellae congenita lateralis

Die Luxatio patellae congenita lateralis kommt mit einem Anteil von 5 bis 26% der gesamten Patellaluxationen beim Hund vor (KODITUWAKKU, 1962; ENDRES 1977; HULSE, 1981; HOFFMANN, 1983; MATIS, 1999; KINSCHER, 2007). Es können beide Gliedmaßen betroffen sein. Die laterale kongenitale Patellaluxation kommt bei klein- und großwüchsigen Rassen in gleicher Häufigkeit vor (ROUSH, 1993), nach manchen Autoren sollen große Hunderassen, insbesondere der Flat Coated Retriever, prädisponiert sein (RUDY, 1974; HULSE, 1981; ROUSH, 1993; DENNY, 1996; BRINKER et al., 2006;). Nach RUDY (1974) sind zudem die Deutsche Dogge, der Berner Sennenhund und der Irische Wolfshund prädisponiert. Bei kleinen Rassen wird ein plötzliches Auftreten im Alter beschrieben, während es große Rassen hauptsächlich im Wachstum betrifft (LÖER, 1999).

Folge- und Begleiterscheinungen

Die muskuloskelettalen Folge- und Begleiterscheinungen der lateralen Luxatio patellae congenita existieren nicht unbedingt in entsprechender Form als Spiegelbild der medialen Form. Bei dieser Luxationsrichtung sind sie ähnlich, treten aber in der entgegengesetzten Form als bei der medialen Patellaluxation in Erscheinung. Meistens sind diese muskuloskelettalen Veränderungen jedoch geringer ausgebildet als bei der medialen Patellaluxation (OLMSTEAD, 1981; BRINKER et al., 1993). Sie lassen sich ebenfalls durch eine Verlagerung der gewichtstragenden Achse erklären, in diesem Fall ist diese lateral gerichtet.

Coxa valga

Wie bei der medialen Luxatio patellae congenita, kann es auch bei der lateralen zu einer Veränderung des Centrum-Collum-Diaphysen-Winkels kommen (BRINKER et al., 2006). Als

Pendant zur Coxa vara ist der Winkel zwischen Femurkopf und -hals bei der Coxa valga vergrößert (OLMSTEAD, 1981; BRINKER et al., 2006).

Mediale Torsion und Verbiegung im Bereich der distalen Femurdiaphyse

Der laterale Condylus ossis femoris formt sich entsprechend der lateral verlagerten Achse hypoplastisch, während der mediale Condylus normal ausgebildet ist (BRINKER et al., 2006). Dies führt nach den oben beschriebenen Folgeerscheinungen bei veränderten Druckverhältnissen zur medialen Torsion und medial konvexen Krümmung der distalen Epiphysenfuge. Es kommt nach RISER et al. (1969) zur X-beinigen Stellung der Beckengliedmaße(n) zum Genu valgum.

Schwäche und laterale Verlagerung des M. quadriceps femoris

Die Zugrichtungsabweichung des M. quadriceps femoris lateral stellt sich als Folge der Innenrotation des distalen Abschnitts des Os femoris in der Valgusdeformität im Kniegelenk und der Außenrotation der Tibia ein und nimmt dadurch dem medialen Anteil des vierköpfigen Quadriceps, dem M. vastus medialis, die Spannkraft. Dieser Muskel wird phylogenetisch als letzter der Quadricepsgruppe entwickelt und soll auch der erste dieser Gruppe sein, der atrophiert (ENDRES, 1977). Nach HULSE (1981) und OLMSTEAD (1981) ist die laterale Patellaluxation Folge einer Hypoplasie des M. vastus medialis.

Außenrotation der proximalen Tibia

Die Tibia unterliegt der Zugkraft des M. quadriceps femoris, der bei lateraler kongenitaler Patellaluxation eine laterale Zugrichtungsabweichung aufweist. Dementsprechend stellt sich eine Außenrotation der Tibia mit einer Lateralisation der Tuberositas tibiae ein (GUENGO und BARDET, 1996).

2.2.2.2.5 Degenerative Veränderungen bei der Luxatio patellae

Eine über einen längeren Zeitraum bestehende Verlagerung der Patella resultiert in der Abnutzung des hyalinen Knorpels der Gelenkoberflächen und in osteoarthritischen Abbauprozessen. Man spricht im Fall der Luxatio patellae von einer retropatellären Chondromalazie (MØLLER et al., 1989; OLMSTEAD, 1999), die sich in ihrem Ausmaß nicht immer proportional zum Grad der Patellaluxation verhält (ROY et al. 1992). Der Grad der Osteoarthritis ist meistens gering- bis mittelgradig. Bei der lateralen Patellaluxation kann eine ausgeprägte Synovialitis am Ursprung des Musculus extensor digitorum longus entstehen, welche zu einer Ruptur dieser Ursprungssehne führen kann.

2.2.3 Diagnostik der Luxatio patellae

Die Diagnose „Luxatio patellae congenita“ wird häufig in den ersten sechs Lebensmonaten gestellt (LOEFFLER und LIEGER, 1964; DE ANGELIS, 1971). Dabei sind die muskuloskelettalen Deformationen umso gravierender, je jünger das Tier zum Zeitpunkt der Diagnose ist (NUNAMAKER, 1985). Die Diagnose sollte daher möglichst früh erfolgen, um zum einen knöchernen Fehlbildungen vorzubeugen und zum anderen, um die Tiere aus dem Grund der anzunehmenden Vererbung der Erkrankung aus der Zucht auszuschließen. Im Rahmen der Zuchtuntersuchung wird deshalb zum Beispiel beim Yorkshire Terrier, Norwich Terrier, Jack Russel Terrier, Pudel und Spaniel eine Selektion luxationsfreier Tiere zur Zuchtzulassung gefordert (FARRELL et al., 2015).

2.2.3.1 Klinik

Nach BRUNNBERG (1998) sind die Symptome der Patellaluxation altersabhängig: Neugeborene und ältere Welpen werden demnach sehr früh durch ihre abnorme Haltung und Belastung der Beckengliedmaßen auffällig. Junge und ausgewachsene Tiere zeigen im Falle der habituellen Luxation meist eine intermittierende Lahmheit, bei der das betroffene Bein plötzlich für ein paar Schritte im Kniegelenk gebeugt gehalten wird und im nächsten Moment wieder lahmheits- und schmerzfrei benutzt wird. Vom Hundehalter wird dieses Gangbild initial oft als merkwürdige Angewohnheit interpretiert, weshalb diese Tiere meist erst bei deutlicher Verschlechterung des Gangbildes vorgestellt werden. Ältere Tiere zeigen oft infolge eines Bagateltraumas eine akute Lahmheit und Schmerzhaftigkeit des Kniegelenks. Zeichen degenerativer Veränderungen im Sinne einer Gonotrochlose und Gonarthrose sind in ihrem Fall häufig zu beobachten (BRUNNBERG, 1998).

Ist die Patella nach medial luxiert, wird das Bein angewinkelt, Knie- und Sprunggelenk sind gebeugt. Die Gliedmaße ist leicht nach innen rotiert, sodass die Pfote zunächst nach kranio-medial zeigt (SINGLETON, 1957). Ist die Luxation beidseitig, zeigen die Tiere eine typische O-Beinstellung, was vor allem gut sichtbar wird, wenn man die Tiere parallel zum Boden hochhält. Dann sind die Kniegelenke gebeugt und nach außen gedreht, und die Beine überkreuzen sich auf Höhe der Sprunggelenke. Im Stand nehmen diese Tiere eine Haltung wie beim Kotabsatz ein, bei langsamer Fortbewegung laufen sie Enten-ähnlich (SHUTTLEWORTH, 1935) und bei zunehmender Geschwindigkeit hoppeln sie wie ein Hase (KODITUWAKKU, 1962).

Luxiert die Patella nach lateral, zeigt das Tier eine X-beinige Stellung der Beckengliedmaße(n), da der Oberschenkel adduziert und der Unterschenkel abduziert wird.

Das Kniegelenk ist gebeugt und nach medial gedreht. Eine plötzliche beidseitige Luxation der Kniescheibe nach lateral kann zum akuten Verlust des Standvermögens führen, da die Spannkraft des Streckapparates durch den M. quadriceps femoris aufgehoben wird. Differentialdiagnostisch muss dabei eine neurologische Erkrankung ausgeschlossen werden (BRINKER et al., 1990).

Die Haltung bei einer beidseitigen stationären Luxation der Kniescheibe nach lateral wird auch mit der eines Seehundes verglichen (BRINKER et al., 1990), und ihr Gangbild soll laut RUDY (1965) dem einer Schildkröte gleichkommen. Die Befunde bei der stationären Patellaluxation sind jedoch sehr variabel und reichen von lahmheitsfrei bis hochgradig lahm (OLMSTEAD, 1981). Da die Funktion der Gliedmaßenmuskulatur hier dauerhaft beeinträchtigt ist, geht diese Form der Luxation mit einer Kontraktur und in weiterer Folge mit einer Atrophie der Beugemuskulatur des Kniegelenks einher (LOEFFLER und MEYER, 1959; SINGLETON, 1969; NIEMAND, 1994).

Die traumatische Patellaluxation kann in der Regel durch den Vorbericht eines Traumas und durch die klinisch und röntgenologisch vorliegenden Kardinalsymptome der Entzündung - Tumor, Rubor, Calor, Dolor und Functio laesa - gut von der kongenitalen Patellaluxation abgegrenzt werden (ENDRES, 1977). Eine akute Lahmheit und Schmerzhaftigkeit sind für diese Form der Luxation pathognostisch.

2.2.3.2 Palpation des Kniegelenks und Gradeinteilung

Nach BRUNNBERG (1998) beruht die Diagnose der Luxatio patellae auf der klinisch-orthopädischen Untersuchung. Die Radiodiagnostik soll lediglich als ein ergänzendes Mittel zur Beurteilung der Sekundärererscheinungen dienen. Die Palpation des Kniegelenks wird am stehenden und liegenden Tier ohne Sedation oder Narkose durchgeführt. Dabei wird der Sitz der Kniescheibe in der Trochlea ossis femoris unter Beugung, Streckung, Adduktion und Abduktion, Endo- und Exorotation mit und ohne Druck des Daumens auf die Patella geprüft. Auch nach KODITUWAKKU (1962) ist der wichtigste Punkt in der Diagnosefindung die Palpation des Kniegelenkes. Daraus ergibt sich die Gradeinteilung nach PUTNAM (1968):

- Grad 0: Die Patella ist weder durch manuellen Druck von medial/lateral noch durch Streckung des Kniegelenks luxierbar.
- Grad I: Die Patella kann durch manuellen Druck von lateral/medial oder durch Streckung des Kniegelenks durch den Untersucher oder beim Laufen durch das Tier selbst luxiert werden. Bei Aufheben des Druckes oder Beugung des Kniegelenks wird die Patella spontan reponiert.

- Grad II: Die Patella kann durch Fingerdruck von lateral/medial oder durch Flexion des Kniegelenks durch den Untersucher oder durch das Tier selbst luxiert werden. Sie bleibt luxiert und kann nur durch Druck oder aktive Flexion und Extension durch das Tier oder den Untersucher zurückverlagert werden.
- Grad III: Die Patella ist meistens nach medial/lateral luxiert. Sie kann nur durch Druck durch den Untersucher reponiert werden, reluxiert aber unmittelbar nach Einstellen des Druckes durch den Untersucher.
- Grad IV: Die Patella ist permanent luxiert. Sie kann weder durch manuellen Druck noch durch Extension reponiert werden.

Eine zweite Graduierung erfolgte nach SINGLETON (1969), bei der zusätzlich das Ausmaß der morphologischen Veränderungen berücksichtigt wird:

- Grad I: Es besteht eine habituelle Patellaluxation mit intermittierender Lahmheit. Die Patella luxiert leicht bei Streckung der Gliedmaße und bei manuellem Druck. Die Reposition erfolgt ohne Druck oder spontan bei Beugung des Kniegelenks. Es sind keine Krepitationen im Kniescheibengelenk zu vernehmen. Die Deviation der Tuberositas tibiae ist gering (unter 15°) und die Rotationsmöglichkeit der Tibia ist minimal. Beugung und Streckung des Kniegelenks erfolgen achsenkorrekt.
- Grad II: Die Patella luxiert häufig, in manchen Fällen ist sie zeitweise stationär luxiert. Die Tibia ist bis zu 30° nach innen rotiert und es besteht eine geringgradige Deviation der Tuberositas tibiae. Es können Krepitationen des Kniescheibengelenks vorhanden sein. Es besteht eine geringgradige Achsenabweichung der Gliedmaße, bei der medialen Luxation ist diese mit einer Abduktion des Sprunggelenks vergesellschaftet.
- Grad III: Die Patella ist stationär luxiert. Die Achsenabweichung der Gliedmaße ist deutlich nachweisbar. Es besteht eine markante Deviation der Tuberositas tibiae mit einer Rotation der Tibia um $30^\circ - 60^\circ$. Die Gliedmaße wird häufig bei halb gebeugtem Kniegelenk belastet. Das Sprunggelenk wird bei Flexion abduziert und bei Extension adduziert. Die Trochlea ossis femoris ist flach.
- Grad IV: Die Patella ist permanent stationär luxiert. Die Deviation der Tuberositas tibiae liegt zwischen 60° und 90° . Die Gliedmaße wird nicht belastet oder das Tier bewegt sich in halbgekauerter Stellung fort. Die Trochlea ossis femoris ist palpatorisch flach.

Das Ziel der Einteilung nach SINGLETON (1969) ist, durch die Berücksichtigung der Folge- und Begleiterscheinungen der Luxatio patellae die präoperative Wahl der indizierten Operationsmethode zu erleichtern. Nach KAISER (1999) ist die Bestimmung der

Rotationsgrade jedoch durch die klinische Untersuchung alleine schwierig und selbst mit Hilfe von radiologischen Parametern lässt sich keine fundierte Diagnose stellen. Trotz des individuellen Interpretationsspielraumes bei der Untersuchung und Gradeinteilung der Patellaluxation, die keine unfehlbare Diagnose und Bestimmung des Schweregrades der Luxation zulassen (WEBER, 1992), bleibt die klinisch-orthopädische Untersuchung in jedem Fall Grundlage der Untersuchung (BRUNNBERG, 1998; REICHLER et al., 1999).

2.2.3.3 Röntgen

Zur radiologischen Befundung des Kniegelenks beim Hund wird standardmäßig eine kraniokaudale Aufnahme in gestreckter Position und eine mediolaterale Projektion bei einem um ca. 100 - 130 Grad gebeugten Kniegelenk verwendet (DOUGLAS, et al., 1987; SCHEBITZ und WILKENS, 1989). Die röntgenologische Untersuchung ist jedoch hinsichtlich der Diagnosestellung der Luxatio patellae congenita zweitrangig und bestätigt nur in seltenen Fällen die Erkrankung. Die Röntgenaufnahmen können im Fall einer Patellaluxation jedoch den Schweregrad der muskuloskelettalen Deformationen am Os femoris und an der Tibia zu erkennen geben und sind folglich für die Therapie und Prognose von Bedeutung. Zur Beurteilung der Tiefe der Trochlea ossis femoris bei Hunden mit kongenitaler Patellaluxation versuchten verschiedene Autoren anhand von unterschiedlichen Radiotechniken einen Leitfaden zur Diagnostik zu geben: In der Humanmedizin beurteilte JANSSEN (1979) für die Radiodiagnostik am Kniegelenk die sogenannte „Skyline-Aufnahme“ am aussagekräftigsten für die Beurteilung der Tiefe der Rollfurche und des Ausmaßes der patellaren Subluxation. Dabei wird eine tangentielle Projektion nach KNUTSSON (1941) vom Kniegelenk in einer Beugstellung von 30 Grad angefertigt. Für eine tangentielle Aufnahme vom Kniegelenk des Hundes schreiben SCHEBITZ und WILKENS (1989) eine maximale Beugung des Gelenkes vor. FRITZ (1989) modulierte diese Technik, indem er den Beugungswinkel des Kniegelenks zwischen 95° und 115° festlegt, bei dem die Patella und Trochlea ossis femoris tangential überlagerungsfrei abgebildet werden können. Allerdings stellten sich in seinen Untersuchungen zur morphologischen Ausformung der Trochlea ossis femoris rassebedingte Winkelabweichungen von 30° bis 40° heraus. KAISER (1999) erklärte die tangentielle Röntgenaufnahme des Kniegelenks vom Hund für ungeeignet, wenn es um die Patellaluxation geht. Es wird dabei nämlich hauptsächlich der distale Bereich der Trochlea ossis femoris dargestellt, die Patellaluxation tritt aber in der Regel proximal auf. Nach KAISER (1999) liegt der überlagerungsfreie Beugewinkel bei allen Hunderassen bei 130°. MEYER (2001) wendete zum ersten Mal die DIMA-Technik (direct magnification, geometrische Direktvergrößerung) an, welche in der Humanmedizin zur detaillierten Begutachtung menschlicher Kniegelenke verwendet wird. Dabei geben Messung und

Bestimmung von Protrusion, Tiefe und dysplastischen Veränderungen der Trochlea ossis femoris an mediolateralen Röntgenaufnahmen des Kniegelenkes signifikante Ergebnisse bezüglich der Patella-Instabilität. Für diese Untersuchung ist in der Veterinärmedizin jedoch eine Narkose unerlässlich, da eine exakte Superposition der beiden Femurkondylen notwendig ist (BEACONSFIELD et al., 1994). Dies wird als „wahre“ mediolaterale Projektion oder als „true lateral view“ bezeichnet, anhand welcher MEYER (2001) bei Hunden mit Patellaluxation die Tiefe der Trochlea ossis femoris im Vergleich zur Patellabreite ermittelte. Anhand des Quotienten aus Trochleatiefe und Patelladicke und dem nach KAISER (1999) entwickelten Q-Winkel ließ sich die Patellainstabilität bei Gliedmaßen mit unilateraler kongenitaler Luxation berechnen. Allerdings kam MEYER (2001) zum Schluss, dass aus dem Grund der multifaktoriellen Ätiologie dieser Erkrankung die alleinige Messung der Trochleatiefe nicht die wünschenswerte Sensibilität für die Diagnostik erbringt. BRUNNBERG (2001) betont schlussendlich, dass es sich bei der Bestimmung des Q-Winkels und dem Vergleich zwischen radiologischen und magnetresonanztomographischen Ergebnissen um die ersten reproduzierbaren und objektivierbaren Daten in der Diagnostik der Patellaluxation handelt.

2.2.3.4 Computertomographie

Einen standardmäßigen Einsatz der Computertomographie in der Diagnostik der Patellaluxation, wie er in der Humanmedizin gebräuchlich ist, gibt es in der Veterinärmedizin noch nicht routinemäßig. Die Computertomographie ist nichts desto trotz auch in der Veterinärmedizin das ideale Diagnostikum zur Beurteilung des Sulcus-Winkels und der Trochleatiefe. GRIFFON et al. (2004) und TOWLE et al. (2005) kamen mittels dieses radiologischen, nicht-invasiven Verfahrens bei Hunden mit Patellaluxation zu Ergebnissen, die die Gradeinteilung beeinflussten und prognostische Faktoren der Erkrankung aufzeigten. BEHRENDT (2008) konnte mit der computertomographischen Untersuchung reproduzierbare Messungen erzielen, mit denen das Ausmaß der Weichteil- und Knochendeformitäten bestimmt werden konnte und leistete somit einen Beitrag zur präoperativen Planung der Korrekturmaßnahmen der kongenitalen Patellaluxation. Ähnliche Ziele verfolgten BARNES et al. (2014) mit der Entwicklung eines standardisierten Protokolls zur computertomografische Untersuchung von Hunden mit einer medialen Patellaluxation. Anhand der Messung von 5 Parametern sollte eine optimierte, präoperative Planung der chirurgischen Versorgung erzielt werden.

2.2.4 Therapie der Luxatio patellae

Das Ziel aller therapeutischen Maßnahmen ist es, den dauerhaften Sitz der Patella in der Trochlea ossis femoris und somit die Stabilität im Kniegelenk zu gewährleisten. Es werden in der Literatur zwar konservative Behandlungsmöglichkeiten ansatzweise beschrieben, aber keine guten Ergebnisse in diesem Zusammenhang mitgeliefert. Diese Behandlungsversuche beruhen auf Verbandsmaßnahmen oder auf der Applikation reizender Agenzien, die eine Bindegewebsfibrosierung um das Gelenk bewirken und damit eine Gelenkstabilisierung erreichen sollen. Diese Verfahren sind obsolet (LÖER, 1999) und werden von den meisten Autoren abgelehnt oder gar nicht erst erwähnt. HORNE (1971) und NUNAMAKER (1985) erinnern aber daran, dass nicht jede Patellaluxation therapiert werden muss, da die Hunde auch lahmheits- und schmerzfrei sein können. Nach BRUNNBERG (1998) sollte man immer dann operieren, wenn das Tier funktionelle Ausfälle zeigt. Bei Hunden mit Patellaluxation Grad 2 ist eine Operation wahrscheinlich notwendig, im Fall der Luxationen Grad 3 und 4 ist sie unumgänglich (ROUSH, 1993; BRUNNBERG, 1998). Im Hinblick auf die Wiedererlangung der Funktionsfähigkeit des Streckapparates ist das Ziel eine achsengerechte Rekonstruktion der Gliedmaße. Es gibt mehrere Korrekturmaßnahmen, die sowohl Weichteile als auch Skelettanteile betreffen können. DE ANGELIS (1971) unterscheidet in diesem Sinn stabilisierende von rekonstruierenden Operationsverfahren. Den stabilisierenden oder Weichteil-Operationen ist gemein, dass sie durch eine operativ hergestellte erhöhte Zugkraft und/oder durch eine Zugentlastung die Luxationstendenz senken. In keinem Fall aber beheben die Weichteilkorrekturen die Ursache der Luxation. Sie bewirken oft nur eine vorübergehende Wirkung bis Gewebeer müdung und -elongation zum Rezidiv führen (DE ANGELIS, 1971; BRUNNBERG, 1998). Im Gegensatz dazu wirken die Knochenoperationen rekonstruierend, indem sie eine dauerhafte Kompensation der Luxation erzielen. Eine Kombination der beiden Verfahren wird im Fall von Luxationen Grad 2 - 4 empfohlen (DE ANGELIS, 1971). Eine für alle Luxationsformen und -grade geeignete Operationstechnik gibt es nicht (HORNE, 1979) und trotz chirurgischer Versorgung kann der progressive osteoarthritische Prozess im Kniegelenk nicht aufgehalten werden.

2.2.4.1 Weichteilkorrekturen

Desmotomie des Retinaculum patellae

Hierbei handelt es sich um eines der ältesten Verfahren zur operativen Korrektur von Patellaluxationen (LACROIX, 1930). Die Fascia genu wird parapatellar auf Höhe des Tibiaplateaus inzidiert und der Schnitt parapatellar nach proximal geführt bis der in

Luxationsrichtung wirkende Faszien- und Muskelzug aufgehoben wird (BRINKER et al., 1990). Dabei besteht die Desmotomie in der Durchtrennung aller Schichten der Gelenkkapsel und des Retinaculums (Lig. femoropatellare). Sie erfolgt medial, wenn die Patella nach medial luxiert und lateral, wenn es sich um eine Luxatio patellae lateralis handelt. Der dabei entstehende Defekt kann mit einem proximal gestielten Streifen entsprechender Breite aus dem überdehnten Gelenkkapselbereich der anderen Seite der Patella gedeckt werden (MATIS und SCHEBITZ, 1985). Diese sogenannte Lappenplastik (SINGLETON, 1969; HUTTER et al., 1983; MATIS, 1999) wird oft in Kombination mit anderen Verfahren verwendet (DE ANGELIS, 1971). Bei Luxationen der Grade 3 und 4 ist die Desmotomie mit Lappenplastik zur Reposition der Patella empfohlen.

Faszien- und Gelenkkapselraffung

Mit verschiedenen Nahttechniken soll eine Raffung der überdehnten Gelenkkapsel und Fascia genu erreicht werden. Diese wird bei der medialen Luxation an der lateralen Seite und bei der lateralen Luxation an der medialen Seite durchgeführt. Der dadurch entstehende Gegenzug auf die Patella soll eine erneute Luxation vermeiden. Gleichzeitig wird durch die Raffung der Gelenkkapsel - mittels Exzision eines spindelförmigen Streifens und anschließender Naht - das Gelenk stabilisiert. Es werden ebenfalls Lembertnähte (ÜBERREITER, 1966) oder eine Faszien Doppelung mit Rückstichheften auf der gedehnten Seite für die Raffung verwendet (MATIS, 1999). FLO und BRINKER (1970) beschreiben die Dopplung der Knie- und Oberschenkel faszie, die aber ausschließlich bei der medialen Luxation und bei der Luxation ersten Grades möglich ist. Dabei wird das laterale Retinaculum und die Fascia lata durch Spreizen des subkutanen Fettgewebes bis auf halber Höhe des Femurs freigelegt, die Fascia lata von distal am kranialen Rand des M. biceps femoris beginnend so weit wie möglich nach proximal durchtrennt. Distal wird der Schnitt parallel des Lig. patellae über die Sehne des langen Zehenstreckers gelegt. Dann wird oberhalb der Patella die Fascia lata stumpf vom M. vastus lateralis bis zur Aponeurose des M. biceps femoris abpräpariert. Der kraniale Rand des M. biceps femoris wird mit nichtresorbierbarem Nahtmaterial an die Aponeurose fixiert und anschließend die Fascia lata über die Oberfläche des M. biceps femoris nach kaudal gezogen und dort mit Knopfheften und der Lembertnaht fixiert (MATIS, 1999). Die Patella bekommt auf diese Weise einen verstärkten Zug nach lateral (BRINKER et al., 1990). Vor allem bei einer Luxation ersten Grades - besonders nach Trauma - ist dieses Verfahren empfehlenswert (CAMPBELL und POND, 1972).

Faden- und Faszienzügel

Das freie Ende eines gestielten Streifens aus der Fascia lata bzw. Fascia genu oder ein nichtresorbierbarer Faden wird um das gleichseitige Sesambein des M. gastrocnemius geschlungen und unter Spannung vernäht, wodurch die Patella unter Spannung fixiert wird. Das Os sesamoideum musculi gastrocnemii liegt annähernd im Zentrum der Patellabewegung, sodass der Gewebstreifen bei Beugung und Streckung unter annähernd konstantem Zug auf die Patella steht (DE ANGELIS, 1971, MATIS, 1999). Dadurch kann die Rotationsneigung der Tibia eingegrenzt werden (BRINKER et al., 1990).

Mobilisierung des M. quadriceps femoris

Bei Luxationen des dritten und vierten Grades ist die Verlagerung des M. quadriceps femoris so stark, dass eine Reposition der Patella nicht mehr möglich ist. In diesem Fall wird empfohlen, die Quadricepsgruppe bis etwa zur Mitte des Os femoris zu lösen und den Ansatz der Gelenkkapsel proximal der Trochlea zu mobilisieren. Anschließend ist es möglich, die Patella zu reponieren. Nach der Korrektur werden die oberflächlichen Faszienschnitte vernäht (BRINKER et al., 2006).

Mobilisierung des kranialen Kopfes des M. sartorius

Die Insertion des kranialen Anteils des M. sartorius wird abpräpariert und nach kraniolateral verlagert. Dadurch kann bei einer Luxation nach medial der übermäßige Zug auf der medialen Seite der Patella aufgehoben werden (HORNE, 1979).

2.2.4.2 Korrekturmaßnahmen am Skelett

Trochleoplastiken

Ein mangelhaft entwickelter Rollkamm und dementsprechend eine flache bis aplastische und selten konvexe Trochlea ossis femoris sind Indikationen für Operationsmethoden zur Vertiefung der Trochlea. Es gibt die Möglichkeit der Trochleakeilvertiefung, der Trochleavertiefung mit Knorpelresektion und der subchondralen Knorpelresektion. Das Ziel aller dieser Methoden ist es, die Rollfurche weit genug zu vertiefen, damit sich die Patella permanent in dieser Führungsrinne befindet. Die Tiefe der Trochlea ossis femoris sollte annähernd die Hälfte der Patelladicke (ROUSH, 1993) bzw. mindestens die Hälfte der Patelladicke betragen (TOMLINSON u. CONSTANTINESCU, 1994). Nach SLOCUM und SLOCUM (1993) soll die Trochlea ungefähr so tief sein, wie die Hälfte der Patellahöhe beträgt. Die Möglichkeit der Trochleavertiefung kann nach HUTTER et al. (1983) nicht

unbegrenzt durchgeführt werden. Es muss nämlich bedacht werden, dass eine zu stark kaudale Verschiebung des Drehpunktes die Kraftübertragung des M. quadriceps femoris auf den Unterschenkel minimiert.

Trochleavertiefung mit Knorpelresektion

Durch Ausfräsen des Gelenkknorpels und des subchondralen Knochengewebes in der Trochlea ossis femoris wird die Gleitbahn der Patella so weit vertieft bis sie nicht mehr luxieren kann (DE ANGELIS, 1971; HORNE, 1979; BRINKER et al., 1990). Durch den anschließenden Heilungsprozess wird der freigelegte Knochen mit Bindegewebe überzogen, welches sich in weiterer Folge in Faserknorpel umwandelt (HULSE et al., 1986; BRINKER et al., 1990).

Trochleakeilvertiefung

Bei dieser Technik wird der Gelenkknorpel weitgehend geschont. Mit einer Handsäge wird ein V-förmiger Knorpel-Knochen-Keil, der die Gleitbahn der Patella miteinschließt, aus der Trochlea ossis femoris heraus gesägt und bei Seite gelegt. Anschließend wird ein zweiter Keil ein paar wenige Millimeter tiefer und parallel zur ersten Sägefläche reseziert. Der Knorpel-Knochen-Keil dient als autologes Knochentransplantat (BOONE et al., 1983; SLOCUM und SLOCUM, 1993) und wird anschließend in die vertiefte Rollfurche eingesetzt. Der Druck der Patella verankert den zurückverlagerten Keil in der Tiefe. Der Keil kann V-förmig (SLOCUM et al., 1982; BOONE et al., 1983; SLOCUM und DEVINE, 1985; SLOCUM und SLOCUM, 1993) oder rechteckig sein (TALCOTT et al., 2000). Die Trochleakeilvertiefung ist die Methode der Wahl, da sie den Kontakt der Patella mit dem physiologischen, hyalinen Knorpel erhält und somit degenerative Gelenkreaktionen vermindert (SLOCUM et al., 1982; BOONE et al., 1983; SLOCUM und DEVINE, 1985; SLOCUM und SLOCUM, 1993). BOONE et al. (1983) konnten außerdem nachweisen, dass nach einer Trochleakeilvertiefung die Gliedmaße ein bis drei Wochen nach der Operation belastet wird. Im Gegensatz dazu wird die Gliedmaße nach der Resektion des Knorpels frühestens nach zehn bis zwölf Wochen voll belastet.

Subchondrale Trochleavertiefung

Diese Operationsmethode ist nur für junge Hunde im Alter von vier bis sechs Monaten zulässig (BRINKER et al., 1990). In diesem Alter ist der hyaline Gelenkknorpel noch nicht fest mit dem subchondralen Knochen verbunden, sodass es möglich ist, den Knorpel von der Trochlea ossis femoris abzuheben und den darunterliegenden subchondralen Knochen rinnenförmig zu vertiefen. Anschließend wird der Knorpel zurückgelegt (BRINKER et al., 2006).

Transposition der Tuberositas tibiae

Dieses erstmals von PEZZOLI und BIGNOZZI (1954) beschriebene Verfahren hat durch SINGLETON (1957) in der Veterinärmedizin an Bedeutung gewonnen. Eine laterale oder mediale Deviation der Insertionsstelle des Ligamentum patellae oder eine starke Tibiarotation sind Indikationen einer Transposition der Tuberositas tibiae (RICHARDS, 1975; HULSE, 1981; HULSE und SHIRES, 1993). Dabei wird die Tuberositas tibiae mit dem Ansatz des Ligamentum patellae mit einer feinen Handsäge osteotomiert, wobei die periostale Verbindung zur Crista tibiae erhalten bleibt. Die mobilisierte Tuberositas tibiae wird soweit zur Seite versetzt, bis der M. quadriceps femoris mit ihr auf einer Geraden liegt (ROUSH, 1993). Je nach Größe des Hundes wird das versetzte Knochenstück mit einer Zugschraube oder ein bis zwei Kirschner-Bohrdrähten fixiert (BRINKER et al., 1990). Infolgedessen ist der intraartikuläre Druck des Kniegelenks reduziert und die Patella kann nun auf einer geraden Verbindungslinie zwischen dem proximalen Femur- und dem distalen Tibiaende entlang der Rollfurche gleiten (BRINKER et al., 1990).

Transposition des Fibulakopfes

ARNOCZY und TARVIN (1980) beschreiben eine Versetzung des Fibulakopfes nach kranial, wodurch das Ligamentum collaterale laterale gestrafft wird und somit die Innenrotation der Tibia eingeschränkt wird. Im Falle einer Kombination von Patellaluxation und Ruptur des cranialen Kreuzbandes ist diese Technik besonders vorteilhaft, da das vordere Schubladenphänomen limitiert wird. Eine Kombination dieses Verfahren mit der Transposition der Tuberositas tibiae wird empfohlen (VASSEUR, 1993; NUNAMAKER, 1985).

Korrekturosteotomie

Bei einer Patellaluxation vierten Grades können die Deformationen so stark vorliegen, dass oben beschriebene Verfahren die Funktion der Hintergliedmaße nicht wiederherstellen können (BRINKER et al., 1990). In diesem Fall ist eine achsengerechte Korrektur nur mehr durch Keil- oder Rotationsosteotomie möglich. Auch kann eine Arthrodesse des Kniegelenks in manchen Fällen notwendig sein (BRINKER et al., 2006).

Patellaektomie

Die Patella kann durch dauerhafte Luxationen stark erodiert sein (SINGLETON, 1969). Nach BRINKER et al. (1990) sind in diesem Fall Stabilisierungsmaßnahmen aussichtslos, da sie kaum Erfolg bringen. Eine Patellaektomie kann dann in Erwägung gezogen werden, wegen des schlechten funktionellen Resultats wird davon aber abgeraten (HORNE, 1971).

2.2.5 Prognose der Luxatio patellae

BRUNNBERG (1998) erachtet die Prognose der Patellaluxation ersten und zweiten Grades als gut, während sie für die Luxation dritten und vierten Grades vorsichtig zu stellen ist, da die Funktion trotz aufwendiger Korrektur häufig zu einem unbefriedigenden Resultat führt. Das funktionelle Ergebnis ist nach VIDONI (1997) vom Grad der Luxation, dem Zustand des Knorpels und dem Chirurgen abhängig. In Untersuchungen über die Spätfolgen wurde ersichtlich, dass eine geringgradige Reluxation nicht selten auftritt und häufig Sekundärarthrosen vor allem nach operativen Eingriffen die Funktion der Gliedmaße beeinträchtigen (FRITZ, 1989; WILLAUER und VASSEUR, 1987).

2.3 DIE GELENKKAPSEL (CAPSULA ARTICULARIS)

2.3.1 Historischer Überblick der Erforschung der Gelenkkapsel

Die Struktur und Funktion der Gelenkkapsel sowie die Bildung und Zusammensetzung der Synovia ist seit mehr als fünf Jahrhunderte hinweg ein zentraler Interessenspunkt für Anatomen, Histologen, Kliniker und Biochemiker. Trotz zahlreicher Untersuchungen an der Gelenkkapsel des Menschen und einiger Säugetiere herrschte lange Zeit eine große Ungewissheit und Unstimmigkeit über den Aufbau und die Physiologie der einzelnen Gewebeschichten und Zellarten der Gelenkkapsel. So kam es, dass die allseits die Gelenkhöhle umschließende Membran immer wieder neue Bezeichnungen bekam: Sie hieß „**Intima**“ (HUETER, 1866; HAMMAR, 1894), „**Epithelium**“ (HENLE, 1838; FRERICHS, 1846; GERLACH, 1849; REICHERT, 1849; BRINTON, 1852; TODD und BOWMAN, 1856; HENLE, 1866; SAPPEY, 1867; CORNIL und RANVIER, 1869; VAN DER SLUIJS; 1875; TILLMANNNS, 1874; TOURNEUX und HERRMANN, 1880; HOFBAUER, 1898; LOVELL und TANNER, 1908; BREMER, 1927) oder „**Endothelium**“ (LANDZERT, 1867; ALBERT, 1871; STEINBERG, 1874; VON KÖLLIKER, 1889; LOVETT und MORSE, 1892; PIERSOL, 1907; KROH, 1908; FISHER, 1923; STÖHR, 1928;), wurde aber auch als „**Epithelioid**“ (HUETER, 1866; BRAUN, 1894; MAGNUS, 1923), „**Mesothelium**“ (CLARK, 1928), „**Mesothelial-Endothelium**“ (BUCHER und WARTENBERG, 1989) oder als „**mesothelioid**“ Zellschicht bezeichnet. Des Weiteren wurden die Kontinuität der Synovialmembran, die Anzahl der Zellreihen und das Ursprungsgewebe der verschiedenen Zellarten kontrovers diskutiert.

Nach HYRTL (1880) geht die Bezeichnung „Synovia“ (synophia) auf Theophrastus Paracelsus (1493-1541) zurück, der der Gelenkschmiere - wie sie in synovialen Gelenken (echte Gelenke, Diarthrosen), Sehnenscheiden (Vaginae synoviales tendinis) und Schleimbeutel (Bursae synoviales) zu finden ist - ihren Namen gab. Dabei soll die Bezeichnung „Synovia“ möglicherweise aus dem Vergleich der Beschaffenheit der Gelenkschmiere mit dem Eiklar herrühren und sich somit aus „syn“ (lat. „zusammen“) und „ovum“ (lat. „Ei“) zusammensetzen (HYRTL, 1880). Der Begriff wurde später von WINSLOW (1732) und BONN (1763) für die Beschreibung der „innersten, der Gelenklichtung zugekehrten Zellschicht“ wieder aufgegriffen. WINSLOW (1732) und BICHAT (1801) verglichen die „Synovialhaut“ als erste mit serösen Häuten und sahen ihre die Gelenkhöhle auskleidende Zellreihe als Epithelschicht an. Diese wurde später von TILLMANNNS (1876), ASCHOFF (1919) und KAUFMANN (1922) als Endothel gedeutet. Nicht als Kapsel sondern als „Kapselbänder“ wurde die Gelenkkapsel lange Zeit gesehen (HUNTER, 1742; HENLE, 1838; SOUBBOTINE, 1880). Mit ihren fettzellreichen, faltenförmigen Ausläufern nahm die

Gelenkkapsel die Funktion eines Drüsengewebes wahr und sezernierten die Synovia (HAVERS, 1691; CHESELDEN, 1795; RAINEY, 1846; FISHER, 1923, VAUBEL, 1933). Diese Ausstülpungen der Gelenkkapsel erhielten später ihrer Erstbeschreibung zufolge (HAVERS, 1691) die Bezeichnungen der „Havers-Falten“ oder „Haversianische Drüsen“ (WINSLOW, 1732), welche noch heute in medizinischen Lexika (PSCHYREMBEL, 2015) als Synonym für die finger- oder blattförmigen Zotten der Gelenkinnenhaut (Plicae synoviales) aufgeführt sind. Durch lichtmikroskopische Studien wurde später klar, dass es sich bei der Gelenkkapsel um ein teils fibröses und teils weitmaschiges, lockeres Bindegewebe handelt und dieses auch in die Kapsel eingelagerte Bänder überzieht (HUETER, 1866). Auch VAN DER SLUIJS (1875), HAGEN-TORN (1882), HAMMAR (1894) und BRAUN (1894) hielten die Synovialzellschicht für ein zellreiches, modifiziertes Bindegewebe. Ebenso betonen SIGURDSON (1930) und MARQUORT (1930) diese Form von Bindegewebe der Synovialmembran, die für BARGMANN (1977) des Weiteren durch die enge, oberflächliche Anordnung der Synoviozyten stellenweise epithelähnlichen Charakter aufwies. Nach LUBOSCH (1910) ist die innige Beziehung zum hyalinen Knorpel ausschlaggebend für die Synovialmembran, weshalb er sie als modifiziertes Knorpelgewebe anerkannte. Nach BYWATERS und MAC KINNON (1937), BAUER et al. (1940), DAVIES (1946), BURKL und SONNENSCHNEIN (1952), MAIBACH (1953), LANG (1957), LEVER und FORD (1958) sind die Synovialzellen an der Produktion der Synovia, welche chemischen und elektrophoretischen Untersuchungen zufolge ein Dialysat des Blutes ist, beteiligt und fügen ihr besondere Stoffe zu. MAIBACH (1953) konnte in den Synovialzellen Hyaluronsäure, alkalische Phosphate, Diastase und Lipase nachweisen, welche auch in der Gelenkschmiere vorkommen.

So kontrovers die Befunde über die Gelenkkapsel beim Menschen lange diskutiert wurden, so spärlich fallen die speziesspezifischen Ergebnisse aus. Ist die Struktur und Funktion der verschiedenen Kapselbestandteile beim Menschen mittlerweile weitgehend geklärt, so beruft man sich für die Untersuchungen an der Gelenkkapsel des Hundes in den meisten Fällen auf die Verhältnisse beim Menschen oder Labortieren (GREISEN et al., 1982; LIPOWITZ et al., 1985; DÄMMRICH und LOPPNOW, 1990; DÄMMRICH und BRASS, 1993; BRINKER et al., 1993; JOHNSTON, 1997; NICKEL et al., 2003; TODHUNTER und JOHNTSON, 2003; LIEBICH, 2010). Bis heute scheint die physiologische Struktur der Gelenkkapsel des Hundes nur ansatzweise untersucht worden zu sein. Einen Beitrag dazu liefern LANGER und HUTH (1960), welche die Innenstruktur der Synovialzellen von Hunden, Meerschweinchen und eines Kalbes elektronenmikroskopisch untersuchten. Sie konnten dabei die bereits durch MAIBACH (1953) beobachtete rege Stoffwechsellätigkeit dieser Zellen bestätigen. Im Unterschied zu den Ergebnissen von LEVER und FORD (1958) an der Gelenkhaut des Menschen, des Kaninchens und der Katze ist die eigentliche Synovialmembran nach

LANGER und HUTH (1960) eine geschlossene Zellschicht, die außerdem einer Basalmembran aufliegt und innerhalb des sogenannten Stratum synoviale zu liegen kommt. Die Autoren konnten entgegen der oft beschriebenen Lymphgefäße der Gelenkkapsel beim Menschen (LANDZERT, 1867; TILLMANN, 1877; FISHER, 1923; MAGNUS, 1923; ZALEWSKI, 1928; SIGURDSON, 1930, BARGMANN, 1977) beim Hund, Kalb und Meerschweinchen keine dergleichen nachweisen und stimmten damit der Auffassung von LANG (1957) zu, dass Gefäße bis dato als Lymphkapillaren missinterpretiert wurden. Des Weiteren kommt keine histologische Beschreibung lichtmikroskopischer Befunde der Schichten und Bestandteile der Kniegelenkkapsel der untersuchten Tiere vor.

Spezifische anatomische Befunde über die Gelenkkapsel des Hundes liefern außerdem VASSEUR und ARNOCZKY (1981). Bei der Untersuchung der Kollateralbänder des Kniegelenks erkannten die Autoren, dass diese beim Hund als verstärkende Einrichtungen in das Stratum fibrosum eingeflochten sind und die Gelenkkapsel somit mit den Ligg. collateralia eine wichtige Funktion für die Einschränkung der Rotationskräfte bei Beugung und Streckung des Gelenks ausübt. Neuere Ergebnisse zur Gelenkkapsel des Hundes liefern TSUKISE et al. (2000), NAGAOKA und TSUKISE (2001) und NAGAOKA et al. (2001). Mit einer speziellen Diamid-Färbung konnten sie an der Kniegelenkkapsel des Hundes verschiedene Glykosaminglykane in unterschiedlichen Konzentrationen nachweisen. Sie diskutierten die histopathologischen und pathophysiologischen Funktionen dieser Synoviabestandteile.

2.3.2 Synoviale Gelenke (Articulationes synoviales)

In einem echten, synovialen Gelenk begrenzen die Enden von zwei (Articulatio simplex) oder mehreren (Articulatio composita) artikulierenden Knochen einen Gelenkspalt, der allseits von einer Gelenkkapsel (Capsula articularis) umschlossen ist (NICKEL et al., 2003). Die Gelenkhöhle beinhaltet typischer Weise folgende Einzelteile: der die Gelenkenden überziehende hyaline Gelenkknorpel (Cartilago articularis), die Gelenkbänder (Ligamenta articularia) und die Gelenkschmiere (Synovia). Bei den Ligamenta werden Ligg. extracapsularia, capsularia und intracapsularia unterschieden (NICKEL et al., 2003). Einige synoviale Gelenke besitzen zusätzliche Einrichtungen als Anpassung ihrer Funktion, so zum Beispiel die Menisken, Disci articulares, Fettpolster oder synoviale Umstülpungen in Form von Gelenkkapsel-falten und -zotten (Plicae et villi synoviales) (EVANS, 1993). Die Synovia ist ein Ultrafiltrat des Plasmas und enthält Hyaluronsäure, verschiedene Glykoproteine, Kollagene, lysosomale Enzyme, Immunglobuline, Fibronectin und Lubricin, die von B-Synoviozyten zugesetzt werden. Bestandteile wie Glukose, Elektrolyte, Harnstoff oder

Kreatinin und vor allem Wasser gelangen über fenestrierte Kapillaren aus der Subintima in den Gelenkspalt (GARNERO et al., 2000; HYC et al., 2009; HYC et al., 2011). Die Synovia eines gesunden Gelenks ist klar, fadenziehend, farblos bis leicht gelblich. Die Menge, die Zusammensetzung und die Viskosität der Gelenkschmiere variiert individuell und lokal. Ein gesundes Kniegelenk eines Hundes enthält je nach Größe des Tieres zwischen 0,2 ml und 2 ml (BENNETT, 1990; HULLAND, 1993; EVANS, 1993; NICKEL et al., 2003; HUI et al., 2012).

2.3.3 Anatomische Verhältnisse der Kniegelenkkapsel des Hundes

Die Kniegelenkkapsel ist eine dünne, membranöse Schicht, welche das Kniegelenk umgibt und die Kollateralbänder sowie die Patellarsehne in sich aufnimmt. Beim Hund sind in die Kapsel die von den Ossa sesamoidea musculi gastrocnemii (Vesalii) mit dem Femur gebildeten Gelenke und das mit dem Kniekehlgelenk kommunizierende proximale Tibiofibulargelenk ebenso einbezogen (NICKEL et al., 2003). Die Kniegelenkkapsel des Hundes ist somit sehr geräumig, sodass sie das Kniescheibengelenk (Articulatio femoropatellaris) und das Kniekehlgelenk (Articulatio femorotibialis) vollkommen umschließt. Die Gelenkhöhle wird zentral durch ein unvollständiges Stratum synoviale in zwei Teilhöhlen zerlegt, die ihrerseits durch die Menisken in zwei Etagen getrennt werden (VOLLMERHAUS et al., 1994). Es bestehen somit vier Gelenkhöhlenabteilungen, wobei jeweils die laterale und die mediale sowie die proximale und die distale Abteilung am zentralen, scharfen Meniskusrand miteinander in offener Verbindung stehen (NICKEL et al., 2003). Die Außenränder der Menisken sind am Stratum fibrosum der Kniegelenkkapsel angeheftet (JOHNSTON, 1997; NICKEL et al., 2003). Dies verleiht den Menisken im Kniegelenk neben ihrer allgemeinen Funktion des Ausgleichs der Inkongruenz zwischen den einander gegenüberliegenden Gelenkflächen zusätzlich eine Bedeutung für die Stabilisierung des Gelenks (JOHNSTON, 1997).

2.3.4 Makroskopische Struktur der Gelenkkapsel

Die Gelenkkapsel besteht aus einer äußeren, fibrösen Schicht - dem Stratum fibrosum - und einer Innenschicht - dem Stratum synoviale - welches zellreich und faserarm ist. Die äußere Faserschicht ist je nach ihrer mechanischen Beanspruchung unterschiedlich dick und überzieht - wenn vorhanden - die die Gelenkkapsel verstärkenden Gelenkbänder (DÄMMRICH und BRASS, 1993; EVANS, 1993; NICKEL et al., 2003). So sind im Falle des Kniegelenks des Hundes die Kollateralbänder (Ligg. collateralia) in das Stratum fibrosum der Gelenkkapsel eingelagert (VASSEUR und ARNO CZKY, 1981). Das der Faserschicht innen

anheftende Stratum synoviale ist von grauweißer bis graugelblicher Farbe, wobei gelegentlich eine stärkere Gefäßzeichnung vorkommen kann. Das Stratum synoviale legt sich an manchen Stellen in Falten, die in die Gelenkhöhle ragen und bei Dehnung verstreichen. In Abschnitten stärkerer Beanspruchung, sprich Dehnung bzw. Faltung, ist Fettgewebe als Verschiebepolster in die Innenauskleidung der Gelenkhöhle eingelagert (DÄMMRICH und BRASS, 1993). Auf diese Weise buchtet sich beispielsweise beim Hund und bei der Katze ein infrapatellarer Fettkörper in die Gelenkhöhle vor (VOLLMERHAUS et al., 1994) und kommt proximal der Insertionsstelle der Bursa infrapatellaris an der Innenseite des Ligamentum patellare zu liegen (KÖNIG und LIEBICH, 2009). Das auch als Corpus adiposum infrapatellare bezeichnete Fettpolster ist reichlich mit Blutgefäßen ausgestattet und erfüllt somit eine zusätzliche nutritive Bedeutung für die Gelenkinnenauskleidung. Da der retropatellare Fettkörper ebenso mit einem Stratum synoviale überzogen ist wie die Gelenkkapsel, trägt er einerseits zur Bildung von Synovia bei und enthält andererseits im Vergleich zur Gelenkkapsel die höchste Dichte an mesenchymalen Stammzellen (GUERCIO et al., 2012; ZHANG et al. 2012).

2.3.5 Mikroskopische Natur der Gelenkkapsel

Die besondere Textur der Gelenkkapsel erlaubt an die Bewegung angepasste räumliche Veränderungen zum Zweck der permanenten Stabilitätssicherung des Kniegelenks. Die bewegungsangepasste Geometrie der Kniegelenkkapsel des Menschen konnten PALMER et al. (2013) mit der Software AutoCAD aus MRT- und CT-Bildmaterial darstellen. Da die Gelenkkapsel Kompressionskräften nicht entgegenwirken kann, ist sie in einer neutralen Position straff und schrumpft erst, wenn die Spannungskräfte nachlassen. Diese angepassten Formveränderungen liegen der Bindegewebsnatur der Gelenkkapsel zugrunde. Ein straffes, faserreiches Bindegewebe mit einer Vielzahl an Kollagenfaserbündeln und einigen elastischen Fasern bietet der Gelenkkapsel ihre kompakte Textur mit einem soliden Bewegungsfreiraum.

Wie bereits weiter oben erwähnt finden sich in der Literatur keine profunden Ausführungen über den physiologischen Aufbau der Gelenkkapsel des Hundes. Spezifische Befunde dazu kommen nur in geringem Umfang vor. Nichts desto trotz werden die Verhältnisse jedoch in den Lehrbüchern der Veterinärhistologie, -anatomie und -chirurgie unter dem allgemeinen Aspekt der Gewebestruktur bei den Haussäugetieren zusammengefasst. Im folgenden Abschnitt wird näher auf die Struktur und Funktion der einzelnen Bestandteile der Gelenkkapsel eingegangen und auf vorliegende spezifische Besonderheiten beim Hund hingewiesen.

2.3.5.1 Gewebeschichten

An diesem Punkt weichen die Beschreibungen der Autoren bereits in der Benennung und in der Anzahl der Gewebeschichten auseinander. Nach den aktuellen *Nomina Histologica Veterinaria* (1994) ist die Gelenkkapsel aus zwei Schichten aufgebaut: dem Stratum fibrosum und dem Stratum synoviale. Ein großer Teil der Autoren übermittelt ebenfalls diese Ansicht (JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986; BUCHER und WARTENBERG, 1989; EVANS, 1993; VOLLMERHAUS et al., 1994; NICKEL et al., 2003; PSCHYREMBEL, 2015). Eine andere Beschreibung liefern LIPOWITZ et al. (1985), JOHNSTON (1997) und TODHUNTER und JOHNSTON (2003). Sie beschreiben im Zusammenhang mit einer Studie über Osteoarthritis beim Hund einen dreischichtigen Aufbau der Gelenkkapsel und unterscheiden dabei am Stratum synoviale eine die Gelenkhöhle auskleidende Synovialdeckzellschicht und ein darunterliegendes, an das Stratum fibrosum angrenzendes Stratum subsynoviale. Anzumerken ist aber, dass die Referenzen der Autoren zum Teil aus der Humanmedizin, aus der Labortierkunde oder aus Studien an der Gelenkkapsel des Pferdes stammen. Als zweischichtig benannt, aber als dreischichtig beschrieben, findet sich die Gelenkkapsel in den Abhandlungen von SIGURDSON (1930), NAGAOKA und TSUKISE (2001) und von NAGAOKA et al. (2001, 2003). Genauer auf die innerste Zellschicht der Synovialzellen eingehend, trennen sie diese klar vom eigentlichen Synovium. DÄMMRICH und BRASS (1993) bezeichnen die Gelenkkapsel als zweischichtig, zählen im nächsten Satz aber Stratum fibrosum, Stratum subsynoviale und Stratum synoviale auf und beschreiben im selben Absatz noch zusätzlich ein Stratum subsynoviale fibrosum, ein Stratum subsynoviale adiposum und ein Stratum subsynoviale areolatum. Letztere drei Schichten kommen auch bei VAN SICKLE und KINCAID (1978) und LINDSTRÖM (1963) vor. Im nächsten Abschnitt werden diese vielschichtigen Begriffe und ihre charakteristische Morphologie erläutert.

2.3.5.1.1 Stratum synoviale

Aus dem Lateinischen wörtlich übersetzt bedeutet „Stratum“ eigentlich „Decke“. Der Begriff „Stratum synoviale“ könnte somit als Deckzellschicht der Synovialzellen gedeutet werden, welche die Innenauskleidung der Gelenkhöhle bilden. Einige Autoren unterscheiden auf diese Weise die sogenannte Synovialdeckzellschicht - auch Synovialmembran oder Intima - vom darunterliegenden lockeren Bindegewebe, welches infolgedessen oft als Subsynovium bezeichnet wird (CURTISS, 1964; FREEMAN und WYKE, 1967; HAGEN-TORN, 1882; VON KÖLLIKER, 1889; LOVETT, 1894; BARLAND et al., 1962; GREISEN et al., 1982; LIPOWITZ et al., 1985; DÄMMRICH und LOPPNOW, 1990; DÄMMRICH und BRASS, 1993; EDWARDS, 1994; JOHNSTON, 1997; HAYASHI et al. 1999; IWANAGA et al., 2000;

NAGAOKA und TSUKISE, 2001; NAGAOKA et al., 2003; TODHUNTER und JOHNSTON 2003; MASSOUD et al., 2007). Oft wird die Deckzellschicht auch mit dem ihr unterliegenden Bindegewebe unter der Bezeichnung Stratum synoviale zusammenfassend beschrieben (LANGER und HUTH, 1960; BARGMANN, 1977; JUNQUEIRO und CARNEIRO, 1986; BUCHER und WARTENBERG, 1989; EVANS, 1993; NICKEL et al., 2003). Die Synovialzellen (Synoviozyten) ordnen sich in einer bis zwei (JOHNSTON, 1997; MASSOUD, 2007; BECKOLD, 2009), einer bis vier (TODHUNTER und JOHNSTON, 2003), einer bis mehreren (VOLLMERHAUS et al., 1994) oder auch in drei bis vier (VON KÖLLIKER, 1889; STÖHR, 1928) übereinanderliegenden Zellreihen dicht nebeneinander an. Einerseits wird diese Deckzellschicht oftmals als geschlossene und kontinuierliche Schicht beschrieben, die alle Strukturen innerhalb der Gelenkhöhle von synovialen Gelenken - ausgenommen den Gelenkknorpel - überzieht (LANGER und HUTH, 1960; EVANS, 1993). Sie setzt an den Rändern der Gelenkflächen an und schlägt dann auf das Stratum fibrosum um, welches als Fortsetzung des Periosts den Gelenkspalt überbrückt (DÄMMRICH und BRASS, 1993). Andererseits geben manche Autoren wieder, die Gelenkhöhlenauskleidung sei lückenhaft oder inkomplett und an Stellen geringer Druckbeanspruchung am stärksten ausgebildet (BARGMANN, 1977; BUCHER und WARTENBERG, 1989; TODHUNTER und JOHNSTON, 2003). Ob die Synovialzellen einer Basalmembran aufliegen, wurde ebenfalls kontrovers diskutiert. Den Untersuchungen von LANGER und HUTH (1960) an der Kniegelenkkapsel des Hundes zufolge befindet sich unter den Synovialzellen eine Basalmembran. Da die Synovialmembran nach Verletzung oder chirurgischen Eingriffen eine gute Regenerationsfähigkeit zeigt, nehmen GOODSHIP et al. (1998) das Vorhandensein einer Basalmembran an. Anderer Meinung sind DÄMMRICH und BRASS (1993), EDWARDS (1994) und TODHUNTER und JOHNSTON (2003). Sie weisen ausdrücklich darauf hin, dass es keine Basalmembran unterhalb der Synoviozyten gibt und dies eine erhebliche Voraussetzung für die Permeabilität der Synovialzellschicht sei. Nur so könnte nämlich ein erleichterter Stoffaustausch zwischen der Synovialmembran und der Synovia funktionieren. Dennoch gibt es für den Zusammenhalt des Gefüges besondere Kontakteinrichtungen zwischen den Synovialzellen, die in Form und Größe sehr unterschiedlich sind: Sie reichen von tiefen Verzahnungen benachbarter Zellen bis zum flachen Kontakt schmaler Zellausläufer. Manchmal besitzen die Deckzellen tentakelähnliche zytoplasmatische Fortsätze der Zelloberfläche, die sogenannten Mikrovilli. (LANGER und HUTH, 1960). Die primären Funktionen der Synovialzellen sind die Produktion der Gelenkschmiere, Synovia, und die Entfernung von Zelldebris aus der Synovia. Auf zellulärer Ebene werden nach HAYASHI et al. (1999) und MASSOUD et al. (2007) Fibroblasten beschrieben, die sich zwischen den Synovialzellen der ein- bis zweischichtigen Deckzellschicht der physiologischen Schultergelenkkapsel ordnen. Um sie gesellen sich stets

Kollagenfaserbündel. KURTH et al. (2011) konnten zum ersten Mal mesenchymale Stammzellen im Stratum synoviale und subsynoviale der Kniegelenkkapsel von Mäusen nachweisen. Iododeoxyuridin-positive Zellen konnten über Langzeitbeobachtung im Stratum synoviale identifiziert werden. Sie zeigten ein heterogenes Aussehen und eine geringe Proliferation. Sie konnten als nicht hämatopoetische und nicht endotheliale Stromazellen bestätigt werden und ließen sich gut von Perizyten unterscheiden. Ihr Nachweis erfolgte anhand von mesenchymalen Stammzellen-Markern. Außerdem erfahren sie im Laufe ihres Lebens eine Proliferation und eine chondrogene Differenzierung. ZHANG et al. (2012) stellten anhand von Kulturen von Zellen vom Hund fest, dass der infrapatellare Fettkörper im Vergleich mit der synovialen Deckzellschicht und der Deckzellschicht nahe des Ansatzes des kranialen Kreuzbandes die größte Dichte an mesenchymalen Stammzellen bei gesunden Hunden aufweist. Das chondrogene Potenzial der Synoviozyten nutzten WARNOCK et al. (2011) für die Zellkultur von Synoviozyten aus der Kniegelenkkapsel des Hundes. Im Hinblick auf therapeutische Maßnahmen beim Kreuzbandriss des Hundes, konnten sie feststellen, dass canine Synoviozyten in der Lage sind, extrazelluläre Matrixbestandteile - wie sie in den Menisken zu finden sind - zu synthetisieren. Unter angepassten Bedingungen können sie somit einen höheren Gehalt an Kollagenfasern, insbesondere vom Typ I und II, ebenso wie vermehrt Glykosaminoglykane produzieren.

2.3.5.1.1.1 A-Zellen (M-Zellen)

Es gab mehrere Versuche die prädominierenden Zelltypen der synovialen Deckzellschicht zu klassifizieren und anhand ihrer Funktionen zu unterscheiden (KEY, 1932; BARLAND et al., 1962; EDWARDS und WILLOUGHBY, 1982; EDWARDS, 1987; NAITO et al., 1991; GRAABAEK, 1982; EDWARDS, 1994). Zwei Zelltypen wurden bisher identifiziert: die Makrophagen-ähnlichen A-Zellen und die Fibroblasten-ähnlichen B-Zellen. Beide sind zur Phagozytose befähigt und sind deshalb reich mit Golgi-Komplexen, Mitochondrien, Lysosomen und Ribosomen ausgestattet (LANGER und HUTH, 1960; JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986). Allerdings scheinen die A-Zellen phagozytisch aktiver zu sein und haben deshalb einen prominenteren Golgi-Komplex, viele Vesikel und Vakuolen und weniger raues endoplasmatisches Retikulum (JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986). Ihre resorptive Tätigkeit wurde experimentell durch Injektion von Fremdmaterial in Gelenkhöhlen von Ratten und Mäusen nachgewiesen (LINCK und PORTE, 1980 und 1981; GRAABAEK, 1982). Aufgrund dessen werden sie als Makrophagen-ähnlich angesehen und auch als M-Zellen bezeichnet (JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986; EDWARDS, 1994). Außerdem sind sie funktionell, wie autoradiographische Untersuchungen ergeben haben, zur Abgabe von

Hyaluronsäure in die Synovia befähigt (ROY und GHADIALLY, 1967; BARLAND et al., 1968).

2.3.5.1.1.2 B-Zellen (F-Zellen)

B-Zellen überwiegen in der Synovialmembran und zeichnen sich durch ihre produktive Tätigkeit aus. Sie nehmen in der Synthese von Proteinen, vor allem von Glykoproteinen, für die Synovia die Hauptrolle ein (LINCK und PORTE, 1981). Sie tragen deshalb ein gut entwickeltes raues endoplasmatisches Retikulum in sich und enthalten weniger Vesikel und einen kleinen Golgi-Apparat (EDWARDS, 1982; JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986). Es wird angenommen, dass B-Zellen auch die Produktion von Kollagen im Subsynovium regulieren und somit eine Barrierefunktion im Molekülaustausch zwischen Blutgefäßen und Synovia einnehmen (LINCK und PORTE, 1981). Da sie Fibroblasten ähneln werden sie auch F-Zellen genannt (GRAABAEK, 1982; JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986). Nachgewiesen wurde eine erhöhte Menge an B-Zellen infolge einer traumatischen Arthritis des Menschen (ROY et al., 1966) und in degenerativen Gelenkserkrankungen wie der Hüftgelenkdysplasie beim Hund (GREISEN et al., 1982). Ähnliche Veränderungen wurden bei Kaninchen nach experimenteller Immobilisation der Kniegelenke festgestellt (FINSTERBUSH und FRIEDMANN, 1975). Zur Umwandlung zwischen A- und B-Zellen konnte keine Literatur gefunden werden.

2.3.5.1.1.3 C-Zellen (intermediäre Zellen)

C-Zellen werden von manchen Autoren zusätzlich beschrieben (ROY et al., 1966; WYLLIE et al., 1966; FINSTERBUSH und FRIEDMANN, 1975; GREISEN et al., 1982; KLARESKOG et al., 1982). Sie sind als intermediäre Zellen zwischen dem A-Zelltyp und dem B-Zelltyp zu verstehen und sind durch ihre Pluripotenz charakterisiert. Dadurch können sie sich auch noch in adulten Lebewesen in A- oder B-Zellen umwandeln. Sie verleihen dem Gewebe eine gewisse Anpassungsfähigkeit an verschiedene Umstände.

2.3.5.1.2 Stratum subsynoviale

Das Stratum subsynoviale setzt sich aus lockerem Bindegewebe zusammen und ist zell- und blutgefäßreich (UPDIKE und DIESEM, 1983; KNIGHT und LEVICK, 1983; SHIM und LEUNG, 1986; BUCHER und WARTENBERG, 1989; JOHNSTON, 1997; TODHUNTER und JOHNSTON, 2003). An mechanisch stark beanspruchten Stellen ist das Stratum subsynoviale durch kollagene Faserbündel verstärkt und wird dort als Stratum subsynoviale

fibrosum bezeichnet (DÄMMRICH und BRASS, 1993). Der häufigste Kollagen Typ im Stratum subsynoviale des Menschen ist das Kollagen Typ VI, welches mit geringeren Anteilen der Kollagen Typen I, III und V vergesellschaftet auftritt (GARNERO et al., 2000). Sulfatierte Glykosaminglykane (Chondroitin 4-Sulfat und 6-Sulfat) sowie Strukturglykoproteine wie Fibronectin, Laminin, Entaktin und Tenascin sind ebenfalls in der Subsynovia nachzuweisen (LEVICK et al., 1996). In Abschnitten stärkerer Dehnung und Faltung ist Fettgewebe für eine erhöhte Flexibilität in das Stratum subsynoviale eingelagert und heißt an diesen Bezirken auch Stratum subsynoviale adiposum (DÄMMRICH u. BRASS, 1993). Dort wo die Ultrafiltration der Synovia aus dem Blut stattfindet und ein dichtes Netz von Schlingenkapillaren in einem faserarmen, weitmaschigen Bindegewebsbett eingeflochten ist, liegt das areoläre Stratum subsynoviale oder auch genannt Stratum subsynoviale areolatum vor. Lymphkapillaren formen in diesem Bereich ein ebenso dichtes Netz und sind für die Reabsorption von Gelenkflüssigkeit verantwortlich (DÄMMRICH und BRASS, 1993). Vereinzelt kommen in dieser Schicht auch Nervenendigungen in Form von Vater-Pacini-Körperchen vor (HALATA und GROTH, 1976). Stratum synoviale und Stratum subsynoviale setzen am Übergang des Gelenkknorpels zum Knochen an, bedecken in einem unterschiedlich großen Bezirk den intraartikulär gelegenen Kortikalisabschnitt und schlagen sich auf das Stratum fibrosum um (DÄMMRICH und BRASS, 1993, JOHNSTON, 1997).

2.3.5.1.3 Stratum fibrosum

Die äußerste Schicht der Gelenkkapsel ist das Stratum fibrosum. Sie ist aus straffem kollagenen Bindegewebe aufgebaut und geht am Ende des Knochens kontinuierlich aus dem Periost hervor (JUNQUEIRA und CARNEIRO, 1986; VOLLMERHAUS et al., 1994). Ihre charakteristischen Bestandteile sind die kollagenen und elastischen Fasern, die der Gelenkkapsel ihre besondere Dehnungsfähigkeit zur Anpassung an die Bewegung und gleichzeitig die notwendige Festigkeit zur Sicherung der Stabilität des Gelenks verleihen. In dieser Schicht sind die Fibrozyten die häufigste Zellart. Sie produzieren die Vorstufen der Kollagenfasern. Weiterhin kann das Stratum fibrosum von Verstärkungszügen (Ligamenta capsularia) vor dem Einklemmtwerden geschützt werden. Dazu dienen auch vorbeiziehende Sehnen, die in die Kapsel eingelagert sein können (VOLLMERHAUS et al., 1994). Blutgefäße kommen im Vergleich zum Stratum subsynoviale in geringerer Menge vor. Umso häufiger finden sich in dieser Schicht markhaltige Nervenfasern und Nervenendigungen für die Schmerzrezeption, Mechanorezeption und die Propriozeption (GOODSHIP et al., 1998). Nervenendigungen kommen unter anderem als Ruffini-Körperchen vor (HALATA und GROTH, 1976).

2.3.5.1.4 Synovialzotten und -leisten (Plicae et villi synoviales)

Als oberflächenvergrößernde Fortsätze der Gelenkinnenauskleidung erhöhen Zotten und Falten die Synthese- und Resorptionsleistung. Sie kommen als größere und längere synoviale Falten (Plicae synoviales) und als kleinere sowie kürzere Zotten (Villi synoviales) vor und ragen in die Gelenkhöhle. OGATA und UHTHOFF (1990) untersuchten die Entwicklung von Plicae synoviales an 116 Kniegelenken von humanen Embryonen und Feten. Die Autoren stellten fest, dass in der 10. Woche der Schwangerschaft mehrere kleine Hohlräume um die Patella und die Femurkondylen verschmolzen sind und zum ersten Mal eine einheitliche Gelenkhöhle mit einer synovialen Deckzellschicht besteht. Unmittelbar daran anschließend bilden sich mehrere Plicae synoviales an Lokalisationen mit gehäuften mesenchymalen Bindegewebe. Dieses wird von den Autoren als Progenitor der Plicae synoviales vermutet. Laut DE LANGE-BROKAAR (2014) korreliert der Grad der Synovialitis mit der Anzahl der Villi synoviales. Je ausgeprägter die Synovialitis bei Menschen mit einer Osteoarthritis im Kniegelenk waren, desto mehr Villi synoviales waren bei Patienten vorhanden. TANG et al. (2007) untersuchten an den Articulationes atlantooccipitalis und atlantoaxialis von Kindern und Erwachsenen das Vorkommen, die Menge, die Verteilung, die Form, die Ausdehnung und die Histomorphologie der Plicae synoviales. Je jünger die Probanden waren, umso mehr und umso größere Plicae synoviales waren vorhanden. Sie waren von einer Deckzellschicht aus Synoviozyten gekennzeichnet, welche von Fettgewebe und kollagenfaserreichem Bindegewebe mit Blutgefäßen unterlagert waren. Die Autoren unterscheiden drei verschiedene Typen von Plicae synoviales: den adipösen Typ, den fibroadipösen Typ und den fibrösen Typ.

2.3.5.1.5 Sensible Innervation der Gelenkkapsel

Die sensible Innervation der Kniegelenkkapsel des Hundes erfolgt medial über Äste des Nervus saphenus, lateral über Äste des Nervus fibularis communis und kaudal über Äste des Nervus tibialis. STASZYK und GASSE (2002) konnten neben den Rami articulares des N. saphenus und der Nn. tibialis und fibularis communis noch weitere lange Äste der kniegelenksfernen Nn. femoralis und obturatorius sowie aus dem Periost und aus der anliegenden Muskulatur stammende Nervenfasern zur Innervation der Kniegelenkkapsel nachweisen. Dies bestätigen die Untersuchungen von O'CONNOR und WOODBURY (1982) sowie von DE ROOSTER et al. (2006). Es handelt sich dabei um eine „mehrfache Innervation, individuell variabel, segmental, symmetrisch“ (STASZYK und GASSE, 2002). Sowohl das gesunde als auch das pathologisch veränderte Stratum synoviale enthält Nozizeptoren. Dabei handelt es sich um freie sensorische Nervenendigungen, die eine

Gewebeschädigung beziehungsweise Verletzung infolge thermischer, chemischer oder mechanischer Noxen in Aktionspotentiale umwandelt. Freie Nervenendigungen produzieren pro- und antiinflammatorische Neuropeptide (DIRMEIER et al., 2008; OSSYSSEK et al., 2011; TAKESHITA et al., 2012). Im Stratum fibrosum prädominieren Mechanorezeptoren, so zum Beispiel Vater-Pacini-Körperchen, Ruffini-Körperchen und Golgi-Sehnenorgane (FREEMAN und WYKE, 1967; ZIMNY, 1988; BACKENKÖHLER et al., 1996; KONTTINEN et al., 2006).

Über die nervale Versorgung der Kniegelenkkapsel beschreiben FREEMAN und WYKE (1967) ebenso Mechanorezeptoren im Stratum fibrosum im Speziellen bei der Katze. Anhand von Versilberungen konnten sie an Gefrierschnitten verschiedene Mechanorezeptoren identifizieren. Für die Propriozeption nennen sie die Ruffini-Körperchen und die Golgi-Sehnenorgane, die als runde bis ovoide Corpuscula mit verzweigten Nervenendigungen in Ansammlungen von 3 - 6 Nervenzellkörpern vorzufinden sind. Weiterhin wurden Vater-Pacini-Körperchen, Krause-Endkolben und Meissner-Körperchen für den Tastsinn in der Kniegelenkkapsel der Katze erwähnt. Sie kommen häufiger im kranialen und kaudalen Stratum fibrosum der Gelenkkapsel vor als in ihrem medialen und lateralen Teil und liegen meist unmittelbar um Gefäße. Das Stratum synoviale und subsynoviale sowie der retropatellare Fettkörper sind ihrer Meinung nach vollkommen frei von Mechanorezeptoren. Im oberflächlichen Stratum fibrosum ist ihre Anzahl und Dichte am größten, weiter in Richtung Stratum subsynoviale nimmt ihre Anzahl ab. Bereits GARDNER (1948) schrieb in seinen histologischen Studien über die Hüftgelenkkapsel von humanen Feten und Erwachsenen, dass Bereiche, auf die eine höhere Last ausgeübt wird, eine größere Anzahl und Dichte an Nervenendigungen in der Gelenkkapsel aufweisen. Ähnliche Ergebnisse liefern REIN et al. (2013) mit Studien zur Innervation der Gelenkbänder des Sprunggelenks beim Menschen.

HAGEN-TORN (1882) erwähnt, dass Nervenendigungen beim Hund, bei der Katze und beim Meerschweinchen als netzförmige Verzweigungen in der Gelenkkapsel vorkommen. HALATA und GROTH (1976) konnten sie licht- und elektronenmikroskopisch in der Gelenkkapsel der Katze darstellen und unterscheiden dort zwei Arten von Mechanorezeptoren: die Ruffini-Körperchen im Stratum fibrosum und die Vater-Pacini-Körperchen zwischen Stratum fibrosum und Stratum synoviale. Beim Menschen unterscheiden HALATA et al. (1985) eine dritte Art von Nervenendigungen in der Kniegelenkkapsel und zwar die freien Nervenendigungen. Alle drei Arten von Nervenendigungen finden sich ausschließlich im Stratum fibrosum. Ruffini-Körperchen können in der Kniegelenkkapsel des Menschen in drei Subtypen vorkommen: klein und ohne Kapsel, klein mit einer bindegewebigen Kapsel oder groß mit einem unvollständigen Perineurium. Die Orientierung der Faseranteile des umliegenden Bindegewebes entscheidet

über das Perineurium. Liegen Faseranteile in paralleler Ausrichtung vor, weisen die großen Ruffini-Körperchen ein gut ausgebildetes Perineurium auf, welches bei einem ungeordneten Fasergeflecht fehlt (HALATA et al., 1985). Vater-Pacini-Körperchen liegen im Stratum fibrosum nahe den Insertionsstellen der Gelenkkapsel am medialen Meniskus und am Periost. Kleine Vater-Pacini-Körperchen besitzen eine ein- bis zweischichtige perineurale Kapsel, die beim großen Typus 20- bis 30-schichtig sein kann. Nach MOHR (2013) kommen im Stratum synoviale der Gelenkkapsel myelinisierte und unmyelinisierte, afferente propriozeptive Nervenfasern vor. Die myelinisierten Nervenfasern haben einen Durchmesser von 1 bis 12 μm und weisen eine Leitungsgeschwindigkeit von 2,5 bis 70 m/s auf. Die unmyelinisierten Fasern sind unter einem Mikrometer dick und leiten ein Signal in einer Geschwindigkeit von weniger als 1 m/s fort. In der parapatellaren Kniegelenkkapsel von Ratten, Schafen und Menschen konnten EITNER et al. (2013) unmittelbar an die Deckzellschicht des Stratum synoviale anschließende Nervenfaserbündel und einzelne freie Nervenfasern nachweisen. Diese waren meistens in der Nähe von Gefäßen lokalisiert. Die Nervenfaserbündel bestanden in der Regel aus mehreren nicht myelinisierten und vereinzelt myelinisierten Nervenfasern.

2.3.5.1.6 Vegetative Nervenendigungen in der Gelenkkapsel

Die autonome Innervation regelt sensible Reize, verändert die Immunantwort und stimuliert die Zellproliferation in der Gelenkkapsel sowohl über sympathische als auch über parasympathische Leitungsbahnen. Die Verteilung von Neuropeptiden im Gelenk untersuchten SCHWAB et al. (1997) und stellten fest, dass die Neuropeptide Calcitonin, Neurokinin A, Neuropeptid Y und Substanz P in allen Geweben des Kniegelenks der untersuchten Ratten vorkommen, also im Stratum synoviale, im Stratum fibrosum, in den Blutgefäßen, im Gelenkknorpel und im Knochen. Sie waren einerseits frei im Bindegewebe oder andererseits perivaskulär lokalisiert. Insbesondere um Arterien und Arteriolen waren viele Neuropeptide zu finden. Das Neuropeptid Y penetrierte die Gefäßwand von Arterien. Freie Neurokinin A- und Calcitonin-Nervenfasern dringen bis in die synoviale Deckzellschicht vor, wo sie den freien Gelenkspalt und die äußeren Schichten des Gelenkknorpels erreichten. Neugeborene Ratten wiesen eine geringere Dichte an Neurokinin A- und Calcitonin-Nervenfasern auf als ihre adulten Artgenossen. Eine induzierte Arthritis führte innerhalb von sechs Stunden bei den Tieren zu einem starken Anstieg der Neuropeptide und zu einer erheblichen Vasodilatation (SCHWAB et al., 1997).

2.3.5.1.7 Vaskularisation

Die Angiogenese im Gelenk ist aus histologischer Sicht ein pathognomonischer Befund einer Arthritis (LAINER und BRAHN, 2005; VOLLMER et al., 2009). Ein Marker für die Angiogenese ist eine Isoform des onkofetalen Fibronectins, welches eine zusätzlich eingefügte Domäne B (EC-B) enthält. Diese Isoform wurde in der veränderten extrazellulären Matrix von Patienten mit einer Arthritis nachgewiesen, wo es die neu gebildeten Gefäße umgab. Im Gegensatz dazu waren neu gebildete Gefäße bei Patienten ohne einer Arthritis frei von EC-B (EBBINGHAUS et al., 2004).

Anhand von mikro-computertomografischen Untersuchungen an Mäusen mit Arthritis konnte eine erhöhte Angiogenese in der Gelenkkapsel nachgewiesen werden. Dies äußerte sich in einem geringeren Abstand zwischen den Gefäßen und in einer erhöhten Anzahl an Gefäßsegmenten pro Volumen (GAYETSKYY et al., 2014). Zu ähnlichen Ergebnissen der erhöhten Angiogenese in der Kniegelenkkapsel fanden FITZGERALD et al. (1991) bei Patienten mit rheumatoider Arthritis. EITNER et al. (2013) behaupten das Gegenteil, denn in ihrer Studie an der Gelenkkapsel von Schafen und Ratten mit Arthritis konnten sie eine Abnahme der kapsulären Gefäße mit dem Grad der Synovialitis feststellen.

2.3.6 Synovialitis - Entzündungsreaktion der Gelenkkapsel

Als Synovialitis wird eine akute oder chronische Entzündung des Stratum synoviale bezeichnet, die mit histomorphologischen und inflammatorisch-immunzytologischen Veränderungen einhergeht (KALTWASSER, 2013). Makroskopische Befunde einer Synovialitis sind Neovaskularisation, Hypervillose, Hyperplasie und Fibrinablagerungen (DE LANGE-BROKAAR, 2014). Da der Ausgangsort der Entzündung das Stratum synoviale ist, muss man von einer Synovialitis sprechen. Das häufig verwendete Synonym „Synovitis“ stellt keine korrekte Bezeichnung dar, denn die Synovia kann nicht entzündet sein, sondern spiegelt lediglich die Entzündungsreaktion im Gelenkspalt wider (EICH und ZEIDLER, 1991). Das Zentrum der Pathogenese ist zunächst auf das vaskularisierte Stratum synoviale beschränkt. Minore Traumen, Infektionen, aber auch Reaktionen auf Impfungen und Immunkomplexe sind Stimuli für die Produktion einer Vielzahl von Zytokinen durch die Synovialzellen und Fibroblasten (McINNES und SCHETT, 2007). In der Tat stellt die Deckzellschicht die Hauptquelle verschiedener proinflammatorischer Zytokine dar (BARTOK und FIRESTEIN, 2010). Insbesondere IL-6 spielt hier eine zentrale Rolle. Dieses Zytokin begünstigt die Proliferation und Differenzierung von CD4⁺-T-Zellen und wirkt sich außerdem positiv auf die Osteoklastogenese aus (GABAY, 2006; NIEDERMEIER et al., 2010). Weitere Zytokine, die im Verlauf einer Synovialitis beteiligt sind, sind IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15

und TGF- β . IL-6 und IL-8 sind zentrale Zytokine zur Aufrechterhaltung der Synovialitis, indem sie in ihrer Funktion als Chemokine zur Mobilisierung von neutrophilen Granulozyten und dendritischen Zellen führen. IL-8 wirkt sich außerdem wie „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) positiv auf die Blutgefäßneubildung aus und begünstigt somit das weitere Einwandern von Immunzellen in das bereits entzündete Synovium. Oncostatin M, das durch T-Zellen, Makrophagen und neutrophile Granulozyten ausgeschüttet wird, fördert die Sekretion von CCL13 (NEUMANN et al., 2010), das wiederum die Einwanderung von weiteren Immunzellen wie Monozyten und Lymphozyten in das Stratum synoviale begünstigt (TAKEMURA et al., 2001). Eine weitere wichtige Rolle spielen antiapoptotisch wirkende Zytokine, welche ebenso von den Deckzellen und Fibroblasten des Stratum synoviale im Verlauf einer Synovialitis sezerniert werden. SDF-1 wirkt beispielsweise gegen die Apoptose der eingewanderten T-Zellen (NIEDERMEIER et al., 2010). Proinflammatorische Zytokine stellen somit hochpotente Moleküle dar, die zum einen die Produktion von Proteasen beeinflussen und damit Gelenkzerstörung vorantreiben und zum anderen weitere Immunzellen in das Stratum synoviale rekrutieren und zur Proliferation der Entzündungszellen anregen.

Eine humorale und zelluläre Reaktion wird somit aktiviert, wobei für PANAYI et al. (1992) die Synovialitis mehr ein zellvermittelter Prozess als eine antikörperinduzierte Entzündungsreaktion ist. Im ersten Schritt reagiert die physiologisch hypoplastische Deckzellschicht des Stratum synoviale mit einer Hyperplasie. KAMIMOTO et al. (2003) untersuchte die Proliferationsaktivität von Synoviozyten bei Ratten in situ in einem Adjuvans-Arthritis Modell. Dabei stellte sich heraus, dass sowohl A- als auch B-Synoviozyten zu einem bestimmten Zeitpunkt proliferieren. B-Synoviozyten sind die ersten welche in der synovialen Deckzellschicht eine Proliferationsaktivität zeigen, während die Proliferationsaktivität der A-Synoviozyten erst während des Entzündungsprozesses in der Deckzellschicht ansteigt. Die Autoren vermuten, dass die synoviale Hyperplasie ihren Ursprung in proliferierenden synovialen Deckzellen und/oder einwandernden Stammzellen haben kann.

In der weiteren Folge wandern auch Makrophagen und Fibroblasten in das Stratum synoviale ein (McINNES und SCHETT, 2007; MOHR, 2013). Auch T-Zellen, Antigen-präsentierende dendritische Zelle, Makrophagen und neutrophile Granulozyten infiltrieren das Stratum synoviale. Im weiteren Verlauf ist auch das angrenzende Stratum subsynoviale von einer Hyperplasie betroffen. T-Lymphozyten spielen dabei eine übergeordnete Rolle (MOHR, 2013; LUBBERTS, 2015; PAULISSEN et al., 2015). Zellinfiltrate aus synovialen Fibroblasten (B-Synoviozyten), Makrophagen, Mastzellen, CD4+ T-Lymphozyten, CD8+ T-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), natürliche Killer-T- Lymphozyten, B-

Lymphozyten und Plasmazellen kennzeichnen die Entzündung (McINNES und SCHEFF, 2007).

Bei Hunden mit einer Kreuzbandruptur oder einer Polyarthritits reagiert das Stratum synoviale ebenso mit einer Hyperplasie. So konnte BECKOLD (2009) die Proliferation der synovialen Deckzellen bei diesen Erkrankungen des Hundes nachweisen. Ob die Hyperplasie der synovialen Deckzellschicht darüber hinaus auf eine verminderte oder fehlende Apoptose der Synoviozyten zurückzuführen ist, bleibt fraglich. Beim Hund wurde die Synovialitis im Falle einer Verletzung und einer daraus resultierenden Instabilität und verstärkten Inkongruenz im Gelenk nachgewiesen. Im frühen Stadium der Entzündung besteht eine geringgradige Hyperplasie der Synovialzellen. Dauert der entzündliche Reiz an, kann es im späteren Verlauf der Erkrankung zu einer ausgeprägten Synovialitis mit Übertritt auf den Gelenkknorpel kommen.

Bei der Osteoarthritis sind im Umkehrschluss abgeschilferte Knorpelteile die Ursache für diese Entzündungsreaktion, da Knorpelmaterial als Fremdmaterial in der Gelenkhöhle eine Entzündung ihrer Innenauskleidung induziert (GOLDENBERG et al., 1981; JOHNSTON, 1997; SPRENG und SCHAWALDER, 1997). In weiterer Folge einer länger andauernden Irritation reagieren auch die Zotten und Villi der Gelenkkapsel mit einer Hyperplasie und es kommt zu einer Verdickung der Gelenkkapsel, an der die darunter gelegenen Kapillaren beteiligt sind. Ihre Permeabilität ist durch die Entzündung erhöht und sie verursachen einerseits ein Ödem der Gelenkkapsel und andererseits einen vermehrten Eintritt von Entzündungszellen. Dauert die Inflammation über mehrere Wochen an, so kann es mit dem Fortschreiten der exsudativen Entzündungsreaktion zu einer diffusen, perivaskulären Fibrosierung der Gelenkkapsel kommen, die von einer massiven Infiltration von Entzündungszellen begleitet wird (ARNOLDI et al., 1980; LIPOWITZ et al., 1985). Als Zeichen der Entzündung ändert sich auch die Beschaffenheit der Synovia. Sie ändert ihre physiologische Qualität durch den gestörten Syntheseprozess der Synoviozyten und Kapillaren. In der Diagnostik der Orthopädie ist deshalb die Punktion eines oder mehrerer entzündeter Gelenke für die Untersuchung der Synovia auf Abweichungen in Viskosität, Trübung, Farbe, Zellzahl, spezifischem Gewicht und Proteingehalt sinnvoll. Weiterhin erfahren bildgebende Verfahren für die Diagnostik und Versorgung von Arthritiden zunehmende Bedeutung. In der Humanmedizin gilt diese dreidimensionale Darstellungsmethode von arthritischen Gelenken mittels Magnetresonanztomographie als Goldstandard zur Beurteilung des Schweregrades der Synovialitis (McQUEEN und OSTERGAARD, 2007; VOLLMER et al. 2009; GOTTHARDT et al., 2010; OSTENDORF et al., 2010; VAN DER HEIJDEN et al., 2012; VASANTH et al., 2013; WANG und REGATTE, 2015).

2.4 KOLLAGEN

2.4.1 Allgemeines

Kollagen ist ein Strukturprotein, das am Gesamtprotein des Körpers von Mensch und Tier mit einem Anteil von einem Drittel das reichlichste vorhandene Protein ist (TRAUB und PIEZ, 1971; KADLER, 1994; KIELTY und GRANT, 2003; RICARD-BLUM et al., 2011). Es liefert die Hauptmasse der geformten Interzellulärschubstanz verschiedener Bindegewebsarten und kommt in den meisten Stützgewebearten vor (BARGMANN, 1977). Kollagene sind aus diesem Grund für die strukturelle Integrität der Wirbeltiere und weiterer vielzelliger Organismen verantwortlich (BROWN und TIMPL, 1995; KADLER, 1994; RICARD-BLUM et al., 2000; MYLLYHARJU und KIVIRIKKO, 2001). Daraus ergibt sich, dass viele Erkrankungen mit Veränderungen in der Synthese und im Abbau der Kollagenmoleküle einhergehen. Das Verständnis der Synthese, der Verteilung und des Abbaus des Kollagens stellt daher eine unentbehrliche Wissensgrundlage in der Veterinärmedizin dar.

Die Erforschung des Kollagenmetabolismus erlebte ab den 1970er Jahren einen großen Fortschritt mit zahlreichen Untersuchungen sowohl beim Menschen als auch beim Tier (TANZER, 1973; NIMNI, 1975; OLSEN und PROCKOP, 1974; SHOSHAN und GROSS, 1974; PINNELL, 1975; UITTO u. PROCKOP, 1975; UITTO und LICHTENSTEIN, 1976; GAY und MILLER, 1978; GAY und MILLER, 1983). Die Veterinärmedizin spielte vor allem bei den ersten Schritten zu den Erkenntnissen über das Kollagen eine Schlüsselrolle. So lieferte zum Beispiel die Entdeckung der Kollagenose der Dermatoparaxis beim Rind in Texas und in Belgien das Vorwissen über die intrazelluläre Vorstufe des Kollagens, nämlich das sogenannte Prokollagen (HANSET und ANSAY, 1967; ANSAY et al., 1968; O'HARA et al., 1970; LENAERS et al., 1971). Neue Impulse für die Fortsetzung der Forschung über die Kollagene waren die insbesondere beim Menschen immer zahlreicher und vielfältiger vorkommenden Bindegewebsstörungen, bei denen man ebenfalls einen Gendefekt vermutete. In vielen Fällen wurde man auf erbliche Kollagen-Gendefekte aufmerksam, in anderen auf erworbene Störungen des Kollagenmetabolismus (RICARD-BLUM, 2011). Die Kenntnisse über die Struktur, Synthese, Sekretion, Verteilung im Körper und über den Abbau der verschiedenen Typen der Kollagenfamilie werden in den folgenden Unterkapiteln beschrieben.

2.4.2 Kollagene - Bestandteile der extrazellulären Matrix

Die Extrazelluläre Matrix (EZM), auch Grundsubstanz genannt, setzt sich aus verschiedenen geformten Fasern, sowie einer Reihe ungeformter Proteine zusammen. Dazu gehören funktionell assoziierte Makromoleküle als auch zelluläre Bestandteile (McDONALD, 1988). Die EZM besitzt eine organspezifische, räumliche Struktur und ist an der Informationsvermittlung innerhalb eines Organs beteiligt. Außer ihrem organspezifischen Aufbau ist die EZM zusätzlich innerhalb eines Organs regional unterschiedlich aufgebaut (SHEKHTER, 1986; AUMAILLEY und GAYRAUD, 1998). Die Funktionen der EZM sind vielfältig, lassen sich aber grob in drei Bereiche gliedern: Primär erfüllt die EZM eine mechanische Funktion und ist als Stützgewebe gleichzeitig Filter- und Diffusionsbarriere im Stoffaustausch. Eine weitere grundlegende Rolle spielt die EZM als Leitungssystem in Bezug auf verschiedene Zellfunktionen und -eigenschaften, wie zum Beispiel die Proliferation, Migration, Adhäsion und Polarität der Zellen. Außerdem dient die EZM der Speicherung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren (ORTEGA und WERB, 2002; COMOGLIO und TRUSOLINO, 2005). Während über die physiologischen Funktionen der EZM mittlerweile relativ viel bekannt ist, stehen die Untersuchungen der Zell-assoziierten Mechanismen, sowie die Organisation der kleinsten Bausteine in einem präzisen Netzwerk von Filamenten und Mikrofilamenten noch weitgehend am Anfang.

Die EZM der Gelenkkapsel besteht aus straffem, ungeformtem und lockerem Bindegewebe, welches vor allem aus Kollagenen und Proteoglykanen aufgebaut ist (MOHR, 2010; SCHÜNKE, 2014). Im Folgenden soll auf die für diese Arbeit relevante Klasse der Kollagene näher eingegangen werden.

2.4.3 Makrostruktur des kollagenen Netzwerks

Kollagenfasern sind im Tierreich meistens als längliche, schmale, zylinderförmige Strukturen verbreitet und stellen wesentliche Bestandteile der Haut, des Knochens und des Knorpels, sowie der Sehnen, Bänder und der Kornea dar. Dort bestimmen sie die wesentliche Eigenschaft der Zugbelastbarkeit des Gewebes und ermöglichen dem Organismus eine maßgeschneiderte Antwort auf biomechanische und strukturelle Reize (WESS, 2008). Makroskopisch kann man kollagene Fasern in Sehnen und Bändern sehen, wo sie sich umeinander drehen und als dicht gepackte Bündel deren Oberflächen weißlich bis silbrig schimmern lassen (VAN DEN BERG, 2003). Kollagenfasern lassen sich in zarte, glattkonturierte und unverzweigte Fibrillen aufgliedern, die mit einem Durchmesser von 0,2 - 0,5 μm für das freie Auge gerade noch sichtbar sind (BARGMANN, 1977). Die Länge der

unterschiedlichen Kollagenfaser-Typen ist differenziert, genauso wie sie verschiedene elastische und viskoelastische Eigenschaften haben (GRANT et al., 2012; KALSON et al., 2013).

2.4.4 Mikrostruktur des Kollagenmoleküls

Viele charakteristische Eigenschaften einer Kollagenfaser sind auf ihren strukturellen Aufbau zurückzuführen. Kollagene sind trimere Moleküle (ENGEL und BÄCHINGER, 2005; RICARD-BLUM et al., 2005). Das bedeutet, dass ein Kollagenmolekül aus drei Untereinheiten, den Monomeren, besteht. Das sind Aminosäureketten, Polypeptid- α -Ketten, mit rund 1000 Aminosäuren (BARGMANN, 1977). α steht für die Sekundärstruktur der Kollagenproteine, also die räumliche Lage der einzelnen Aminosäureketten. Im Kollagenmolekül sind diese drei Polypeptidketten als α -Helix schraubenförmig um ihre eigene Achse gewunden, und zwar - für Proteine untypischerweise - in linksgängiger Drehung. Im Gegensatz zu dieser helikalen Struktur stehen andere Proteinkonformationen, wie das β -Faltblatt oder die β -Schleifen (HORN et al., 2009). Jede α -Kette eines Kollagens ist ein einzigartiges Transkript eines Gens, welches für eine unikate Aminosäuresequenz codiert, die Primärstruktur eines Kollagens (BARROW et al., 1974; BORNSTEIN, 1974; FIETZEK und KÜHN, 1976; MILLER, 1976; FESSLER und FESSLER, 1978; HORN et al., 2009). Nichts desto trotz gibt es in der Vielfalt der Kollagene zahlreiche Ähnlichkeiten in ihren Proteinketten. So wiederholt sich in deren Primärstruktur häufig das Aminosäuren-Triplet mit der Formel (Gly-X-Y)_n. Im Kollagen des Bindegewebes belaufen sich die Wiederholungen eines gleichen Triplets auf ungefähr 334, während n, die Zahl der Wiederholungen, in der Basalmembran bei circa 490 liegt (MINOR, 1980). Biochemisch besteht das Kollagenmolekül circa zu einem Drittel aus Glycin, woraus sich ergibt, dass jede dritte Aminosäure ein Glycinmolekül ist. An den Positionen X und Y stehen meistens Prolin und Hydroxyprolin (MINOR, 1980; RICARD-BLUM et al., 2005; ENGEL und BÄCHINGER, 2005). Prolin enthält einen starren Pyrrolidin-Ring und fungiert damit als „Ecke“ in der Polypeptid- α -Helix. Dies ermöglicht die Ausbildung von Windungen in der Helix (ENGEL und BÄCHINGER, 2005; HORN et al., 2009). Lagern sich drei dieser Polypeptid- α -Ketten zusammen, spricht man von der sogenannten Tertiärstruktur des Kollagenproteins, gemeint ist damit die dreidimensionale Struktur des Proteins durch die Verwindungen der Sekundärstruktur. Durch 4-Hydroxyprolin werden diese dichten Wicklungen über vier Wasserstoffbrücken zwischen den drei linksgängigen Polypeptidketten stabilisiert und es entsteht schlussendlich die Quartärstruktur des Kollagenmoleküls, die rechtsgängige Tripelhelix (FONROBERT, 2003). Dass Kollagenfasern Gewichte bis zum Zehntausendfachen ihres Eigengewichts tragen können, ist nicht zuletzt durch die Zusammensetzung ihrer kleinsten Bestandteile, der Aminosäuren –

gegeben. Sie ermöglichen durch physikalische und chemische Eigenschaften sehr enge Raumbedingungen bis in die kleinsten Bestandteile einer Kollagenfaser und bewirken somit die charakteristische, enorme Zugbelastbarkeit kollagenen Bindegewebes. Nach PROCKOP und TUDERMAN (1982) hält eine einzige Kollagenfaser mit einem Durchmesser von einem Millimeter eine Zugbelastung zwischen 10 und 40 Kilogramm aus. LEONHARDT (1990) drückt es anders aus: Eine Kollagenfaser kann einem Zug von 6 kg/mm^2 Querschnitt standhalten.

2.4.5 Biosynthese einer Kollagenfaser

Die zuvor genannte Struktur der Tripelhelix ist das Tropokollagen als kleinstes Strukturelement einer Kollagenfaser. Es ist allen Kollagenen gemeinsam und stellt für die Gruppe der fibrillären Kollagene das Grundgerüst dar, während es für Kollagene anderer Gruppen zumindest ein immer wiederkehrendes Motiv widerspiegelt (HORN et al., 2009). Wie jedes Protein, wird auch Kollagen in der DNA des Zellkerns kodiert und intrazellulär synthetisiert. Die Zellen, in denen die Vorstufen des Tropokollagens hergestellt werden, sind vorwiegend die Fibroblasten (LEONHARDT, 1990; HORN et al., 2009; HULMES, 2008). Die endgültige Fertigstellung des Kollagens erfolgt allerdings außerhalb des Fibroblasten, weshalb sich an dieser Stelle noch ein extrazellulärer Weg der Biosynthese anschließt, die sogenannte Fibrillogenese. Im Folgenden werden die komplexen Prozesse der Kollagensynthese an den verschiedenen intra- und extrazellulären Stationen nach KNESE (2013) und HEINE und PISCHINGER (2014) erläutert.

2.4.5.1 Intrazelluläre Transkription und Translation des Prokollagens

Die Information für eine Aminosäuresequenz liegt im kodierenden Gen im Zellkern und wird zunächst transkribiert. Daraus entsteht die mRNA. Diese lagert sich im nächsten Schritt an die Ribosomen des rauen Endoplasmatischen Retikulums (ER) im Zytosol an, worauf sogleich mit der Translation einer Peptidkette begonnen wird. Aus der Translation geht die erste Kollagenvorstufe hervor, nämlich das so genannte **Präprokollagen**. Dieses unterscheidet sich vom darauffolgenden Produkt des Prokollagens in der Weise, dass es an einem Ende seiner Aminosäurekette ein Signalpeptid enthält, mit dessen Hilfe es sich mitsamt dem Ribosom, in dem es entstanden ist, an das raue ER andocken kann. Dort wird das Signalpeptid abgespalten und es beginnt die Hydroxylierung, bei der viele Proline zu Hydroxyprolinen umgewandelt werden. Das Enzym, welches diese Arbeit leistet, ist die Hydroxylase, und sie benötigt einige Cofaktoren, wie Sauerstoff, Eisen, α -Ketoglutarat und vor allem Vitamin C (Ascorbinsäure). Wie bereits weiter oben angedeutet, sind diese

Hydroxylierungen für die Stabilität des Kollagenmoleküls von großer Bedeutung. Die eingebauten Wasserstoffbrückenbindungen ermöglichen als aktive Gruppen, dass die drei Einzelhelices dazu in der Lage sind, sich zu einem Dreier-Komplex zu verdrillen. Werden Prolin und andere Aminosäuren nicht hydroxyliert, wie es beispielsweise bei der Vitamin-C-Mangelkrankheit Skorbut der Fall ist, kann es nicht zur Bildung einer tripelhelikalen Struktur des Kollagenmoleküls kommen. Dies resultiert bei der Mangelerkrankung Skorbut in einer Bindegewebsschwäche mit vermindertem oder fehlendem Gehalt von Hydroxyprolin und Hydroxylysin im Kollagen (DEUTZMANN und BRUCKNER, 2014).

Aus diesem Vorgang der Hydroxylierung resultiert das **Prokollagen**, das in weiteren Vorgängen auf die Sekretion aus der Zelle vorbereitet wird. Zu diesem Zweck werden an das Prokollagen durch die Glykosylierung Zuckermoleküle angelagert, was teils noch im rauen ER als auch im Golgi-Apparat passiert (MINOR, 1980; HORN et al., 2009). Eine Besonderheit der wachsenden Peptidkette sind die an ihren Enden hinzugekommenen Telo- oder Registerpeptide, genauer ausgedrückt jeweils ein C- und ein N-terminales Propeptid. Anhand dieser ebnet sich der Weg zur Verbindung dreier Prokollagen-Moleküle zu einer weiteren Tripelhelix und wiederum entsteht eine Verdrillung mehr und die Dichtezunahme in den Kollagenvorstufen. Diesmal sind Disulfidbrücken zwischen den Registerpeptiden für die Verbindung verantwortlich. Anschließend werden die verdichteten Prokollagen-Moleküle in Vesikel verpackt (WEINSTOCK und LEBLOND, 1974). Schließlich werden diese Vesikel an die Zellmembran transportiert, wo sie exozytiert werden (WEINSTOCK und LEBLOND, 1974).

2.4.5.2 Extrazelluläre Modifikationen des Prokollagens

Außerhalb der Fibroblasten erhalten die Kollagene eine ihrer wichtigsten Eigenschaften: ihre Unlöslichkeit. Die löslichen Prokollagene sind aufgrund ihrer Telo- und N-terminalen Propeptide, in physiologischer Kochsalzlösung löslich und würden im Extrazellulärraum noch vor der Fibrillogenese zugrundegehen, wenn nicht spezifische Enzyme ihre Propeptide abspalten würden (BORNSTEIN, 1974; FIETZEK und KÜHN, 1976; MILLER et al., 1976; RAMACHANDRAN und REDDI, 1976; UITTO und LICHTENSTEIN, 1976; FESSLER und FESSLER, 1978). So entsteht das **Tropokollagen**, die kleinste extrazelluläre Vorstufe einer Kollagenfaser. Ein Defekt der Prokollagen-N-Peptidase führt demzufolge zur Dermatoparaxis, einer Erkrankung, bei der die Ausbildung von Kollagenfasern unterbunden wird (LENAERS et al., 1971; KOHN et al., 1974).

2.4.5.3 Fibrillogenese

Die Fibrillogenese ist der Prozess, bei dem sich die zuvor exozytierten Tropokollagen-Moleküle in mehreren Schritten zu einer Kollagenfaser zusammenlagern. Dabei verbinden sich die Tropokollagene durch Desaminierung von Lysinresten zuerst mit ihren jeweiligen Enden zu einer Kette, einem **Filament**, wobei sie sich an der Stelle des Kontakts um einheitliche 300 nm überlagern. Genau diese Superposition verleiht den Kollagenfasern eine weitere charakteristische Eigenschaft: ihre Querstreifung, die im Elektronenmikroskop eine deutliche Hervorhebung der Kollagenfasern vom umliegenden Gewebe ersichtlich macht. Durch elektrostatische Anziehungskräfte der Tropokollagene sowie durch quervernetzende, kovalente Bindungen entsteht schließlich die Verkettung der Moleküle zum Fibrillenverband (PETRIDES, 1997). Eine Mikrofibrille hat dem Autor zufolge einen Durchmesser von 15 - 25 nm. Altersbedingt kann es jedoch zu einer Vergrößerung des Fibrillendurchmessers kommen (PETRIDES, 1997). In einem weiteren Schritt reihen sich mehrere Filamente durch kovalente Quervernetzungen zu **Protofilamenten** seitlich und diese wiederum fügen sich weiter zu **Kollagenfibrillen** zusammen. Über intermolekulare Crosslinks werden die Kollagenfibrillen stabilisiert (OTTE et al., 2000). Schlussendlich werden mehrere Kollagenfibrillen als Faserbündel in der **Kollagenfaser** zusammengefasst (HORN et al., 2009). Die Aneinanderreihung erfolgt dabei stets regelmäßig und periodisch (PATTERSON und MINOR, 1977).

2.4.6 Kollagentypen

Über die genaue Anzahl der verschiedenen Kollagen Typen wird in der Literatur sehr kontrovers diskutiert. Laut LÖFFLER (2014) gibt es 40 verschiedene Kollagenketten, welche insgesamt 27 unterschiedliche primäre Kollagenmoleküle bilden können. Eine vollständig geklärte Aminosäuresequenz aller bisher beschriebenen Kollagene bleibt ausständig. Die einzelnen Kollagen Typen unterscheiden sich in der Länge der tripelhelikalen Abschnitte, kurzen Unterbrechungen in der Tripelhelix und in dem zusätzlichen Einbau von globulären Bestandteilen, was insgesamt die biologischen Eigenschaften und die Funktionen der Kollagene unterschiedlich gestaltet. Das Markenzeichen aller Kollagene, das sie von den übrigen Proteinen unterscheidet, ist das Vorkommen mindestens einer Tripelhelix aus drei Polypeptid- α -Ketten, welche eine oder mehrere Regionen mit dem sich wiederholenden, charakteristischen Aminosäuremotiv (Gly-X-Y) enthalten, wobei X und Y beliebige Aminosäuren sein können (STRYER, 1995; PETRIDES, 1997; HULMES, 2008). Doch die Anwesenheit der erwähnten tripelhelikalen Struktur ist mehr eine notwendige als eine ausreichende Struktur, um ein Protein in die Familie der Kollagene einzuschließen. Manche

Proteine enthalten nämlich das typische Motiv der Tripelhelix, werden aber nicht als Kollagene bezeichnet. Dies erklärt sich dadurch, dass ihre biologische Funktion für die Zuordnung wichtiger ist als die biochemische Struktur (HULMES, 2008). Auch die Abgrenzung zwischen Kollagenen und Kollagen-ähnlichen Proteinen ist mehr unscharf als auf klaren Kriterien beruhend. Bis heute gibt es keine Kriterien, welche die Definition eines Kollagens eindeutig vorgeben (HULMES, 2008). Im Folgenden wird auf die Gruppen der Kollagen-Superfamilie eingegangen, welche eine tripelhelikale Struktur aufweisen.

2.4.6.1 Die Einteilung der Kollagene

Nach LEONHARDT (1990), STRYER (1995) und PETRIDES (1997) bestimmt die Aminosäuresequenz den Typ des Kollagens. Im Unterschied dazu ordnen MILLER und GAY (1986) die Kollagene aufgrund ihres Molekulargewichtes und der Länge ihrer Tripelhelix drei Gruppen zu. BURGESSON und NIMNI (1992) teilen die Kollagene hingegen je nach Art der Ausbildung von Fasergeflechten ein. Demnach gibt es vier Gruppen: Die erste Gruppe bildet sich aus Faserkollagenen, die im Elektronenmikroskop gebündelt sichtbar sind. Zur zweiten Gruppe gehören Kollagene, welche intermolekulare Bindungen zu anderen Kollagenen aufbauen, während zur dritten Gruppe unabhängige Fasernetzkollagene gehören. Die vierte Gruppe bildet sich aus Kollagenen, deren Mechanismus zur Fasergeflechtbildung noch nicht geklärt ist (BURGESON und NIMNI; 1992).

In der Einteilung von MILLER und GAY (1986) ist die Gruppe I die Hauptgruppe und beinhaltet fibrillen- und faserbildende Kollagene der Wirbeltiere. Sie besitzen eine ununterbrochene Tripelhelix, deren Molekulargewicht höher als 95.000 Dalton ist. Zu dieser Gruppe gehören die Kollagen Typen I, II, III, V und XI. Die Gruppe II wird aus den Kollagen Typen IV, VI, VII und VIII gebildet, deren Molekulargewicht ebenfalls 95.000 Dalton übersteigt, welche aber im Unterschied zu Gruppe I helikale und nichthelikale Bereiche aufweisen. Zu Gruppe III gehören Kollagene mit einem Molekulargewicht unter 95.000 Dalton, wie beispielsweise die Kollagene IX und X.

Nach HULMES (2008) können die Kollagene zwar in zahlreiche Subfamilien unterteilt werden. Da jedoch die fibrillären Kollagene im Organismus von Mensch und Tier den größten Teil ausmachen, ist eine Abgrenzung dieser von den nicht-fibrillären Kollagenen sinnvoll.

2.4.6.2 Fibrilläre Kollagene

Aus biochemischer Sicht sind die fibrillären Proteine im Reich der Vertebraten von größter Bedeutung (KADLER, 1994; HULMES, 2002). Diese Proteine weisen eine - wie weiter oben beschrieben - klassische Struktur der Kollagene als Faser aus einzelnen Fibrillen auf, die durchgehend ist. Zahlreiche elektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigen die Existenz einer regelmäßigen submikroskopischen Struktur der Kollagenfibrillen (BARGMANN, 1977; HULMES, 2002; HULMES, 2008). Die wiederholte Sequenz (Gly-X-Y)_n über eine längere Strecke zentral in jeder α -Kette ist das typische Merkmal klassischer fibrillärer Kollagene, wobei n, die Zahl der Wiederholungen, vom Kollagen Typ abhängig ist und zwischen 337 und 343 liegt (HULMES, 2008). Das charakteristische Merkmal einer Mikrofibrille sind die deutlich Querstreifung mit einer Periodizität D von 64 - 67 nm, der die versetzte Anordnung und damit Überschneidung der einzelnen Tropokollagenmoleküle für die kurze Strecke von 300 μ m zugrunde liegt (PARRY und CRAIG, 1984; PETRIDES, 1997; HULMES 2002). Innerhalb einer stabförmigen Fibrille, sind die einzelnen Kollagenmoleküle auf einer Länge von 300 nm und einer Breite von 1,5 nm nacheinander und nebeneinander gestaffelt (STRYER, 1995; PETRIDES, 1997; HULMES 2008). Wie alle Kollagene, bestehen auch Kollagenmoleküle der fibrillären Kollagene aus drei Polypeptid- α -Ketten. Die drei Monomere können homotrimer oder heterotrimer sein, je nachdem, ob die drei α -Ketten identisch sind, wie es bei den Kollagen Typen II und III der Fall ist, oder ob sie unterschiedliche Genprodukte darstellen. Im Folgenden werden die wichtigsten Kollagentypen kurz erläutert.

2.4.6.2.1 Kollagen Typ I, II, III, V und XI

Die klassischen Vertreter der fibrillären Kollagene sind die Kollagen Typen I, II und III. Sie bilden den Hauptanteil der interstitiellen Kollagene und ordnen sich im Netzwerk der Grundsubstanz nach der typischen Fibrillenlagerung parallel zueinander an (EYRE et al., 1991; PETRIDES, 1997). Typ I ist das am meisten verbreitete Kollagen im Körper (90%), welches in der Haut, in Sehnen und Bändern, im Knochen, in der Kornea, in der Lunge und in den Gefäßen vorkommt (MILLER, 1973; LEONHARDT, 1990; STRYER, 1995; PETRIDES, 1997; HULMES, 2008); Typ II wird in Chondroblasten synthetisiert und hat daher ein spezifischeres Verteilungsmuster. Es ist nämlich auf das Vorkommen im Knorpelgewebe beschränkt. Typ III wird in embryonalen Fibroblasten und Zellen des Retikuloendothelialen Systems (RES) gebildet und ist vor allem im elastischen Bindegewebe zu finden, wie zum Beispiel in der embryonalen Haut, in der Lunge und in den Gefäßen (MILLER, 1973; MAYNE und IRWIN, 1986; LEONHARDT, 1990; TODHUNTER et al., 1996;

STRYER, 1995; PETRIDES, 1997); Typ V ist ein relativ selteneres Kollagen und findet sich oft mit Kollagen Typ I vergesellschaftet und so vor allem in großer Menge in der Kornea; Typ XI kommt im Knorpelgewebe mit Kollagen Typ II vor (EYRE et al., 1991; PETRIDES, 1997; HULMES, 2008). Außerdem findet es sich in Bandscheiben, Menisken und Disci (VAN DEN BERG, 2003).

2.4.6.2.2 Kollagen Typ XXIV und XXVII

Die Kollagen Typen XXIV und XXVII stellen Sonderformen der fibrillären Kollagene dar. Das Vorkommen der Kollagen Typen XXIV und XXVII wird mit dem der Kollagen Typen I und II assoziiert (HULMES, 2008). Was sie von den klassischen fibrillären Kollagenen unterscheidet, ist ihre (Gly-X-Y)_n-Region, die mit nur circa 329 Triplets relativ kurz und einmal (Kollagen Typ XXIV) oder zweimal (Kollagen Typ XXVII) unterbrochen ist und mit anderen Aminosäuren besetzt wird (HULMES, 2008). An Kollagen Typ XXVII wurde außerdem die Fähigkeit entdeckt, nicht quergestreifte Filamente auszubilden (PLUMB et al., 2007).

2.4.6.3 Nicht-fibrilläre Kollagene

Nicht-fibrilläre Kollagene weisen die tripelhelikale Struktur nur in bestimmten Molekülanteilen auf. Sie besitzen globuläre Domänen, wodurch sich ihre Gesamtstruktur erheblich von der fibrillären Kollagene unterscheidet (VAN DER REST und GARRONE, 1991; LÖFFLER, 1997).

Nicht-fibrilläre Kollagene kommen insgesamt in geringerer Menge vor und bilden Bestandteile spezifischer Gewebe zum Beispiel der Basalmembran (Kollagen Typ IV) oder sind für Wechselwirkungen mit anderen Kollagenen oder Matrixproteinen verantwortlich (Kollagen Typ VI) (GREVE, 2002).

2.4.6.3.1 Kollagen IV, VI, VII, VIII, X und XIII

Das nicht-fibrilläre Kollagen, über das man bisher am meisten weiß, ist das **Kollagen Typ IV** oder auch Basalmembran-Kollagen genannt (HUDSON et al., 2004). In der Tat wird sein Vorkommen immer in Verbindung mit einer Basalmembran festgestellt. Eine Basalmembran ist eine spezialisierte Struktur, die sich an den Rändern von Geweben findet, wo sie einem Epithel, Endothel, Fettgewebe, Muskelgewebe oder Nervenzellen unterliegt. Im Elektronenmikroskop ist sie als feine Struktur zu erkennen, die aus Kollagen Typ I, Laminin,

Heparinsulfat, Proteoglykanen und Nidogen besteht (HULMES, 2008). Die Moleküle des Kollagen Typ IV sind länger als die von fibrillären Kollagenen und weisen mehrere Unterbrechungen der Aminosäuresequenz (Gly-X-Y) auf. Das Besondere an der Molekularstruktur des Kollagen Typ IV ist, dass sein C-terminales Registerpeptid bei der posttranslationalen Prozessierung nicht abgespalten wird. Aufgrund dessen besitzt Kollagen Typ IV an einem Ende eine sogenannte C4-Domäne und diese veranlasst die einzelnen Kollagenmoleküle sich in einer End-zu-End-Anlagerung zu verbinden, anders als die übrigen Kollagene in einer Seit-zu-Seit- oder parallelen Anordnung (HULMES, 2008).

Kollagen Typ VI repräsentiert einen wichtigen Bestandteil des lockeren Bindegewebes. Dort spielt es vermutlich eine zentrale Rolle für die Verbindung von Zellen mit Matrixbestandteilen, wie es in Zellkulturen von humanen Fibroblasten der Haut, Fibroblasten von Mäusen und Ratten sowie Melanomzellen der Maus untersucht wurde (AUMAILLEY et al., 1989; BONALDO und COLOMBATTI, 1989). Dies beruht auf seiner unter den restlichen Kollagen Typen einzigartigen Struktur: Kollagen Typ VI besteht aus drei heterotrimeren Polypeptid-Monomeren, die sehr breite Filamente ausbilden (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Kollagen Typ VI enthält im Vergleich zu anderen Kollagen Typen sehr kurze helikale Regionen (105 nm) und an jedem Ende lange N- und C-terminale globuläre Domänen (MILLER und GAY, 1986; KIELTY et al., 1990;). Im extrazellulären Raum nimmt dieser Kollagen Typ gern Verbindungen mit dem Kollagen Typ I auf und seine Aminosäureketten formen mikrofibrilläre Netzwerke, die über Disulfidbrücken stabilisiert werden (KIELTY et al., 1990; VAN DEN BERG, 2003). Die Ultrastruktur der Netzwerke aus Kollagen Typ VI sind meist mit der Basalmembran oder übergeordneten fibrillären Kollagenen assoziiert (BRUNS et al., 1986; KEENE et al., 1988). Diese Verbindungen führten zu der Annahme, dass die primäre Funktion des Kollagen Typ VI die Verankerung von Zellen in der Grundstruktur der extrazellulären Matrix sei. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von HAGIWARA et al. (1993) ist das radiäre, dreidimensionale Netzwerk, das zur Stabilisierung der Matrix beiträgt, von Seiten des Kollagen Typ VI aus bis zu 20 Kollagen Typ VI-Filamenten konstruiert, die sich mit ihren globulären Domänen in Fibronectin-Plaques verankern. Die breit gebänderten Faserflächen des Kollagen Typ VI wurden in verschiedenen gesunden Geweben gefunden, so zum Beispiel in Bandscheiben (CORNAH et al., 1970; WU et al., 1987), im Stratum synoviale (LEVICK und McDONALD, 1990), in der Iris und dem Ziliarkörper (RITTIG et al., 1990), sowie in Zellkulturen von Fibroblasten (BRUNS, 1984, BRUNS et al., 1986). Kollagen Typ VI wird allerdings häufiger in pathologisch veränderten Geweben entdeckt, wie in Tumoren (TIMPL und ENGEL, 1987) oder osteoarthritisch verändertem Knorpel (SWOBODA et al., 1998; SWOBODA et al., 1999).

Kollagen Typ VII wird in Keratinozyten gebildet und ist homotrimer (SAKAI et al., 1986; REGAUER et al., 1990). Es enthält eine sehr lange, diskontinuierliche Tripelhelix-Region (ca. 420 nm), die zwei kürzere Fragmente abgibt, ein NH₂-terminales P1-Fragment und ein COOH-terminales P2-Fragment. Wie in transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen nachgewiesen wurde, weist Kollagen VII außerdem eine lange nicht-helikale Domäne auf, die nahe des COOH-Fragments liegt und aus drei kurzen Armen (ca. 50 nm) mit globulären Enden besteht (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Der NC1-Terminus bindet an das Kollagen Typ IV von Basalmembranen und ist deshalb in verschiedenen epithelialen Geweben und stabilisierenden Verankerungsplaques zum Stroma zu finden (VAN DER REST und GARRONE, 1991; VAN DEN BERG, 2003). Diese Funktion wird insbesondere bei der klinisch phänotypischen Erkrankung der rezessiven dystrophischen Epidermolysis bullosa (RDEB) verdeutlicht. Bei dieser Erbkrankheit wird Kollagen VII nicht oder fehlerhaft gebildet, wodurch es zur Ablösung der Haut kommt. Dem Kollagen Typ VII kommt somit vor allem die Eigenschaft der mechanischen Verankerung zu (BRUCKNER-TUDERMAN et al., 1989).

Die Struktur des **Kollagen Typ VIII**, das unter anderem in vaskulären Endothelzellen gebildet wird, ist bis heute nicht genau geklärt und es wurden bereits verschiedene Modelle zu seinem Aufbau vorgestellt (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Zum einen wird angenommen, dass das Molekül aus einer Polypeptid-Kette besteht, an welche drei tripelhelikale Domänen anschließen, welche selbst durch mehrere nicht-helikale Abschnitte unterbrochen werden (SAGE et al., 1987). Zum anderen wurde eine einzelne, mit 454 Aminosäuren ausgestattete Aminosäurenkette nachgewiesen, die acht Unterbrechungen des normalen Triplets (Gly-X-Y)_n aufweist (YAMAGUCHI et al., 1989).

BENYA und PADILLA (1986) wiesen in Zellkulturen von Endothelzellen der Kornea mehrere kleine Aminosäureketten nach, die zusammen das Kollagen Typ VIII bilden und gehäuft in der Descemet'schen Membran vorkommen. SAWADA et al. (1990) bestätigten ebenfalls, dass die Descemet'sche Membran, die zwischen dem kornealen Endothel und dem hinteren Stroma liegt, ein Gitterwerk aus sechseckigen Blöcken aus Kollagen Typ VIII darstellt. Außerdem kommt Kollagen Typ VIII in Sklera, Meningen, Nerven und Perichondrium vor (VAN DEN BERG, 2003).

Die Ultrastruktur des **Kollagen Typ X** ist der des Kollagen Typ VIII sehr ähnlich. Das heißt, es kommt eine lange tripelhelikale Domäne vor, die acht Mal durch unvollkommene Triplets, wie zum Beispiel der Abfolge Gly-Xaa-Yaa-Xaa-Yaa, unterbrochen wird (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Das Verteilungsmuster des Kollagen Typ X ist sehr begrenzt. Vorwiegend kommt es im Knorpel vor. Zusätzlich findet man es in den Wachstumsfugen des Knochens, sowie im Verlauf der enchondralen Ossifikation im gesamten Knochen (VAN DEN

BERG, 2003). Außerdem wurde es im fortgeschritten arthrotisch veränderten Gelenkknorpel nachgewiesen (AIGNER et al., 1993). Es wird von einem Enzym gebildet, welches gleichzeitig für die Degradierung der Kollagen Typen I, II und III bei diesem Krankheitsprozess hauptverantwortlich ist (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Im normalen Knorpel kommt Kollagen X nicht vor (AIGNER et al., 1993). Es wird konträr diskutiert, ob Kollagen X die Kalzifizierung des Knorpels fördert (VAN DEN BERG, 2003).

2.4.6.3.2 FACITs - Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple helices

FACITs, Fibrillen-assoziierte Kollagene, sind Kollagen Typen, die immer in Verbindung mit bestimmten fibrillären Kollagenen stehen. Die zuerst entdeckten Vertreter, nämlich die **Kollagen Typen IX, XII und XIV**, wurden von GORDON und OLSEN (1990) unter dieser Bezeichnung als eigenständige Untergruppe der nicht-fibrillären Kollagene aufgeführt. Man geht davon aus, dass die FACITs eine wesentliche Rolle für die Stabilität des Netzwerkes aus fibrillären Kollagenen und anderen Bestandteilen der extrazellulären Matrix spielen (KEENE et al., 1991; WATT et al., 1992). Die Ultrastruktur der FACIT-Moleküle kann in drei große, funktionell essentielle Regionen unterteilt werden: Die zentrale Region besteht aus einer oder zwei tripelhelikalen Bereichen, die der Wechselbeziehung und Adhäsion des FACIT-Moleküls mit fibrillären Kollagenen dient. Die zweite Region ist aus einer weiteren Tripelhelix aufgebaut, die diesmal jedoch einen freiliegenden, unbeweglichen Arm des Moleküls bildet. Die dritte Region des Moleküls enthält keine tripelhelikalen Bereiche (COL-Domänen), sondern kurze nicht-tripelhelikale Bereiche (NC-Domänen), die eine Wechselbeziehung mit anderen Matrixbestandteilen aufbauen (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Die Verteilung der einzelnen Vertreter ist gewebespezifisch und richtet sich nach dem Vorkommen ihrer spezifischen und zugehörigen fibrillären Kollagene. Später entdeckte FACITs werden auch als neue FACITs bezeichnet und als Untergruppe der zuvor definierten FACITs abgehandelt. Ihre Vertreter sind die Kollagen Typen XVI, XIX, XX, XXI und XXII. Die Kenntnisse über ihre Verteilung und Funktionen sind noch lückenhaft (RICARD-BLUM et al., 2005).

Kollagen Typ IX ist der charakteristische Vertreter dieser Kollagenengruppe (MAYNE und BURGESSON, 1987). Es wurde in Kollagen Typ II-haltiger extrazellulärer Matrix nachgewiesen und kommt demnach nur im hyalinen Knorpel und im Glaskörper und ausschließlich mit seinem zugehörigen fibrillären Kollagen Typ II vor (VAN DER REST und GARRONE, 1991). Das Molekül besteht aus drei unterschiedlichen Polypeptidketten (COL1, COL2, COL3) und ist deshalb heterotrimer. Seine kurzen nicht-helikalen NC-Domänen fügen sich hier und da in die tripelhelikalen Bereiche ein. Sein Vorkommen im Gelenkknorpel und

im Glaskörper weist auf seine Fähigkeit hin, neben dem fibrillären Kollagen Typ II ebenso Verbindungen mit Glykosaminglykanen einzugehen, die für die Wasserbindungskapazität dieser Gewebe wesentlich sind. Die Interaktion zwischen Kollagen Typ IX und II wird mittels kovalenter Cross-links stabilisiert (EYRE et al., 1986; VAN DER REST und MAYNE, 1988).

Kollagen Typ XII und XIV interagieren mit Kollagen Typ I und II (GORDON et al., 1987; KEENE et al., 1991; WATT et al., 1992). Beide sind homotrimere Moleküle und anders als Kollagen Typ IX konnten bei ihnen keine kovalenten Crosslinks zu ihren zugehörigen fibrillären Kollagenen nachgewiesen werden. Dies lässt darauf schließen, dass diese FACIT-Moleküle ihre Wechselbeziehung mit den Fibrillen mittels weiterer Matrixbestandteile, genauer den kleineren Proteoglykan-Molekülen Decorin und Fibromodulin, herstellen (FONT et al., 1993; FONT et al., 1996; EHNIS et al., 1997). Kollagen Typ XII wurde in embryonalen und Kollagen Typ IV in fetalen periodontalen Bändern und der Haut nachgewiesen (VAN DER REST und GARRONE, 1991).

2.4.7 Funktion der Kollagene im Bindegewebe

Der Begriff „Kollagen“ kommt aus dem Griechischen und bedeutet *leimbildend*. Kocht man kollagenes Bindegewebe, entsteht folgerichtig eine weiße, klebrige Masse, die von der Zeit des Alten Ägyptens (1500 v. Chr.) im Holz- und Papierhandwerk bis ins 20. Jahrhundert vielseitig, wie beispielsweise in der Buchbinderei, als Knochenleim verwendet wurde. Dies erklärt auch die essentielle Funktion des Kollagens im menschlichen und tierischen Körper: Es verleiht dem Gewebe Stabilität und Struktur. Ohne dieses Strukturprotein würde es dem Organismus an mechanischem Halt fehlen und es hätte den vielzelligen Lebewesen wohl nicht ihre Weiterentwicklung im Laufe der Evolution gestattet (EXPOSITO et al., 2002; BOOT-HANDFORD und TUCKWELL, 2003). Dies erklärt den hohen Anteil des Proteins im Körper und sein Vorkommen in nahezu jedem Organ. Durch die weiter oben beschriebene, außerordentlich dichte Molekularstruktur in Form einer Tripelhelix besitzen Kollagenfasern ein hohes Elastizitätsmodul und sind dazu geschaffen Zugkräfte zu absorbieren (BARGMANN, 1977, VAN DEN BERG, 2003). Je nach Gewebe können sie parallel oder netzartig angeordnet sein, wodurch Zugkräfte in alle Richtungen ausgehalten werden können. Wirkt die Belastung immer auf dieselbe Weise und aus der gleichen Richtung, entsteht geformtes Bindegewebe mit parallelen Kollagenfasern. Wirkt die Belastung aus wechselnden Richtungen, entwickelt sich ungeformtes Bindegewebe, die Fibrillen und Fasern verlaufen kreuz und quer in einem Netzwerk. Auf diese Weise verleihen Kollagenfasern Sehnen, Bändern, Kapseln und Aponeurosen ihre erhebliche Zugfestigkeit und machen die Festigkeit und Widerstandsfähigkeit von Knorpel, Knochen und Zahnbein

aus. Verglichen mit Stahlseilen besitzen Kollagenfasern bei gleichem Durchmesser die höhere Zugfestigkeit (VAN DEN BERG, 2003). Andererseits kann kollagenes Bindegewebe Kompressionskräfte absorbieren, wie es zum Beispiel im Knorpel und in Bandscheiben notwendig ist. Im Gegensatz zu ihrer Zugfestigkeit weisen kollagene Fasern jedoch eine sehr geringe Biegezugfestigkeit auf. Bei maximaler Zugbeanspruchung werden sie nur um etwa 3 - 5% ihrer Länge gedehnt (BARGMANN, 1977). Dank ihrer leicht gewellten Anordnung („crimping“), die durch ihren molekularen Bau bedingt ist, sind Kollagenfasern im Bindegewebe verlängerbar. Eine weitere wichtige Eigenschaft der Kollagene ist durch ihre im wahrsten Sinne des Wortes „vielseitige“ Fähigkeit zur Kontaktaufnahme und Bindungsaktivität gegeben. So veranlassen sie mittels Crosslinks, H-Brücken, kovalenten Bindungen, Seitenketten oder auch ladungsbedingten Anziehungskräften wichtige Moleküle der extrazellulären Matrix sich an sie zu binden. Daraus ergibt sich, dass abhängig vom Kollagen Typ seine umgebende extrazelluläre Matrix organ- und gewebespezifische Bestandteile beinhaltet. So ist es im Fall der Gelenkkapsel und anderen Strukturen des Bewegungsapparates von außerordentlicher Bedeutung, dass im lockeren Bindegewebe das Wasserbindungsvermögen gesichert ist, was durch ladungsbedingte Einlagerung von wasserbindenden Proteoglykanen und Glykosaminglykanen eingesäumt im kollagenen Netzwerk geschieht. Nur so kann die Gelenkkapsel ihre Form an die Bewegung anpassen und außerdem die Stoffwechsellistung für die Produktion der Synovia leisten (WESSELY, 2013; HEINE und PISCHINGER, 2014).

2.4.8 Abbau der Kollagene

Der komplette Abbau von Kollagenen erfordert die Beteiligung einer Reihe von enzymatischen Reaktionen, bei denen unter anderem die sogenannten Kollagenasen eine zentrale Rolle spielen. Kollagenasen sind Proteasen, deren Aufgabe es ist, die Peptidbindungen zwischen Prolin und anderen Aminosäuren der Polypeptid- α -Ketten einer Tripelhelix zu spalten. Diese Enzyme werden in verschiedenen Zellen gebildet, so zum Beispiel in den Fibroblasten und in den Endothelzellen. Bei diesen Spaltungsprozessen entsteht unter anderem die Aminosäure Hydroxyprolin, die über den Urin ausgeschieden wird und als Indikator für den Kollagenumsatz im Körper dient. Eine erhöhte Konzentration im Serum oder im Harn kann einen Hinweis auf bestimmte Erkrankungen geben, so zum Beispiel auf einen metabolisch bedingten Knochenabbau oder eine erhöhte Knochenresorption bei Osteoporose (KORTING und HOLZMANN, 1965). Die Kollagenasen der Säugetiere weisen die Besonderheit auf, dass sie die verdrillten α -Ketten eines Tripelhelix-Moleküls nur an einer einzigen Stelle vollständig oder unvollständig spalten und die Kollagene somit nur für die nächsten Schritte der Degradation vorbereiten. Diese

Durchtrennung löst gleichzeitig eine Entwindung der Kollagenhelices bei physiologischer Körpertemperatur aus, womit die Proteine für die darauffolgende Denaturierung empfindlich werden (MINOR, 1980). Es kommen an diesem Punkt andere proteolytische Enzyme zum Einsatz, welche die Helix zu kleineren Peptidketten oder einzelnen Aminosäuren zerlegen (MINOR, 1980). Auch wenn alle Kollagenasen der Säugetiere einen derart zweigeteilten Abbauprozess aufweisen, gibt es dennoch Unterschiede in der Empfindlichkeit bestimmter Kollagenasen für spezifische Kollagen Typen, sprich das Schlüssel-Schloss-Prinzip entscheidet über die zwei Reagenten (HORWITZ et al., 1977; McCROSKERY et al., 1975). Wie demnach HORWITZ et al. (1977) nachweisen konnten, spalten die Kollagenasen der pulmonalen Granulozyten Kollagene vom Typ I schneller als jene des Typ III. Im Gegensatz dazu konnten MILLER et al. (1976) keinen signifikanten Unterschied in der Abbaurate verschiedener Kollagene durch Kollagenasen bestätigen. Im Unterschied zu den Kollagenasen der Säugetiere, welche die Kollagene nicht vollständig abbauen, sind jene der Bakterien dazu im Stande das komplette Kollagenmolekül zu dialysierbaren Peptiden zu reduzieren (MINOR, 1980).

2.4.9 Regulation des Kollagen-Stoffwechsels

Kollagenes Bindegewebe wird unweigerlich durch Überlastung beschädigt oder zerstört (WANG und KER, 1995; KER et al., 2000). Wird eine bestimmte Zugkraft auf ein bestimmtes Gewebe ausgeübt, welche das Maximum an Zugwiderstandskraft (ultimate tensile strenght, UTS) desselben überschreitet, wird es zeitabhängig zu einer Zerreißung des Gewebes kommen, genauer seiner bis zu diesem Zeitpunkt widerstandhaltenden Kollagenfasern (WANG und KER, 1995).

Außer der durch mechanische Überlastung bedingten Zerstörung der Kollagene, kommt es durch den natürlichen, biologisch bedingten Alterungsprozess der Matrixbestandteile und Zellen zu einem zyklischen Abbau der Kollagene im Körper. Dieser wurde unter anderem in Bändern (WANG et al., 1995; PIKE et al., 2000), in Knochen (CARTER und CALER, 1983) und Dentin (NALLA et al., 2003) untersucht.

Außerdem können Veränderungen in der extrazellulären Umgebung der Zellen folgegemaß in einer Veränderung der synthetisierten Kollagen Typen resultieren. So konnten LASH und VASAN (1978) nachweisen, dass eine Erhöhung der Kaliumionenkonzentration in der extrazellulären Matrix sowohl die Proliferation der Zellen als auch der Matrixbestandteile fördert. Und von Chondrozyten weiß man, dass eine Erhöhung von cAMP oder CaCl_2 in der EZM, diese Zellen von der Produktion von Kollagen Typ I- zu Kollagen Typ II-Molekülen wechseln lässt (DANIEL, 1976).

Bezüglich der Menge an synthetisierten Kollagenen wurden zahlreiche stoffwechselbeeinflussende Faktoren erforscht (BLUMENKRANTZ und SONDERGAARD, 1972; RAISZ und KOOLEMANS-BEYNEN, 1974; BLANCK und PETERKOFISKY, 1975; KAO et al., 1975; AALTO et al., 1976). So wurde nachgewiesen, dass Ascorbinsäure die Kollagensynthese stimuliert, indem sie ein Coenzym für die Enzyme Pepsidyl-Prolin-Hydroxylase und Lysin-Hydroxylase darstellt, welche für die normale Hydroxylierung von Kollagen notwendig sind (HAUSMANN, 1967; HUTTON et al. 1967; KIVIRIKKO und PROCKOP, 1967; CHEN und RAISZ, 1975; KAO et al., 1975). Des Weiteren wurde an aktivierten Makrophagen im Granulationsgewebe nachgewiesen, dass sie lösliche Faktoren sezernieren, welche die Syntheseleistung von Kollagenen und anderen Proteinen während der Wundheilung steigern (AALTO et al., 1976).

Aus endokrinologischer Sicht sind einige Hormone zu nennen, welche die Kollagensynthese entweder fördern oder hemmen und das kollagene Netzwerk teils direkt oder indirekt über Veränderungen anderer Matrixbestandteile modifizieren. Eine direkt stimulierende Wirkung auf die Synthese von Kollagenen übt zum einen das Testosteron aus, welches zudem den Keratan- und Dermatansulfatgehalt im Nucleus pulposus und die Hyaluronsäurekonzentration in der Haut erhöht und somit insgesamt die Zugfestigkeit des Bindegewebes steigert. Andererseits bedingen Östrogene eine erhöhte Produktion von vermehrt polymerisierter Hyaluronsäure, die sich an die Kollagenfasern anlagert und so den Haut- und Bindegewebsturgor verstärkt. Eine katabole Wirkung auf die Syntheseleistung der Fibroblasten und somit auch auf die Fibrillogenese, die Kollagenproduktion, die Wundheilung, die Kallusbildung und die Synthese von Glykosaminglykanen bedingen die Glukokortikoide. Außerdem hemmt Cortison das Enzym Hyaluronidase und vermindert die Aktivität der in Fibroblasten gebildeten Prolinhydroxylase. Ein weiteres Hormon, welches die Kollagene negativ beeinflusst, ist das Parathormon. Es führt durch Freisetzung lysosomaler Enzyme aus Osteoklasten zum Abbau von Knochenkollagen (LOHR, 2002).

2.4.10 Kollagendefekte und Kollagenstoffwechsel-Störungen

Genetische Defekte in der Kollagenbildung verursachen eine Reihe von verschiedenen Kollagenopathien (TEMWICHITR et al., 2007). Sie beeinflussen fast jedes Organsystem und jede Art von Gewebe. Man gruppiert sie zum Teil anhand ihrer klinischen Phänotypen, die in der Regel mit der Gewebeverteilung des betroffenen Kollagen Typs im Körper korrelieren (JOBILING et al. 2014).

2.4.10.1 Erblich bedingte Defekte des Kollagenstoffwechsels

Die primäre Funktion der Kollagene besteht in der spezifischen Festigkeit und Zugbelastbarkeit eines Gewebes. Eine Reihe von Erkrankungen, die mit einer erhöhten Zerreißbarkeit oder Brüchigkeit eines Gewebes einhergehen, entstehen auf der Basis eines erblichen Defekts der Kollagensynthese (McKUSICK, 1972; KIVIRIKKO und RISTELI, 1976; STEWART et al., 1977; HOLLISTER, 1978). Die Kollagensynthese bedarf allein für die posttranslationale Transformierung acht spezifischer Enzyme, von denen einige das anvisierte Ziel bestimmter Wirkstoffe gegen die Anhäufung von Kollagen bei verschiedenen fibrosierenden Erkrankungen sind (MYLLYHARJU und KIVIRIKKO, 2001). Die meisten angeborenen Matrixdefekte sind Folgen eines genetisch bedingten Enzymdefekts, der zu einer Störung in der Bildung und Reifung sowie im Abbau der Fasern oder anderer Bestandteile der Grundsubstanz führt (BÜTTNER und THOMAS, 2003). Dabei bestehen trotz unterschiedlicher Lokalisationen der Störungen häufig ähnliche klinische Bilder. Zu den wichtigsten angeborenen Störungen der kollagenen Fasern, die beim Mensch und zum Teil auch beim Tier vorkommen, gehören das Ehlers-Danlos-Syndrom, die Osteogenesis imperfecta, das Marfan-Syndrom, die Homozystinurie und ein genetisch bedingter gesteigerter Kollagenabbau (BÜTTNER und THOMAS, 2003).

Das sogenannte **Ehlers-Danlos-Syndrom** (EDS) ist eine heterogene Gruppe von erblichen Bindegewebserkrankungen bei Menschen und Tieren. Das Eponym fasst zehn verschiedene Krankheitsbilder (Typ I - X) zusammen, die genetisch, biochemisch und klinisch sehr unterschiedlich sind, allgemein aber mit einer Gelenkinstabilität und mit Hautveränderungen einhergehen (BEIGHTON et al., 1988; BEIGHTON et al., 1992; HOLMES et al., 1993; LÖWENSTEIN und LOESENBECK, 2007). Charakteristische Symptome sind eine Hyperelastizität bis hin zu einer abnormen Zerreißbarkeit der Haut. Die erhöhte Vulnerabilität der Haut geht zusätzlich mit einer gestörten Wundheilung einher. Auffallend sind außerdem eine Überstreckbarkeit der Gelenke mit Luxationsneigung sowie Augenanomalien. Des Weiteren können oft Ektasien im Magen-Darm-Trakt, gastrointestinale Hernien und Divertikel sowie ein Megaösophagus vorkommen. Es besteht zusätzlich eine primär vaskuläre Blutungsneigung, die zu Aneurysmen, Arterienrupturen oder einem verstärkten operativen Nachbluten führen können (McKUSICK, 1972; STEWART et al., 1977; HOLLISTER 1978, LOHR, 2002). So beschreiben auch URI et al. (2015) den Fall eines plötzlich verstorbenen, sieben Monate alten Mischlingsrüden, der zwei Wochen nach der Diagnose des Ehlers-Danlos-Syndrom an einer spontanen Ruptur der Arteria subclavia sinistra verstarb. Lichtmikroskopische Untersuchungen ergaben pathologische Veränderungen in der Anordnung und in der Form der Kollagenfaserbündel des rupturierten Gefäßes sowie in der Haut. Fragmente von Kollagenfaserbündeln waren zudem weniger

dicht als in einem normalen Kollagenfasergeflecht. Je nach Kollagen Typ besteht ein autosomal-dominanter, rezessiver oder ein X-chromosomaler Erbdefekt und entsprechend unterschiedliche pathologisch-biochemische Mechanismen der gestörten Kollagen-Fibrillogenese.

Bisher wurden beim Menschen Mutationen in den Genen für die Kollagen Typen I, II, III, IV, V, VI, VII, IX, X, XI und XVII sowie Defekte in verschiedenen Matrixproteingenen identifiziert (JOBLING et al., 2014). Die dominant vererbten Formen weisen auf Mutationen in den Genen der Kollagen Typen I, III und V hin, während die rezessiven Formen mit einem enzymatischen Defekt der Kollagen-I-Biosynthese assoziiert sind (BÜTTNER und THOMAS, 2003). Das führt dazu, dass die Zahl der kollagenen Fibrillen vermindert ist und somit ihre Vernetzung untereinander abnimmt (LOHR, 2002). Eine molekulare Strukturanomalie des Kollagens besteht nicht. Die Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn ist normal (LOHR, 2002). Die Diagnose erfolgt durch einen biochemischen Nachweis spezifischer Enzymdefekte.

In der Veterinärmedizin wird die Erkrankung des Ehlers-Danlos-Syndroms oft als Dermatoparaxis oder Cutis laxa bezeichnet. Es gibt Fallbeschreibungen der Erkrankung beim Pferd (RASHMIR-RAVEN et al. 2004; WHITE et al. 2004; LITSCHAUER et al. 2010; MOCHAL et al. 2010; RASHMIR-RAVEN und SPIER, 2015), beim Rind (O'HARA et al., 1970; HANSET, 1971; LENAERS et al., 1971; HANSET und LAPIÈRE, 1974), beim Schaf (HELLE und NES, 1971; FJOLSTAD und HELLE, 1974; BECKER et al., 1976; DELVOYE et al., 1983; RAMSHAW et al., 1983; BAVINTON et al., 1985; ANDRADE, 2014) sowie bei der Katze (COLLIER et al., 1980; COUNTS et al., 1980; HOLBROOK et al., 1980; LÖWENSTEIN u. LOESENBECK, 2007; DOKUZEYLÜL et al. 2013; WEINGART et al. 2014) und beim Hund (PACIELLO et al., 2003; BARRERA et al., 2004; DE MENEZES et al., 2007; TEMWICHITR et al. 2007; BELLINI et al. 2009). Bei Rind, Schaf und Katze besteht ein autosomal-rezessiver mesenchymaler Defekt, während dieser beim Hund dominant vererbt wird. LÖWENSTEIN und LOESENBECK (2007) vergleichen die Erkrankung des Ehlers-Danlos-Syndroms der Katze mit der des Menschen, wonach die pathologisch-biochemischen Veränderungen bei der Katze dem EDS Typ VIIIc des Menschen entsprechen. Es kommt zu einem Mangel des Enzyms Prokollagen-Peptidase, der sich klinisch in einer ausgeprägten Verletzbarkeit und teilweise Ödematisierung der Haut äußert. Die Zugfestigkeit der Haut ist beim Hund um das 40-fache, bei der Katze um das 9-fache reduziert. Bereits nach minimalen Beanspruchungen entstehen Hautrisse, die beim Abheilen papierdünne bis großflächige Narben hinterlassen.

Beim Hund wird das Ehlers-Danlos-Syndrom in den meisten Fallbeschreibungen in Zusammenhang mit Lahmheitserscheinungen der Hintergliedmaßen, mit einer abnormen Überstreckbarkeit und erhöhten Laxizität mehrerer Gelenke sowie einer medialen

Patellaluxation gebracht (PACIELLO et al., 2003; BARRERA et al., 2004; DE MENEZES et al., 2007; TEMWICHITR et al. 2007; BELLINI et al. 2009). Lichtmikroskopische Untersuchungen von Schnittpräparaten der Haut der Patienten zeigten ein geringeres Vorkommen sowie eine unregelmäßige Struktur und Größe von Kollagenfaserbündeln, die teilweise fragmentiert oder verkürzt vorkamen (PACIELLO, 2003; WEINGART, 2014). Außerdem stellten PACIELLO et al. (2003) mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen an Hautbiopsien von Hunden mit einem Ehlers-Danlos-Syndrom fest, dass nicht nur die Kollagenfibrillen ungeordnet anstatt parallel zueinander vorlagen sowie teilweise ausgefranst und spiralförmig waren, sondern dass auch die dermalen Fibroblasten verändert waren. Das raue endoplasmatische Retikulum der Kollagen-produzierenden Zellen wies eine dilatierte Form auf, und die Ribosomen waren vermindert und in Richtung Zellmembran gedrängt. Lichtmikroskopische Untersuchungen der Gelenkkapsel bei Haussäugetieren mit einem Ehlers-Danlos-Syndrom liegen bisher nicht vor.

Eine weitere erblich bedingte Erkrankung mit einem zugrundeliegenden Kollagen-Gendefekt ist das **Marfan-Syndrom**. Bei dieser Bindegewebserkrankung kommt es durch einen autosomal-dominanten Gendefekt am FBN1-Gen zu einer Synthesestörung der $\alpha 2$ -Ketten des Kollagens vom Typ I und zu einer Verminderung der elastischen Fasern. Ein generalisierter Fibrillendefekt verursacht Veränderungen des Habitus, des kardiovaskulären Systems und der Augen. Die Erkrankung bleibt in vielen Fällen unerkannt, wobei sie auch zum plötzlichen Tod führen kann. Charakteristische Symptome des Habitus sind zum einen ein meist schmaler Körperbau mit überlangen Gliedmaßen, ein oft nichtfamiliärer Großwuchs, überstreckbare Gelenke, Veränderungen der Wirbelsäule (z. B. Skoliose), eine weiche Haut mit Striae und nicht selten Leistenhernien. Beim kardiovaskulären System kommt es zu einer progressiven Erweiterung der Aorta ascendens mit Aorteninsuffizienz oder Aortenaneurysmen, einer Mitralklappeninsuffizienz und einer dementsprechenden Leistungsdepression. Nicht selten besteht Kurzsichtigkeit, häufig verbunden mit einer Subluxation oder Luxation der Linsen, Netzhautablösung, enge Pupillen und auch ein Glaukom ist möglich. Die Diagnose des Marfan-Syndroms beruht auf den klinischen Manifestationen diverser Organe, sodass mehrere Spezialisten notwendig sind (WEIGANG et al., 2006). Regelmäßige kardiologische Untersuchungen mit einem präventiven oder therapeutischen Einsatz von Herzmedikamenten, orthopädische Maßnahmen, evtl. vorzeitige Pubertätseinleitung zur Wachstumsreduktion, ophthalmologische Kontrolluntersuchungen sind hilfreich wie die allgemeine Schonung. Die mittlere Lebenserwartung ohne Behandlungen beträgt circa 32-35 Jahre, nach operativer kardiovaskulärer Korrektur 61 Jahre. In der Tiermedizin ist das **bovine Marfan-Syndrom** beim Limousin-Rind beschrieben (DAHME und WEISS, 2007). Ein wie beim Menschen dominant vererbter Fibrillin-Defekt verhindert eine normale Ausreifung des Elastins und führt - bevorzugt an großen arteriellen

Gefäßen - zum Aneurysma dissecans mit konsekutiver Ruptur und Herztamponade (DAHME und WEISS, 2007).

Die **Osteogenesis imperfecta** (OI) - umgangssprachlich auch Glasknochenkrankheit bezeichnet - ist eine genetisch heterogene Bindegewebserkrankung, bei der der Knochen durch eine verminderte Bildung des Kollagen Typ I zum einen leicht („wie Glas“) bricht und zum anderen im Röntgenbild eine glasige Struktur aufweist. Es bestehen multiple Störungen in der Biosynthese von Kollagen Typ I, die entweder auf einem autosomal-dominanten oder auf einem autosomal-rezessiven Gendefekt beruhen (McKUSICK, 1972; UITTO und LICHTENSTEIN, 1976; BÜTTNER und THOMAS, 2003). Beide Gendefekte sind jeweils als eine schwerwiegende, bereits bei der Geburt klinische Form und als eine mildere, späte Form ausgeprägt (McKUSICK, 1972; UITTO und LICHTENSTEIN, 1976). Da Kollagen Typ I rund 90% der Knochenmatrix ausmacht, betrifft die Osteogenesis imperfecta vor allem den Stoffwechsel des Knochens aber auch des übrigen faserigen Bindegewebes. Klinische Leitsymptome sind eine hochgradige Knochenbrüchigkeit, eine dünne Haut und durchscheinende (blaue) Skleren. Zusätzlich leiden die Patienten oft an Verbiegungen und Verkürzungen der langen Röhrenknochen. Die Ausbildung des Zahnschmelzes ist ebenfalls gestört, sodass unter dem Zahnfleisch liegende Gefäße blau durchschimmern. Beim Menschen besteht die Therapie in dem Versuch, eine Zunahme der Knochendichte mit Calcitonin, Calciferolen bzw. Calciferol-Metaboliten, Fluor und Bisphosphonaten zu bewirken. Frakturen werden chirurgisch oder orthopädisch versorgt. Die Osteogenesis imperfecta kommt beim Mensch und selten auch beim Hund und bei der Hauskatze vor (KRAMER et al., 2004; SCHÜTZ et al., 2012) Es sind auch Fälle beim Löwen, Puma und Leopard beschrieben. Prädisponierte Hunderassen sind der Collie, der Deutsche Schäferhund, der Golden Retriever, der Pudel und der Dackel. Bei Welpen gelten als typische klinische Symptome kongenitale bzw. kurz nach der Geburt entstandene Frakturen und „durchsichtige“, aufgrund der durchscheinenden Blutgefäße rötlich oder bläulich gefärbte „Glas“-Zähne (KRAMER, 2004; SCHÜTZ et al., 2012). Histologisch ist die Krankheit von einer Osteoblasteninsuffizienz sowie von einer fehlenden bzw. nur schwach ausgebildeten primären Spongiosa gekennzeichnet.

Weitere erblich bedingte Kollagendefekte sind unter anderem die **Homocystinurie**, bei der Homocystein, ein beim normalen Methioninabbau entstehender Metabolit, in der Leber und in den Nieren akkumuliert. Dies zieht sekundär das Bindegewebe in Mitleidenschaft, da die angehäuften schwefelhaltige Aminosäure den Kollagenstoffwechsel hemmt. Die Erkrankung wurde bisher nur beim Menschen festgestellt (KANG und TRELSTAD, 1973; MINOR, 1980).

Beim Menschen ist außerdem ein **genetisch bedingter, gesteigerter Kollagenabbau** bekannt (BÜTTNER und THOMAS; 2003). Bei dieser Erkrankung besteht ein

Proteaseninhibitor-Mangel. Folglich kommt es zu einem gesteigerten Kollagen- und Elastinabbau, da die lysosomalen Kollagenasen und Elastasen ungenügend gehemmt werden. Im Zuge dessen entsteht ein Lungenemphysem sowie eine Haut- und Gelenkshyperelastizität, die dem Ehlers-Danlos-Syndrom sehr ähnlich ist (BÜTTNER und THOMAS; 2003).

2.4.10.2 Erworbene Störungen des Kollagenmetabolismus

Viele Erkrankungsprozesse verursachen Gewebeschäden und infolgedessen geschieht eine Stimulation von Fibroblasten und Mesenchymzellen. Die Art und Weise dieses lokalisierten Reparaturprozesses steht den generalisierten, regulatorischen Mechanismen bei erblich bedingten Erkrankungen des Kollagenstoffwechsels gegenüber. Der lokale Reparaturmechanismus besteht meistens sowohl in einer Zellproliferation als auch in einer Synthese der Matrixbestandteile (FOSSUM, 2011).

2.4.10.2.1 Erworbene Veränderungen der synthetisierten Kollagen Typen

In mehreren Studien wurde nachgewiesen, dass sich die synthetisierten Kollagen Typen bei der Differenzierung und im Laufe des Alterungsprozesses des Gewebes verändern (HAY, 1973; EPSTEIN, 1974; SHUTTLEWORTH et al., 1975). Ebenso kommt es in verschiedenen Stadien der Wundheilung zu Veränderungen der Syntheseaktivität von Mesenchymzellen, die auf ihre veränderten Bedingungen in der Umgebung angepasst reagieren (MINOR, 1973; HAY, 1973; REDDI et al. 1977). So geschieht beispielsweise im frühen Stadium der Heilung eine vermehrte Synthese an Kollagen Typ III (BAILEY et al., 1975; GABBIANI et al., 1976; KNAPP et al., 1977). Kollagenfasern ändern im Verlauf der Heilung ihre Orientierung und vernetzen sich stärker untereinander, was zu einer erhöhten Wundstabilität führt. Da sich die Fasern entlang der Spannungslinien ausrichten, verschwinden Fasern, die nicht entsprechend verlaufen, während funktionell orientierte Fasern an Umfang zunehmen (FOSSUM, 2009). In einem weiteren Stadium werden die Kollagenfasern vom Typ III in ihrer Menge weniger, während die Kollagenfasern vom Typ I zunehmen (BAILEY et al., 1975; WEBER et al., 1978; FOSSUM, 2011).

Zu einem pathologischen Reparaturmechanismus kommt es, wenn die normale Kollagen-Biosynthese bezüglich der exprimierten Typen fehlgesteuert ist. So ist zum Beispiel eine geringe Zunahme der Kollagenfasern vom Typ III im Narbengewebe normal, während eine Überexpression dieses Fasertyps zu einem abnormen Fasergewebe führt (WEBER et al., 1978). Im Gegensatz dazu kommt es im interlobulären Raum der Leber in der akuten

Heilungsphase zu einer vermehrten Bildung an Kollagen Typ III. Eine gesteigerte Synthese an Kollagen Typ I kommt hingegen in den Arealen einer irreversiblen oder zirrhotischen Schädigung der Leber vor (WICK et al., 1978). Ähnliche Veränderungen entstehen im osteoarthritisch veränderten Gelenknorpel, wo vermehrt Kollagen Typ I statt Kollagen Typ II synthetisiert wird (NIMNI, 1973). Ebenso ist die Syntheseleistung der Fibroblasten in neoplastisch verändertem Gewebe gestört. So kommt es beim Fibrosarkom zu einer vermehrten Produktion an Kollagen Typ III in Bereichen, wo normalerweise vorwiegend Kollagen Typ I aufgebaut wird (MATSUBAYASHI et al., 1977).

2.4.10.2.2 Erworbene Veränderungen in der synthetisierten Menge an Kollagen

Veränderungen in der Menge des synthetisierten Kollagens bei erworbenen Erkrankungen und Reparaturprozessen führt zu deutlicher ausgeprägten Veränderungen als eine Modifikation des Kollagen Typs (McCLAIN et al., 1973; BARNES et al., 1976; GABELLA und YAMEY, 1977; KNAPP et al., 1977). Ein Übermaß an neu synthetisierten Kollagenfasern stellt vor allem in parenchymatösen Organen wie der Leber, der Lunge, den Nieren und dem Gastrointestinaltrakt ein Problem dar. Fibrosierende Prozesse in der Lunge, zirrhotische Veränderungen in der Leber oder Verdickungen im Verdauungstrakt als Folgen einer hochgradigen Schädigung und/oder einer andauernden Entzündungsreaktion behindern diese elastischen Gewebe in ihrer Funktion ausführung (NIMNI, 1973; KIVIRIKKO und RISTELI, 1976; PEREZ-TAMAYO, 1978). Im Bereich der entzündeten Läsion dient Fibrin als Transmitter für die Fibroblasten, ihre Synthesetätigkeit zu aktivieren, was der entscheidende Schritt für eine folgende vermehrte Produktion an Kollagenfasern ist (SHOSHAN und GROSS, 1974). Die Menge an Fibrin im geschädigten Gewebe wird von der Fläche der Schädigung und von der Art der Schädigung bestimmt. In den meisten Heilungsprozessen ist eine vermehrte Biosynthese an Kollagen durch eine gesteigerte Aktivität der Prolyl- und Lysylhydroxylase, eine vermehrte Akkumulation löslicher Kollagene und eine Vermehrung zerlegbarer Cross-links im Gewebe gekennzeichnet (KIVIRIKKO und RISTELI, 1976). Doch nicht nur eine Vermehrung der Kollagene zeichnet die Reparaturprozesse aus, sondern auch eine gesteigerte Synthese übriger Matrixbestandteile sowie eine Vermehrung der Fibroblasten im geschädigten Bereich.

2.4.10.2.3 Erworbene Veränderungen in der Hydroxylierung von Prolin und Lysin

Vitamin C (Ascorbinsäure) ist für die Hydroxylierung der Aminosäuren Prolin und Lysin in der Weise von Bedeutung, als dass es als Koenzym der Prolyl- und Lysylhydroxylase fungiert. Folglich führt ein Vitamin C-Mangel zu einer Synthesestörung des Kollagens, wie es

beim Skorbut der Fall ist. Bei dieser Mangelkrankheit können keine stabilen Tripelhelices gebildet werden, da ein Defizit an Ascorbinsäure die Schmelztemperatur von Kollagen auf 23°C senkt, welche im normalen bei 39°C liegt. Daher gehen helikale Strukturen beim Skorbut bei normaler Körpertemperatur schneller wieder zugrunde als sie gebildet wurden. Frühe Anzeichen der Erkrankung sind Zahnausfall und Blutungen sowie Hämatome, da Blutgefäße brüchig werden.

Eine ähnliche Wirkung auf die Hydroxylierung von Prolin und Lysin haben **Corticosteroide**. Sie verhindern ebenso die Stabilisierung der Tripelhelix, in diesem Fall bei normaler Körpertemperatur. Neu synthetisierte Kollagenfasern zerfallen unmittelbar nach ihrem Entstehen, was beispielsweise in einem Wundbett die Zugwiderstandskraft des Gewebedefekts reduziert (HARALDSSON et al., 2009; CAMPAGNOLO et al., 2010; ZHOU et al., 2011).

Des Weiteren konnten KIVIRIKKO und RISTELI (1976) durch in vitro Studien nachweisen, dass eine hochgradige **Hypoxie** und **Chelatbildung von Eisenionen** ebenfalls die Hydroxylierung von Prolyl- und Lysylresten hemmt und eine Hypovitaminose C nachahmt.

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Fragestellungen der eigenen Untersuchungen:

1. Wie ist die Gelenkkapsel eines gesunden Kniegelenkes beim Hund aufgebaut?
2. Lassen sich aus histomorphologischer Sicht strukturelle Veränderungen in der Gelenkkapsel von Hunden mit kongenitaler Patellaluxation im Hinblick auf den Aufbau und die Ausbildung ihrer Schichten, Gefäße, Zellen und Zellprodukte feststellen?
3. Aus dem Blickwinkel der Immunhistochemie: Gibt es Unterschiede im Verteilungsmuster und Ausprägungsgrad der untersuchten Kollagen Typen?

3.1. PATIENTEN UND MATERIAL

3.1.1. Patienten

Es wurden insgesamt 73 Hunde unterschiedlicher Rassen, unterschiedlichen Alters und Geschlechts für diese Studie untersucht. Bei fünf Tieren wurden beide Kniegelenke operiert. Dementsprechend kamen von diesen Patienten Gelenkkapsel-Proben beider Kniegelenke zur Untersuchung. Somit wurden insgesamt 78 repräsentative Gelenkkapselproben verarbeitet und analysiert. Die Proben stammen von Hunden 26 verschiedener Rassen und von 24 Mischlingen dieser und anderer Rassen. Am häufigsten vertreten war der Chihuahua mit 11 Tieren und einem Chihuahua-Mischling, gefolgt von 6 Yorkshire Terriern und einem Yorkshire Terrier-Mischling. Weiterhin nahmen 4 West Highland White Terrier und jeweils 3 Malteser und Zwergpudel an der Studie teil. Gelenkkapselproben wurden von je 2 Boxern, Shar Peis, Cavalier King Charles Spaniel, American Staffordshire Terrier, Prager Rattler, Bolonka Zwetna und von je einem Shih Tzu, Pekinese, Chinesischer Schopfhund, Boston Terrier, Shetland Sheepdog und Shetland Sheepdog-Mischling, Deutsche Dogge, Tibet Terrier und Tibet Terrier-Mischling, Französische Bulldogge, Beagle, Border Collie, Collie-Mischling, Basset fauve de Bretagne, Podenco Canario-Mischling, Deutscher Schäferhund-Mischling, Russkiy Toy, Akita Inu, Kaukasischer Owtscharka-Mischling, Leonberger, Rehpinscher, Rehpinscher-Mischling und einem 20 kg schweren Mischling gewonnen. 7 weitere Mischlinge der Studie wogen bis 10 kg und ebenso viele zwischen 10 und 20 kg. Die Tiere waren Patienten der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin und wurden zwischen Juni 2010 und November 2012 diagnostiziert und operiert. Fast alle (n = 76) wurden wegen einer

Lahmheit vorgestellt und nach Diagnosestellung am Kniegelenk oder dem Oberschenkelknochen operiert.

3.1.2. Untersuchungsmaterial

Es konnten 59 Proben im Rahmen der operativen Versorgung einer Patellaluxation entnommen werden. Sie bilden die Gruppe der „kranken“ Tiere. Für eine Vergleichsgruppe wurden Gelenkkapsel-Proben während der operativen Versorgung eines Kreuzbandrisses (n = 11) oder einer distalen Femurfraktur (n =2) entnommen. Außerdem wurde bei einem Hund eine Gelenkkapsel-Probe unmittelbar post mortem gewonnen, nachdem das Tier intraoperativ aufgrund einer infausten Prognose wegen eines rupturierten Darmes nach Fremdkörperaufnahme euthanasiert werden musste. Von einem Hund wurden Bioptate lateral der Kniegelenkkapsel entnommen, nachdem er wegen altersbedingter Krankheiten eingeschläfert werden musste. Als Kontrollen werden in den folgenden Abschnitten dieser Arbeit nur die Proben der toten Tiere bezeichnet. Die Proben der Vergleichsgruppe teilten sich somit in zwei Untergruppen: Gelenkkapsel-Bioptate gesunder Kniegelenke (Femurfraktur, Kontrollen) und Bioptate von pathologisch veränderten Kniegelenken (Kreuzbandriss) (siehe Tabelle 9, S. 97). Die Gelenkkapsel-Proben wurden nach der Entnahme im Labor des Instituts für Veterinär-Anatomie (Fachbereich Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin) in unterschiedlichen Arbeitsschritten für verschiedene histologische und mehrere immunhistochemische Darstellungsmethoden präpariert und lichtmikroskopisch ausgewertet.

3.2. METHODEN

3.2.1. Probenentnahme und -aufbereitung

Im Zuge der operativen Versorgung einer Patellaluxation bzw. eines Kreuzbandrisses wurde die Gelenkkapsel-Probe nach Freipräparation des Kniegelenkes lateral parapatellar mit dem Skalpell (Aesculap®, USA) entnommen. Wurde eine Femurfraktur osteosynthetisch versorgt, wurde der Zugang kniegelenksnah genutzt, um auch das Gelenkkapsel-Bioptat lateral parapatellar zu entnehmen. Die post mortem Gewinnung der Probe war identisch.

3.2.1.1. Intraoperative Entnahme der Kniegelenkkapselprobe

Nach Inzision der Gelenkkapsel lateral parapatellar etwa auf 2 Uhr (linkes Kniegelenk) und auf 10 Uhr (rechtes Kniegelenk) mit dem Skalpell (siehe oben) wurde, je nach Volumen der Gelenkkapsel bzw. je nach Größe des Tieres, ein etwa 0,5 cm² bis 2 cm² großes Bioptat entnommen. Für die spätere Orientierung im Präparat wurde auf den Musculus vastus lateralis geachtet, der proximal in die Gelenkkapsel einstrahlt. Wesentliche Grundlagen für diese Lokalisation der Entnahmestelle waren die Gewährleistung guter Bedingungen für den Heilungsprozess sowie eine Straffung der Gelenkkapsel.

3.2.1.2. Fixierung

Die Proben wurden unverzüglich nach Entnahme in ein eigenes, verschließbares Plastikgefäß mit phosphatgepufferter 4%iger Formaldehydlösung verbracht. Das Verbleiben in dieser Lösung für einen bestimmten Zeitraum, das sogenannte Fixieren, dient der Unterbrechung und Festlegung der komplexen intra- und supravitalen Stoffwechselprozesse des Gewebes und soll die postmortalen Zerfallerscheinungen verhindern (MULISCH und WELSCH, 2010). Demnach ist bei geeigneten Fixierungsbedingungen die Erhaltung des augenblicklichen Zustands und damit der treu festgehaltenen Struktur des Gewebes zu erwarten. Damit das Fixans die Probe zur Gänze durchdringen konnte, musste die Anforderung, dass das Volumen der Fixierungslösung dem 20fachen Probenvolumen entspricht, erfüllt sein (MULISCH und WELSCH, 2010). Es wurden dementsprechend große Behältnisse verwendet, um durch das freie Schwimmen der Gelenkkapsel-Bioptate die allseits ungehinderte Diffusion der Fixierungslösung in das Gewebe gewährleisten zu können. Um die Autolyse der vorerst unfixierten Gewebeanteile weitestgehend zu hemmen, wurde die Lösung sowohl vor als auch nach dem Einbringen der Bioptate im Kühlschrank bei +4°C gelagert. Wurde die Lösung im Falle von Blutrückständen verunreinigt, so wurde sie am darauffolgenden Tag gewechselt und

gegebenenfalls ebenso an den folgenden Tagen erneuert. Die Einwirkdauer der Fixierflüssigkeit wurde auf 24 bis 96 Stunden begrenzt.

3.2.2. Lichtmikroskopische Techniken

3.2.2.1. Vorbereitung für die Lichtmikroskopie

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Gelenkkapsel-Bioptate erfolgte an Paraffinschnitten. Jedes Biopstat wurde anhand von drei verschiedenen histologischen sowie jeweils sechs unterschiedlichen immunhistochemischen Färbungen in mehrfacher Ausführung analysiert. Trotz verschiedener Herstellungsabläufe der unterschiedlich gefärbten Präparate, galten für das Prozedere der Probenvorbereitung die gleichen Prinzipien. Die folgenden Punkte gehen kurz auf diese Verfahren der Vorbereitung auf die Lichtmikroskopie ein.

3.2.2.1.1. Auswaschen und Entwässern der Präparate

Das Ziel der so genannten Auswaschung des Präparats ist, die Fixierlösung vollständig aus dem Gewebe zu schwemmen. Reste von Fixierlösungen in Präparaten können einerseits die Qualität der Einbettung negativ beeinflussen und wirken sich andererseits störend auf nachfolgenden Färbungen der Gewebeschnitte aus, indem unschöne Artefakte entstehen können (MULISCH und WELSCH, 2010). Das Auswaschen erfolgt im Fall der Fixierung mit Formaldehyd in Leitungswasser (MULISCH und WELSCH, 2010). Alle Gelenkkapsel-Proben wurden demnach für drei Stunden unter laufendem, kühlem Leitungswasser gespült, nachdem sie jeweils in eine Standardplastikkassette (Eurocassette®, Fa. Reichert-Jung, Heidelberg, Deutschland) mit eindeutiger Probenkennzeichnung verbracht wurden. Diese Wassersiebe mit gegittertem Boden und Deckel eigneten sich außerdem für die spätere Paraffineinbettung, indem die Bodenteile als Rahmen zum Ausgießen der eingebetteten Blöcke fungierten. Somit verblieben die Proben bis zur Einbettung in diesen Plastiksieben und es entfiel im weiteren ein erneutes Beschriften und damit die Gefahr der Verwechslung der Proben. Die Abwesenheit von Formaldehyd wurde nach dem Auswaschen durch Zusatz eines Tropfens SCHIFFsches Reagenz geprüft. Die violette Verfärbung des Leitungswassers zeigt die Anwesenheit von Aldehyden an. Sobald das Leitungswasser ungefärbt blieb, konnte mit der Entwässerung der Biopstate weiterverfahren werden.

Die Entwässerung des Gewebes in Alkohol ist für die nachfolgende Einbettung im nicht mit Wasser mischbaren Einbettmedium Paraffin notwendig. Hierfür wurden die Proben schrittweise in 50-, 60-, 70-, 80- und 96%igen Alkohol gebracht, bevor sie in absolutem Alkohol gänzlich entwässert wurden. Das stufenweise Vorgehen in aufsteigender Alkoholreihe ist für

eine Geringhaltung der Zerreißung bei Schrumpfung des Gewebes während der Entwässerung unabdingbar (MULISCH und WELSCH, 2010), zumal sich das Bindegewebe der Gelenkkapsel ohnehin als sehr faserreich und zell-, fett- und wasserarm darstellt/erweist und dadurch von Natur aus leichter zu Austrocknung und Zerreißung neigt. Die Dauer des Aufenthalts in den einzelnen Alkoholstufen richtete sich nach den Angaben laut MULISCH und WELSCH (2010), wonach Präparate mit einer Dicke von 3 - 5 mm zwei bis vier Stunden in den einzelnen Gefäßen belassen werden.

Als Intermedium diente Xylol nach der Entwässerung zur Entfernung des Alkohols aus den Gewebeproben. Das ist eine wichtige Voraussetzung für eine optimale Schneidbarkeit und eine geringe Sprödigkeit von Paraffinmaterial (MULISCH und WELSCH, 2010). Die Verweildauer in der Zwischenflüssigkeit, aufgeteilt auf zwei Portionen, belief sich insgesamt auf einen Zeitraum von 2 - 4 Stunden.

3.2.2.1.2. Einbettung

Vom Intermedium wurden die Präparate zunächst in eine mit Paraffin gesättigte Xylol-Lösung gebracht. Nach dem Durchtränken mit dieser Xylol-Paraffin-Lösung wurden die Gewebeproben anschließend in geschmolzenes, reines Paraffin (Paraplast®, Fa. Shandon Labortechnik GmbH, Frankfurt, Deutschland) mit einer Temperatur von 60°C in den Wärmeofen übertragen. Da anfangs das Paraffin durch das austretende Xylol verunreinigt wird (MULISCH und WELSCH, 2010), erfolgte die standardmäßige Passage der Proben durch insgesamt drei Paraffin-Bäder. Richtwert für die Dauer des Durchtränkens war, den Vorgaben von MULISCH und WELSCH (2010) zufolge, die Dicke der Gewebeproben. Demnach sollten Präparate mit einer Dicke von etwa 3 - 5 mm, wie sie gleichermaßen bei den Gelenkkapsel-Bioptaten vorlag, im ganzen zwei Stunden in flüssigem Paraffin verweilen. Schließlich wurden die Gelenkkapsel-Bioptate einzeln von Hand in 2 x 3 cm große Metallfrmchen ausgegossen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Gelenkkapsel-Proben mit ihrer senkrecht zur Oberfläche der Gelenkkapsel gelegenen Schnittkante senkrecht auf den Boden der Einbettform aufliegen, damit beim darauffolgenden Schneiden der Paraffinblöcke möglichst alle Schichten der Gelenkkapsel angeschnitten wurden. Zu guter Letzt erstarrten die Paraffinblöcke durch die Kühlung auf einer eisgekühlten Ablagefläche.

3.2.2.1.3. Schneidetechnik

Von den ausgehärteten Paraffinblöcken wurden mit einem Schlittenmikrotom (Jung Histoslides 2000R®, Fa. Leica Instruments GmbH, Nussloch, Deutschland) Schnitte mit einer Dicke von 4 µm angefertigt. Die so entstandenen Scheiben lagen zunächst in gestauchter und gewellter

Form vor und mussten zuerst durch schonendes Erwärmen im Wasserbad mit destilliertem Wasser bei rund 40 °C gestreckt werden. Anschließend konnten sie auf silanisierte Objektträger (HistoBond®, Firma Marienfeld, Lauda-Königshofen, Deutschland) gezogen werden. Objektträger, die für die immunhistochemischen Färbungen bestimmt waren, mussten beständig für die nachfolgenden Arbeitsschritte sein. Zur besseren Haftung der Schnitte auf dem Objektträger erwies es sich daher für außerordentlich nutzbringend, die Objektträger unmittelbar vor dem Aufziehen des Schnittes mit einem Klebemittel, hergestellt nach dem Patentrezept EP0872533A2 (HÖFLER, 1998) aus einem handelsüblichen Klebstoff (Pritt Bastelkleber®, Fa. Henkel KGaA, Düsseldorf, Deutschland) und Poly-L-Lysin (Fa. Sigma, Deisenhofen, Deutschland) im Mischungsverhältnis 1:1, zu beschichten. Verwendbare Schnitte mussten faltenfrei und ohne Luftblasen zwischen Schnitt und Glas sein. Zum Trocknen wurden die Schnittpräparate für mindestens 12 Stunden (bzw. über Nacht) in den Brutschrank bei etwa 37°C bis 45°C gegeben.

3.2.2.2. Färbetechniken

3.2.2.2.1. Entparaffinieren - Vorbereitung der Schnittpräparate

Färbelösungen bestehen aus gelösten, pulverförmigen Farbstoffen. Aufgrund dieser Voraussetzung müssen die Schnittpräparate vor den verschiedenen Färbeprozessen vollständig von ihrem Einbettmittel, dem hydrophoben Paraffin, befreit werden. Dafür wird das Lösungsmittel Xylol genutzt, das als Zwischenflüssigkeit zwischen hydrophilen und hydrophoben Substanzen dient. Man entparaffiniert unmittelbar vor jeder Färbung und nur so viele Präparate, wie viele im anschließenden Färbeprozess ohne Verzögerungen zwischen den einzelnen Färbeschritten gehandhabt werden können. Nur auf diese Weise ist ein Färbeergebnis von optimaler Qualität zu gewährleisten. Eine fehlerhafte Entfernung von Paraffin aus den Schnittpräparaten kann außerdem im Fall der Immunhistochemie zu Störungen im Färbemuster der nachfolgenden Immunreaktion führen (Färbeprotokoll nach DCS Innovative Diagnostic-Systeme, Hamburg, Deutschland) und die unspezifische Hintergrundfärbung erhöhen (Bier et al., 1995).

Entparaffiniert und rehydratisiert wurden die Gelenkkapsel-Schnittpräparate folgendermaßen:

- Xylol 2 x 10 Minuten
- 100% Ethanol 2 x 3 Minuten
- 96% Ethanol 1 x 3 Minuten
- 90% Ethanol 1 x 3 Minuten

- 80% Ethanol 1 x 3 Minuten
- 70% Ethanol 1 x 3 Minuten

Nachdem die Präparate entparaffiniert wurden, mussten sie in der absteigenden Alkoholreihe rehydratisiert werden. Anschließend verweilten sie für 1 - 2 Minuten in destilliertem Wasser. Danach waren die Schnittpräparate für die verschiedenen Färbelösungen bereit.

3.2.2.2. Histologische Übersichtsfärbungen

Als histologische Färbung im eigentlichen Sinn bezeichnet man die Art der Schnittfärbung, bei der ein Farbstoff, der in Lösung angeboten wird, an definierte Gewebestrukturen bindet (MULISCH und WELSCH, 2010). Von der Durchführung der Schnittfärbung her unterscheidet man progressive und regressive Techniken. Beim progressiven Färben lässt man die Schnitte so lange in der Farblösung, bis sie genügend gefärbt sind. Dabei kann man das Fortschreiten der Färbung von Zeit zu Zeit kontrollieren und nach Wunsch fortsetzen. Beim regressiven Färben hingegen wird der Schnitt zuerst überfärbt und dann der Überschuss der Farbe durch Auswaschen, das sogenannte Differenzieren, in einer geeigneten Flüssigkeit wieder entfernt. Färbezeiten richten sich nach Konzentration der Farbstofflösungen und nach der Färbetemperatur. Ebenso beeinflusst die Schnittdicke den Ablauf der Färbungen entscheidend (MULISCH und WELSCH, 2010).

Die verschiedenen histologischen Färbungen der Kniegelenkkapsel-Bioptate sollten zusätzlich zu den spezifischen, immunhistochemischen Antikörperreaktionen einerseits einen fundierten Überblick über die einzelnen histomorphologischen Strukturen der Kniegelenkkapsel des Hundes geben und andererseits im Vergleich zu gesunden Biopтата etwaige pathologische Veränderungen zu erkennen geben.

Es wurden vier verschiedene histologische Färbungen durchgeführt:

- Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)
- kombinierte Elastikafärbung nach WEIGERT (1898) und MASSON (1929) - GOLDNER (1938)
- Kombinierte WEIGERT (1898) - VOLKMANN-STRAUß (1934)
- Fibrinfärbung nach LADEWIG (1938)

Von jedem Biopstat wurden bei jeder dieser Färbungen mindestens drei Objektträger à zwei Schnitte angefertigt. Auf diese Weise konnte man die Färbungen an verschiedenen Präparaten zu einem Tier überprüfen und vergleichen.

3.2.2.2.1. Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Bei der Vielzahl an verschiedenen histologischen Färbungen, die im Laufe der letzten 120 Jahre entwickelt worden waren, hat sich unter anderem die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) neben den sogenannten Spezialfärbungen als Routine- und Übersichtsfärbung durchgesetzt. Sie ist wohl die älteste der Doppelfärbungen und lässt sich außerdem auf vielerlei Weise modifizieren (MAYER, 1920). Die Kerne werden dabei stets mit einer Hämatoxylin-Zubereitung progressiv und sehr stabil angefärbt. Danach erfolgt die regressive Gegenfärbung des Plasmas mit einem dafür geeigneten Farbstoff, für den im Fall der HE-Färbung der Kniegelenkkapsel-Präparate das standardmäßig verwendete Eosin gewählt wurde. Folgende Färbeanleitung für die HE-Färbung wurde verwendet (MULISCH und WELSCH, 2010):

1. Entparaffinierte Schnitte werden dem destillierten Wasserbad entnommen.
2. Färben der Kerne in 0,1%iger MAYER'S Hämatoxylin (5 Minuten)
3. Kurz spülen in destilliertem Wasser
4. Bläuen in lauwarmem Leitungswasser (5 Minuten)
5. Gegenfärbung des Gewebes in 1%iger wässriger Eosinlösung (3 Minuten)
6. Kurz spülen in destilliertem Wasser
7. Differenzieren in 70%igem Ethanol
8. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe (96%iger, 3 x 100%iger Alkohol, jeweils 3 Minuten)
9. Klären in Xylol
10. Eindecken der Schnittpräparate mit Deckgläschen (Firma Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland) und Einschlussmittel (Roti®-Histokitt, Fa. Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland)

3.2.2.2.2. Kombinierte Weigert-Masson-Goldner-Färbung

Für die differenzierte Bindegewebsdarstellung stehen in der Histologie verschiedene Färbungen zur Verfügung. Die Mehrzahl der Bindegewebsfärbungen gehört zu der Gruppe der sogenannten Trichromfärbungen, bei denen - wie schon die Bezeichnung aufzeigt - drei verschiedene Farbstoffe eingesetzt werden. Das Grundprinzip dieser Färbungen ist folgendes: Die Molekülgröße der eingesetzten Farbstoffe, elektrostatische Farbstoffbindungen und die Gewebetextur bestimmen, welche Struktur durch welchen Farbstoff angefärbt wird (LANG, 2006; MULISCH und WELSCH, 2010). Kleinere Farbstoffmoleküle dringen zwar schneller in

das Gewebe ein, größere Partikel jedoch sind im Stande, die kleineren wiederum zu verdrängen. Die Vorstellungen über die Färbemethode sind nicht bis ins Detail geklärt (MULISCH und WELSCH, 2010). Das Besondere der Trichromfärbungen ist jedoch, dass sie nicht nur zur Darstellung der Kollagenfibrillen dienen, sondern sie auch gegen Epithelgewebe und/oder Muskelgewebe differenzieren.

Mittels einer Trichromfärbung sind die kollagenen von den elastischen Fasern in ein und demselben Präparat zu unterscheiden. Dazu wurde die kombinierte WEIGERT-MASSON-GOLDNER-Färbung verwendet. Zum einen sollten mit der MASSON-GOLDNER-Färbung die kollagenen Fasern und zum anderen mit der Rezeptur nach WEIGERT (1898) die elastischen Fasern gefärbt werden.

Folgendes Färbeprotokoll wurde für die Kniegelenkkapsel-Proben verwendet:

1. Entparaffinierte Schnitte werden aus dem destillierten Wasserbad genommen.
2. Elastinfärbung in Resorcinfuchsin-Lösung (10 - 30 Minuten)
3. Auswaschen in Leitungswasser (1 Minute)
4. Mikroskopkontrolle: Elastische Fasern sollen violett auf rosa Hintergrund erscheinen.
5. Gegenfärbung der Kerne mit Kernechtrot-Aluminiumsulfat (5 - 10 Minuten)
6. Kurzes Spülen in Leitungswasser
7. Kurzes Spülen in destilliertem Wasser
8. Differenzierung des Resorcinfuchsin in 70 – 80%igem Ethanol
9. Kurzes Spülen in destilliertem Wasser
10. Färben des Zytoplasmas in Ponceau-Säurefuchsin (5 Minuten)
11. Differenzieren in 1%iger Essigsäure (5 Sekunden)
12. Beizen und Färben in Phosphorwolframsäure-Orange G (30 Minuten)
13. Differenzieren in 1%iger Essigsäure (5 Sekunden)
14. Färben des Gewebes in Lichtgrün (10 - 15 Minuten)
15. Differenzieren in 1%iger Essigsäure
16. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe (96%ig, 3 x 100%ig, jeweils 3 Minuten)
17. Klären in Xylol
18. Eindecken mit Histokitt und Deckglas

3.2.2.2.3. Kombinierte Weigert-Volkmann-Strauß-Färbung

Da sich in der kombinierten WEIGERT-MASSON-GOLDNER-Färbung die elastischen Fasern in einigen Präparaten farblich nicht gut von den kollagenen Fasern unterscheiden ließen, wurde zusätzlich die Färbung nach VOLKMANN-STRAUß verwendet.

Zur gleichzeitigen Darstellung von Elastin, Muskulatur und Kollagen etwa für die Unterscheidung von Gefäßwänden, empfehlen VOLKMANN und STRAUß (1934) ein an das HEIDENHAINsche Azan angelehntes Verfahren, bei welchem Resorcin-Gentaviolett zur Färbung des Elastins, Azokarmin G zur Färbung von Kern-Plasma-Muskeln und Naphtolgrün B zur Kollagenfärbung dienen. Zwischen den Färbungen wird mit 70 - 95%igem Alkohol und Wasser und mit gewechserter Phosphorwolframsäure behandelt. Der Einschluss erfolgt wie gewöhnlich nach stufenweiser Entwässerung in Alkohol.

3.2.2.2.4. Fibrinnachweis nach Ladewig

Die Färbung nach LADEWIG hat sich vor allem in der pathologisch-histologischen Diagnostik als gängige Färbemethode durchgesetzt. Sie erlaubt außer einer deutlichen Kollagenfärbung eine klar hervorgehobene Fibrinfärbung und weist somit auf pathologische Veränderungen hin. Die Färbemethode lässt sich an beliebig fixiertem Material durchführen und ist äußerst stabil. Sie liefert gleichmäßig und niederschlagsfreie Präparate mit sehr konstanten Resultaten. Das Gesamtbild gestaltet sich durch die Verfeinerung der Kontraste sehr übersichtlich (LADEWIG, 1989). Damit soll die Beurteilung pathologischer Gewebeeränderung im Sinne einer Entzündung erleichtert werden. Folgendes Färbeprotokoll wurde verwendet:

1. Entparaffinierte und rehydratisierte Schnittpräparate kommen aus dem destillierten Wasser
2. Färben der Kerne in WEIGERTs (1898) Eisenhämatoxylin (5 Minuten)
3. Kurzes Spülen in destilliertem Wasser (10 Sekunden)
4. Kurzes Spülen in Leitungswasser (10 Sekunden)
5. Beizen in 5%iger Phosphorwolframsäure (3 Minuten)
6. Kurzes Spülen in destilliertem Wasser (10 Sekunden)
7. Färbung in der LADEWIG-Lösung (4 Minuten)
8. Sehr kurzes Spülen in destilliertem Wasser

9. Entwässern in 96%igem Ethanol und weiter in der aufsteigenden Alkoholreihe (3 x 100%iger Ethanol)
10. Klären in Xylol
11. Eindecken mit Histokitt und Deckglas

3.2.2.2.3. Immunhistochemie

Seit den 1980er Jahren wird die klassische Histotechnik durch die Immunhistochemie ergänzt. Dabei sollen durch immunhistochemische Färbemethoden mittels Antikörpern antigene Strukturen von Zellen nachgewiesen werden (DENK, 1989). Der Nachweis von Zelleigenschaften beruht hier auf dem Prinzip der Antigen-Antikörper-Reaktion (Immun-), welches in der direkten Immunhistochemie mit einer enzymatischen Reaktion gekoppelt ist. Wo in der klassischen Histologie die Hauptbindungskräfte Ionenbindungen sind, welche saure Farbstoffe an basische Proteine binden, erfolgt in der direkten Immunhistochemie die Farbreaktion zum Beispiel durch einen Enzymnachweis nach Bindung eines Antikörpers an ein Antigen. Um einen Vergleich zwischen der Bindegewebsstruktur von gesunden und kranken Kniegelenkkapseln zu etablieren, sollte das Verteilungsmuster verschiedener Kollagentypen im Zielgewebe mittels unterschiedlicher Antigen-Antikörper-Reaktionen untersucht werden. Es wurden folgende Kollagen Typen zur Untersuchung ausgewählt, deren an canines Gewebe angepasstes Färbeprotokoll im Anschluss erläutert wird:

- Kollagen Typ I
- Kollagen Typ III
- Kollagen Typ IV
- Kollagen Typ VI
- Kollagen Typ X

Tabelle 1: Herstellerangaben zu den verwendeten Antikörpern

<i>Antikörper</i>	<i>gewonnen aus</i>	<i>Antigen gewonnen aus</i>	<i>reagiert mit</i>
Polyclonal rabbit anti-Collagen I antibody Abcam - ab34710	Kaninchenserum	humaner und boviner Plazenta	Mensch, Maus, Ratte, Rind, Ziege, Pferd

Polyclonal rabbit anti-Collagen III antibody Abcam - ab7778	Kaninchenserum	humaner und boviner Plazenta	Mensch, Maus, Ratte, Rind
Polyclonal rabbit anti-Collagen IV antibody Abcam - ab6586	Kaninchenserum	humaner und boviner Plazenta	Mensch, Maus, Ratte, Rind, Schwein
Polyclonal rabbit anti-Collagen V antibody Abcam - ab7046	Kaninchenserum	humanem und bovinem Pankreas	Mensch, Maus
Polyclonal rabbit anti-Collagen VI antibody Abcam - ab6588	Kaninchenserum	humaner und bovines Plazenta	Mensch, Maus, Ratte, Rind, Schwein, Hund, Kaninchen
Polyclonal rabbit anti-Collagen X antibody Abcam - ab58632	Kaninchenserum	Chondrosarkom-Zellen der Ratte	Mensch, Maus, Ratte, Rind, Kaninchen

Tabelle 2: Angaben zu den Konzentrationen der Antiseren mit den entsprechenden Empfehlungen zur Verdünnung und der optimierten Verdünnungen für die caninen Gelenkkapsel-Proben.

<i>Antikörper</i>	<i>Konzentration Antiserum</i>	<i>empfohlene Verdünnung</i>	<i>verwendete Verdünnung</i>	<i>Sekundär-Antikörper, Konzentration, Verdünnung</i>
Polyclonal rabbit anti-Collagen I antibody Abcam - ab34710	1,00 mg/ml	keine Angaben	1/50	Donkey anti-Rabbit IgG (Abcam), 0,5 mg/ml, 1/300
Polyclonal rabbit anti-Collagen III antibody Abcam - ab7778	1,00 mg/ml	1/1000	1/100	Donkey anti-Rabbit IgG (Abcam), 0,5 mg/ml, 1/300
Polyclonal rabbit anti-Collagen IV antibody Abcam - ab6586	1,00 mg/ml	1/500	1/20	EnVision+System-HRP labelled Polymer Anti Maus (Dako), ready to use
Polyclonal rabbit anti-Collagen V antibody Abcam - ab7046	1,02 mg/ml	1/500	1/50	Donkey anti-Rabbit IgG (Abcam), 0,5 mg/ml, 1/300
Polyclonal rabbit anti-Collagen VI antibody Abcam - ab6588	1,00 mg/ml	keine Angaben	1/100	Donkey anti-Rabbit IgG (Abcam), 0,5 mg/ml, 1/300

Polyclonal rabbit anti-Collagen X antibody Abcam - ab58632	unbestimmte Konzentration	keine Angaben	1/100 1/50 1/30	EnVision+System-HRP labelled Polymer Anti Maus (Dako), ready to use
--	------------------------------	------------------	-----------------------	--

3.2.2.2.3.1. Antikörper-Charakteristik

Die verwendeten Antiseren sind in der oben stehenden Tabelle (Tabelle 2) aufgeführt. Diese wurden dankenswerterweise von Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg, Klinikleiter der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin, zur Verfügung gestellt. Bei allen Antikörpern handelt es sich um polyklonale Antikörper, die laut Herstellerangaben für formalinfixierte Paraffinschnitte geeignet sind. Nur einer der Antikörper wurde vom Hersteller am Hund getestet. Die Auswahl der Antikörper richtete sich nach der Garantie seitens des Herstellers, dass keine Reaktivität mit den anderen Kollagentypen besteht, aber eine spezifische Reaktivität zum jeweiligen Kollagentypen der Säugetiere.

3.2.2.2.2. Differenzierung von Kollagen Typen in der caninen Kniegelenkkapsel

Die Antikörper, Seren und Reagenzien sind im Reagenzienverzeichnis (S. 230) aufgeführt.

Durchführung der Antikörper-Reaktion:

Die Schnitte wurden entparaffiniert und über die absteigende Alkoholreihe in Puffer überführt. Dabei verweilen die Schnitte in jeder Stufe nicht länger als drei Minuten, mit Ausnahme der beiden Xylol-Bäder, in welchen die Schnittpräparate für eine Dauer von 10 Minuten eingestellt wurden. Nach zweimaliger Spülung in TBS-Puffer für je 5 Minuten erfolgte die Epitop-Demaskierung. Dabei kam für die verschiedenen Antikörper eine der folgenden Methoden zur Anwendung:

- a. Für die Kollagen Typen I, III, V und VI wurden die Schnitte im Wasserbad (Firma Medax; Neumünster; Deutschland) für 35 Minuten bei 96°C in einem der folgenden Puffer erhitzt.
 - i. im Falle der Antikörper gegen die Kollagen Typen I, III und VI in 0,01M Citrat-Puffer pH 6,0,
 - ii. im Falle der Antikörper gegen die Kollagen Typen IV und V in der Retrieval Solution pH 6,0 von Dako (Hamburg, Deutschland).

Die Schnitte wurden anschließend, im heißen Puffer verbleibend, für 20 Minuten auf Raumtemperatur abgekühlt.

- b. Bei Kollagen Typ X wurde die Demaskierung für 3 Minuten in Trypsin/ EDTA bei 37°C durchgeführt.

Nach der Epitop-Demaskierung erfolgte zweimal eine Spülung in TBS bei Raumtemperatur über 5 Minuten. Die endogene Peroxidase-Aktivität des Gewebes, welche ohne Blockierung zu falsch positiven Signalen führen kann, wurde mit dem Peroxidase-Block aus 3%igem Wasserstoffperoxid in TBS unterbunden. Die Schnitte verweilten darin für 20 Minuten. Anschließend wurden die Schnitte 5 Minuten lang in TBS gespült. Um die Oberflächenspannung und die Hydrophobie der Schnittpräparate zu reduzieren, erfolgte ein weiterer Spülgang mit in TBS gelösten 0,01 %igem Tween 20 (Dako, Hamburg, Deutschland). Um Hintergrundfärbungen durch ladungsbedingte Bindungen von Primär- oder Sekundär-Antikörpern zu verhindern, erfolgte eine 20 minütige Blockierung solcher Bindungsstellen durch eine weitere Blockierungslösung, bestehend aus Inkubationspuffer A, mit 3% BSA (Sigma, Deisenhofen, Deutschland) und 3 % Normalserum derjenigen Tierart, in der der verwendete Sekundärantikörper erzeugt worden war. Bei Primärantikörpern aus dem Kaninchen wurde der Blockierungslösung noch 1 % Milch zugefügt, um eine etwaige Hintergrundfärbung besser abzudecken.

Anschließend erfolgte über Nacht bei 4°C (Kollagen Typ I, III, IV, V, VI) bzw. für eine Stunde (Kollagen Typ X) die Inkubation mit dem jeweiligen spezifischen Antikörper in folgenden Konzentrationen und mit dem jeweiligen Verdünnungsmittel:

- a. Polyclonal rabbit-anti-human Collagen I Antikörper, 1/50, verdünnt in Inkubationspuffer A
- b. Polyclonal rabbit-anti-human und anti-bovin Collagen III Antikörper, 1/100, verdünnt in Inkubationspuffer A
- c. Polyclonal rabbit-anti-human und anti-bovin Collagen IV Antikörper, 1/20, verdünnt in Antibody Diluent (Firma Dako, Hamburg, Deutschland)
- d. Polyclonal rabbit-anti-human und anti-bovin Collagen V Antikörper, 1/50, verdünnt in Inkubationspuffer A
- e. Polyclonal rabbit-anti-human und anti-bovin Collagen VI Antikörper, 1/100, verdünnt in Inkubationspuffer A
- f. Polyclonal rabbit-anti-rat Collagen X Antikörper, 1/100, verdünnt in Inkubationspuffer A + 0,5% Milch

Die Negativkontrollen wurden wie folgt inkubiert:

- i. Kollagen I, III, IV, V und VI:

- a) Kaninchen-IgG, 1/2000 bzw. 1/1000 (Kollagen Typ VI) in Inkubationspuffer A;

b) Inkubationspuffer A

ii. Kollagen X:

a) Kaninchen-Normalserum, 1/100 in Inkubationspuffer A + 1% Milch;

b) Inkubationspuffer A + 1% Milch

Nach zwei Spülvorgängen in TBS für je 5 Minuten erfolgte für 45 Minuten bei Raumtemperatur die Inkubation mit dem Sekundärantikörper, Donkey anti-Rabbit IgG-HRP 1/300 verdünnt in Inkubationspuffer A, außer bei den Kollagen Typen IV und X. Bei letzteren kam das EnVision+System-HRP labelled Polymer Anti Rabbit (Dako, Hamburg, Deutschland) zur Anwendung. Nach zwei Spülvorgängen für jeweils 5 Minuten in PBS erfolgte die Visualisierung mit einer Diaminobenzidin-haltigen Reaktionslösung für 10 Minuten im Dunklen. Nach einem letzten Spülvorgang in PBS für 5 Minuten wurden die Schnitte mit Hämalaun nach Mayer gegengefärbt (MULISCH und WELSCH, 2010). Im Fall der Doppelmarkierung der Kollagen Typen IV und VI wurde die erste Markierung vollständig durchgeführt, mittels des LinBlock® der erste Antikörper vom Schnitt abgelöst und nach Spülung fand der zweite Nachweis vollständig statt. Während für die erste Farbreaktion wurde das DAB verwendet wurde, wurde für den zweiten Nachweis Histogreen® benutzt.

3.2.2.3.3. Vorversuche und Kontrollen

Alle Vorversuche erfolgten sowohl am jeweils vom Hersteller vorgegebenen Kontrollgewebe einer ausgewiesenen Spezies (vorgegebene Positivkontrolle) als auch am selben Kontrollgewebe des Hundes (Positivkontrolle). Hierbei machte man sich das Prinzip der Kreuzreaktivität des jeweiligen Antikörpers mit dem Hund zu Nutze. Um sicher zu gehen, dass nur das bestimmte Kollagen markiert wurde, wurden die Positivkontrollen im Hinblick auf die Verteilung hinsichtlich der Menge und der Lokalisation der positiv markierten Strukturen bewertet und mit den Angaben des Herstellers sowie den Befunden der Literatur verglichen. Regelmäßig erfolgten doppelte Negativkontrollen sowohl unter Weglassung des primären Antikörpers als auch des sekundären Antikörpers, um spezifische Reaktionen zu detektieren. Damit konnten etwaige falsch-positive Färbungen durch immunologisch bedingte unspezifische Kreuzreaktionen oder durch sonstige Gewebewechselwirkungen der immunzytochemischen Reagenten ausgeschlossen werden. Weiterhin wurden die optimalen Verdünnungen für die Kollagennachweise am Hund ermittelt (siehe Tab. 3).

Tab. 3: Antikörper, Spezies und Gewebe, an dem die Positivkontrollen für die jeweiligen Primärantikörper durchgeführt wurden.

<i>Antikörper</i>	Positivkontrolle	
	<i>Spezies</i>	<i>Gewebe</i>
Polyclonal rabbit anti-Collagen I antibody Abcam - ab34710	Ratte	Leber
Polyclonal rabbit anti-Collagen III antibody Abcam - ab7778	Mensch	Haut
Polyclonal rabbit anti-Collagen IV antibody Abcam - ab6586	Mensch	Haut
Polyclonal rabbit anti-Collagen V antibody Abcam - ab7046	Maus	Pankreas
Polyclonal rabbit anti-Collagen VI antibody Abcam - ab6588	Ratte Schwein	Hoden Niere
Polyclonal rabbit anti-Collagen X antibody Abcam - ab58632	Maus Schwein Mensch	Rippe Niere Haut

Um die Reaktionsstärke zu vergleichen, wurden die Untersuchungen an vergleichbaren Gewebeproben vom Hund und den vom Hersteller vorgeschlagenen Positivkontrollen vorgenommen (Abbildungen 1 - 10). Trotz mehrfacher Versuche, das Rezept für den Antikörper gegen Kollagentyp X zu etablieren, konnte keine sichere Reaktion nachgewiesen werden. Auch unterschiedliche Positivkontrollen (siehe Tabelle 3) konnten keinen eindeutigen Nachweis liefern.

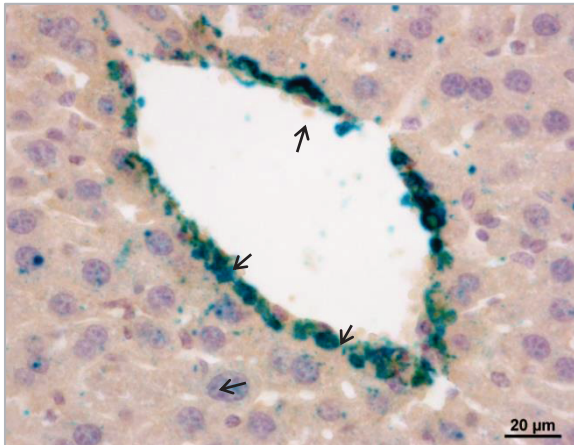


Abbildung 1: Leber Ratte. **Kollagen Typ I** (grünblau) in Kupfferschen Sternzellen (↖) um die Zentralvene und in der Wand der Lebersinusoiden; Hämatoxylin.

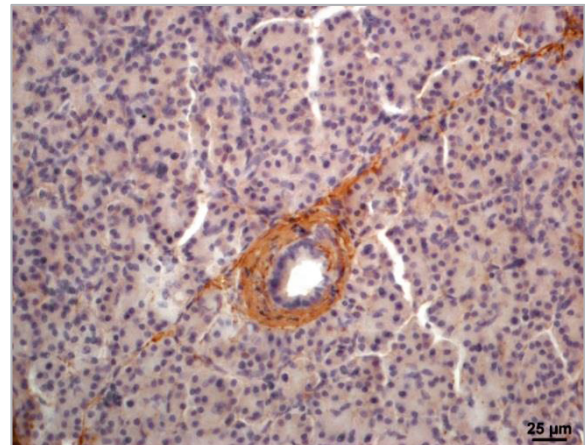


Abbildung 2: Leber Hund. **Kollagen Typ I** (braun) in Kupfferschen Sternzellen um einen Gallengang und entlang der Lebersinusoiden; Hämatoxylin.

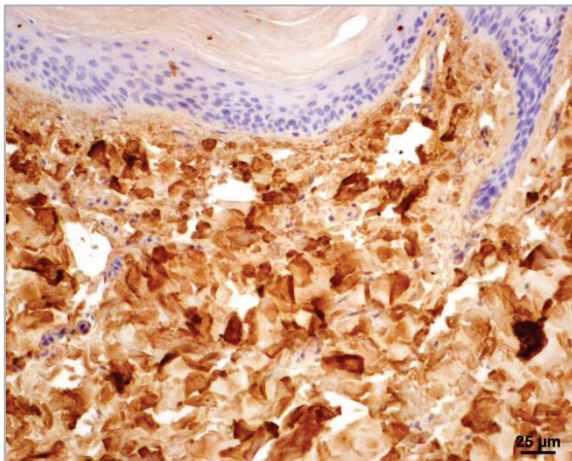


Abbildung 3: Haut Mensch. **Kollagen Typ III** (braun) in der extrazellulären Matrix der Dermis; Hämatoxylin.

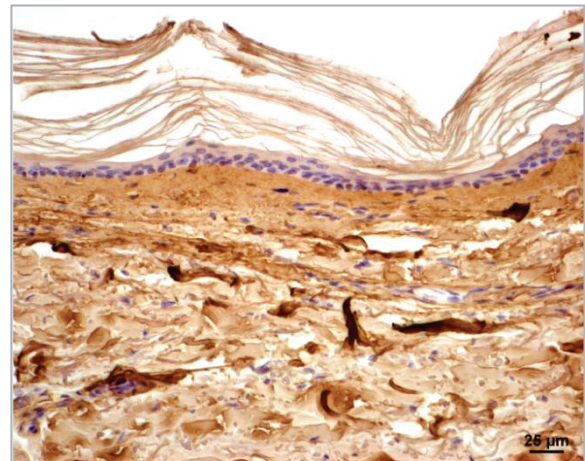


Abbildung 4: Haut Hund. **Kollagen Typ III** (braun) in der extrazellulären Matrix der Dermis; Hämatoxylin.

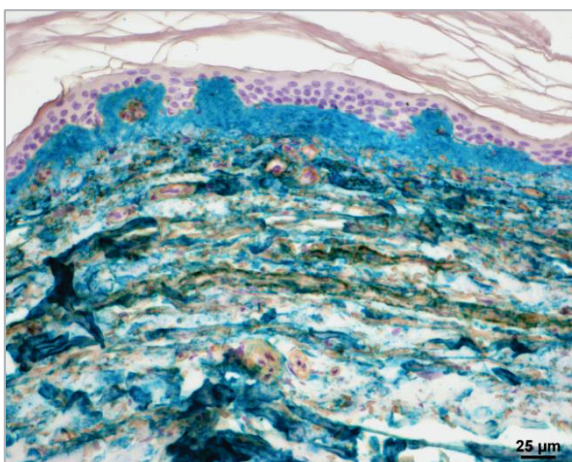


Abbildung 5: Haut Mensch. **Kollagen Typ IV** (hellbraun) an der Basalmembran der Gefäße; **Kollagen VI** (blau); Hämatoxylin.

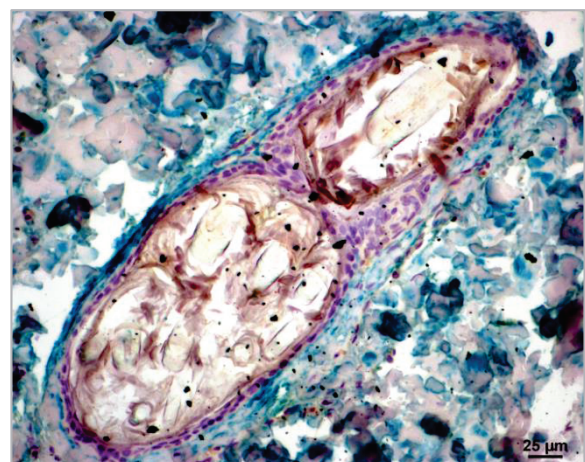


Abbildung 6: Haut Hund. **Kollagen Typ IV** (braun) an der Basalmembran zweier Gefäße; **Kollagen VI** (blau); Hämatoxylin.

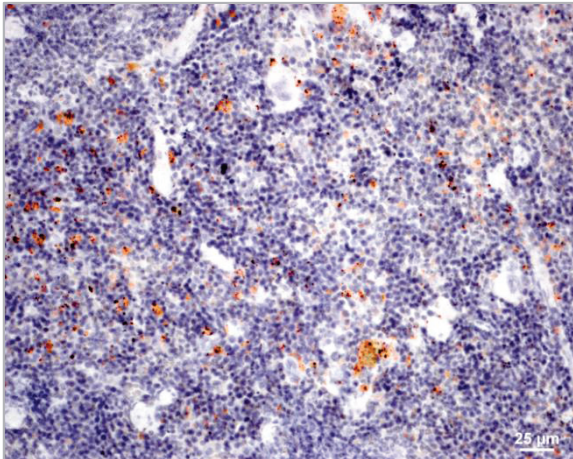


Abbildung 7: Pankreas Maus. **Kollagen Typ V** in den Sternzellen (braun-orange); Hämatoxylin.

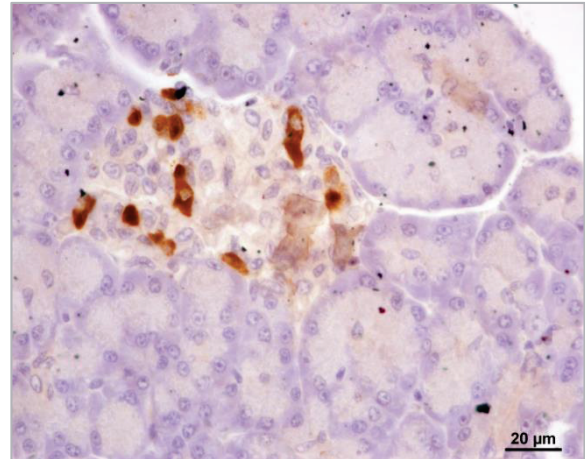


Abbildung 8: Pankreas Hund. Pankreatische Sternzellen mit synthetisiertem **Kollagen Typ V** (braun); Hämatoxylin.

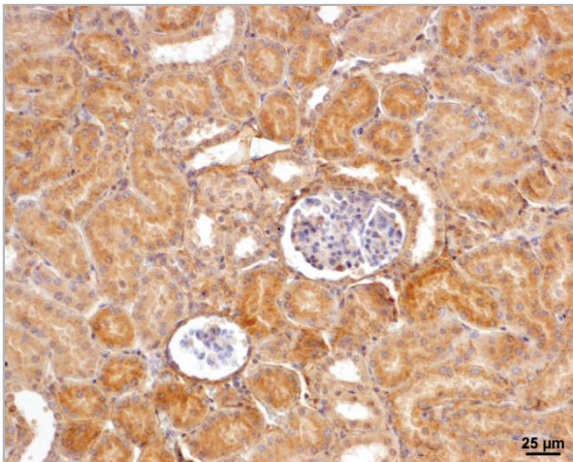


Abbildung 9: Niere Schwein; Basalmembran-assoziiertes **Kollagen Typ VI** (braun) in Glomerula und Tubuli renales; Hämatoxylin.

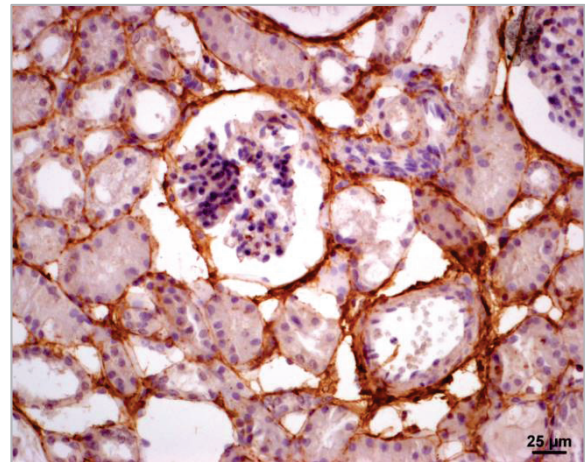


Abbildung 10: Niere Hund; **Kollagen VI** (braun) um die Glomerula und Tubuli renales; Hämatoxylin.

3.2.2.2.3.4. Beurteilung der Antigendarstellung

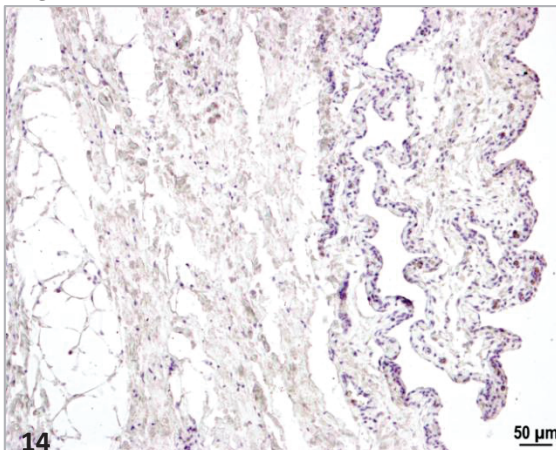
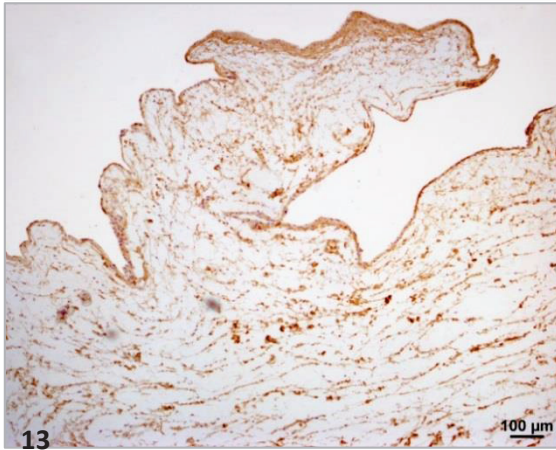
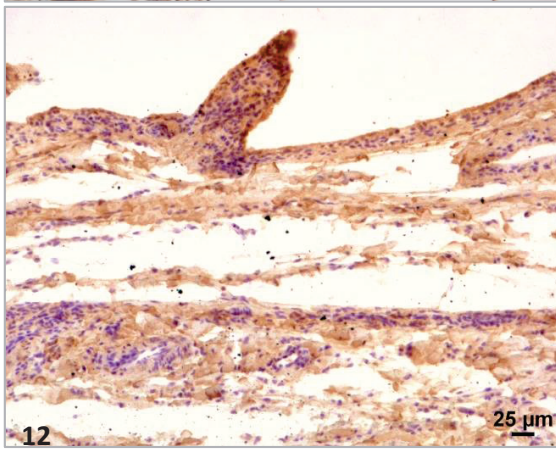
Bei der semiquantitativen Beurteilung der immunhistochemischen Untersuchung der Kollagentypen I, III, IV, V und VI galten folgende Kriterien: als negativ wurde eine Probe erachtet, wenn keine oder eine nur unspezifische Farbreaktion nachzuweisen war. Letztere liegt vor, wenn z. B. Muskelfaserbündel ebenfalls eine leicht hellbraune Farbreaktion zeigen (Score 0 = kein Vorkommen; Abb.14). Bei den spezifisch angefärbten Präparaten (nur die kollagenen Fasern stellen sich dar) wird zwischen einer gering- (Score = 1; Abb.13), einer mittel- (Score = 2; Abb. 12) und einer hochgradigen (Score = 3; Abb.11) farblichen Markierung von Faserbündeln des entsprechenden Kollagenfasertyps unterschieden. Auf das Vorkommen der Kollagentypen in den caninen Gelenkkapsel-Proben wurde anhand einer

semiquantitativen histologischen Analyse der Antigendarstellung rückgeschlossen. Die semiquantitative Untersuchung lieferte ordinalskalierte Befunde, die sich nach inhaltlichen Kriterien in einer Rangfolge ohne messbare Abstände zwischen den Werten ordnen lassen. In diesem Zusammenhang wurde sowohl die Verteilung der verschiedenen Kollagentypen in den einzelnen Messbereichen (qualitative Beurteilung) als auch das Maß ihres Vorkommens (quantitative Beurteilung) berücksichtigt. Die Befunde sind in Tabelle 4 festgelegt:

Tabelle 4: Nachgewiesene Antigene, Lokalisation, Beurteilung des Nachweises

<i>Nachgewiesene Antigene</i>	<i>Lokalisationen der Beurteilung</i>	<i>Beurteilung des Nachweises</i>	
semiquantitativ ermitteltes Vorkommen: · Kollagen Typ I · Kollagen Typ III · Kollagen Typ IV · Kollagen Typ V · Kollagen Typ VI	proximales Stratum fibrosum	Score = 0: negativ	
	mittleres Stratum fibrosum		
	distales Stratum fibrosum		
		proximales Stratum subsynoviale	Score = 1: positiv
		mittleres Stratum subsynoviale	Score = 2: mäßig positiv
		distales Stratum subsynoviale	Score = 3: stark positiv
		proximales Stratum synoviale	
		mittleres Stratum synoviale	
		distales Stratum synoviale	

In den aufgelisteten neun Lokalisationen in Tabelle 4, wurden mindestens sechs verschiedene Einzelbeurteilungen pro Gelenkkapsel erhoben. Der Mittelwert daraus wurde für die weiterführende statistische Auswertung verwendet.



Abbildungen 11 - 14: Semiquantitative Scores für das Vorkommen der untersuchten Kollagen-Typen. Abbildung 11 zeigt eine stark positive (Score = 3), Abbildung 12 eine mäßig positive (Score = 2) und Abbildung 13 eine gering positive Markierung von Kollagen Typ I. Abbildung 14 zeigt seine negative Markierung (Score = 0). Gegenfärbungen nach Mayers Hämalaun.

3.2.3. Morphometrie

Aus den 78 Kniegelenkkapselproben entstanden insgesamt 1.404 histologische und 1.600 immunhistochemische Schnittpräparate, die zur Auswertung kamen. Zur Verifizierung der Befunde wurden für die histologische Untersuchung je drei Objektträger à zwei Schnittpräparate pro Färbung angefertigt. In der Immunhistochemie wurden zu jeder Antigen-Antikörper-Reaktion am Zielgewebe eine Positivkontrolle und eine entsprechende Negativkontrolle hergestellt.

Die Beurteilung erfolgte mit dem Mikroskop Axioskop 40 der Firma Zeiss (Zeiss, Oberkochen, Deutschland) mit verschiedenen Objektiven (1,25x, 5x, 10x, 20x, 40x). Die Ergebnisse der Schnittpräparate wurden mittels der Software NIS-Elements AR® der Firma Nikon (Chiyoda, Tokio, Japan) quantifiziert und fotodokumentarisch belegt (Nikon, Düsseldorf, Deutschland). Im folgenden Abschnitt werden die zu quantifizierenden Strukturen und die Methode ihrer Quantifikation beschrieben.

3.2.3.1. Erklärungen zu den einzelnen Untersuchungen

Die histologischen Schnittpräparate dienten mehreren Dickenmessungen in 90 Grad zur Gelenkkapsel-Innenoberfläche im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt der Gelenkkapselproben. Hierfür war eine Definition der einzelnen Schichten mit ihren Strukturmerkmalen notwendig, welche in Abschnitt 4.3.1. aufgeführt wird. Die dort angegebenen histomorphologischen Kriterien dienten zur Unterscheidung zwischen dem Stratum synoviale, dem Stratum subsynoviale und dem Stratum fibrosum im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt der Gelenkkapsel. Weiterhin erfolgten anhand der histologischen Färbungen Zell-Zählungen in der Deckzellschicht des Stratum synoviale und Längenmessungen entlang der Gelenkinnenoberfläche bezüglich der Ausbildung von Zotten. Außerdem waren die histologischen Färbepreparate notwendig für die Beurteilung der Fibrinablagerungen in der extrazellulären Matrix und die Beurteilung der kollagenen Fasern im Allgemeinen. Tabelle 5 listet die Merkmale auf, die jeweils an der Hämatoxylin-Eosin- (HE-), der LADEWIG-, der WEIGERT-MASSON-GOLDNER- und der VOLKMANN-STRAUß-Färbung ermittelt wurden.

Tabelle 5: Histomorphologische Befunde und die jeweilige(n) Färbung(en) anhand welcher sie erhoben wurden

Anzahl der Deckzellreihen im Stratum synoviale, proximal	
Anzahl der Deckzellreihen im Stratum synoviale, mittig	
Anzahl der Deckzellreihen im Stratum synoviale, distal	
Oberflächenlänge Zottenabschnitt	
entsprechende Gerade zum gemessenen Zottenabschnitt	
Durchschnittliche Zottenlänge, mindestens 6 Zotten	
Kapseldicke proximal	
Kapseldicke mittig	Färbung nach VOLKMANN-STRAUß,
Kapseldicke distal	Färbung nach WEIGERT-MASSON-GOLDNER,
	Färbung nach LADEWIG,
	HE-Färbung
Dicke Stratum fibrosum proximal	
Dicke Stratum fibrosum mittig	
Dicke Stratum fibrosum distal	
Dicke Stratum subsynoviale proximal	
Dicke Stratum subsynoviale mittig	
Dicke Stratum subsynoviale distal	
Dicke Stratum synoviale proximal	
Dicke Stratum synoviale mittig	
Dicke Stratum synoviale distal	
Flächenanteil der kollagenen Fasern im Str. fibrosum, proximal (in %)	Färbung nach VOLKMANN-STRAUß
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. fibrosum, mittig (in %)	

Flächenanteil kollagene Fasern im Str. fibrosum, distal (in %)	
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. subsynoviale, proximal (in %)	
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. subsynoviale, mittig (in %)	
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. subsynoviale, distal (in %)	Färbung nach VOLKMANN-STRAUß
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. synoviale, proximal (in %)	
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. synoviale, mittig (in %)	
Flächenanteil kollagene Fasern im Str. synoviale, distal (in %)	
Flächenanteil an Fibrinablagerung in der Gelenkkapsel, proximal (in %)	
Flächenanteil an Fibrinablagerung in der Gelenkkapsel, mittig (in %)	Färbung nach LADEWIG
Flächenanteil an Fibrinablagerung in der Gelenkkapsel, distal (in %)	
Lokalisierung der Fibrinablagerungen in den drei Abschnitten	

Bezüglich der **Zottenoberfläche** wurde nach Längenmessung der Oberflächenkontur der Deckzellschicht des Str. synoviale (Abb. 15, orange Linie) eine parallel zur Innenoberfläche der Gelenkkapsel gedachte Gerade vermessen (Abbildung 15, rote Gerade) und mit den beiden Werten der Faktor für die Oberflächenvergrößerung berechnet (Oberflächenlänge Zottenabschnitt / entsprechende Gerade = Oberflächenvergrößerungsfaktor). Die durchschnittliche Zottenlänge errechnete sich aus sechs Messungen für jeden Fall.

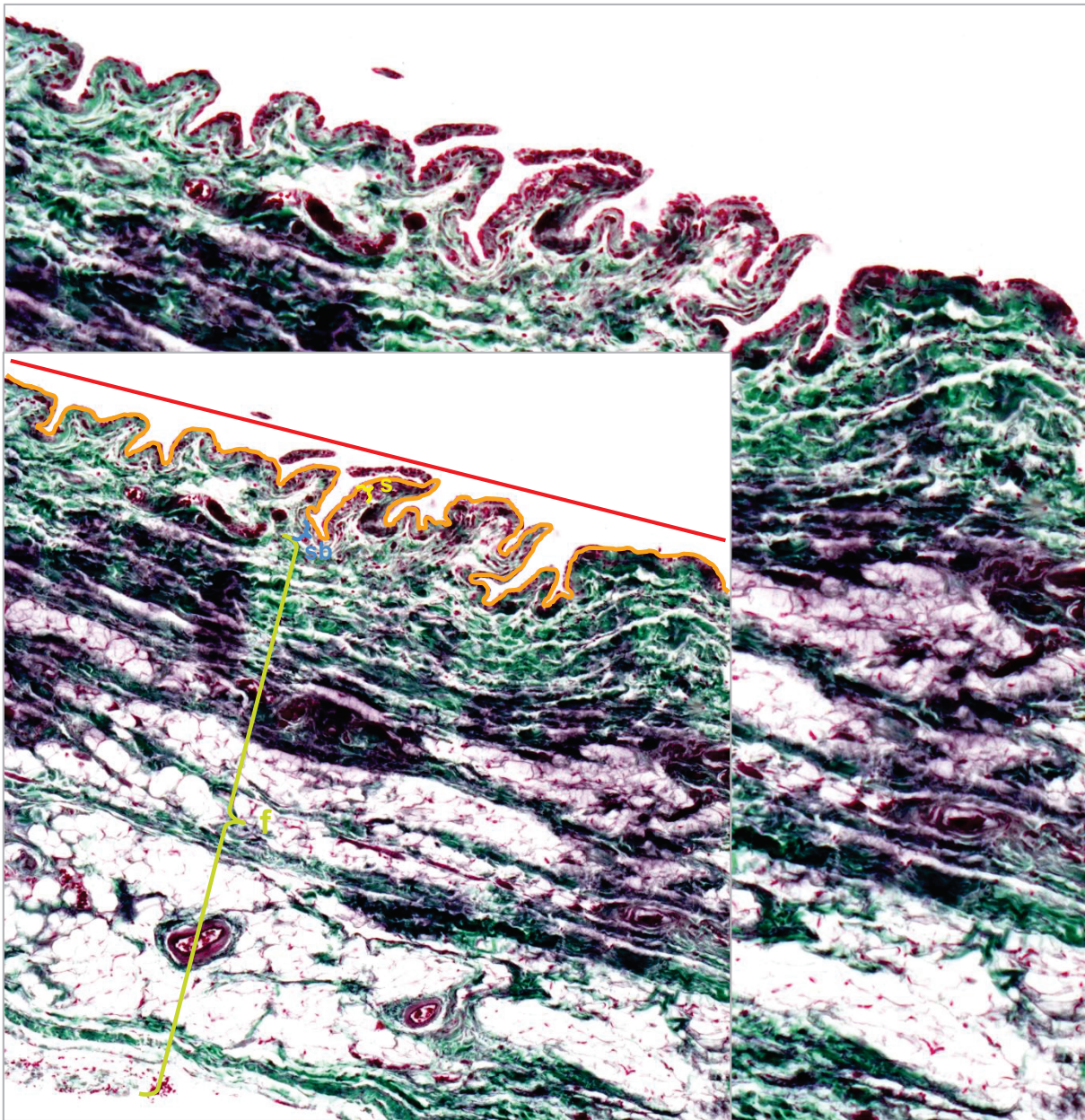


Abbildung 15: Längenmessungen an der Gelenkinnenoberfläche: Anhand der gemessenen Länge der Oberflächenkontur eines Zottenabschnittes (ZL, orange Linie) und der entsprechenden Gerade dazu (G, rote Linie) wurden der Oberflächenvergrößerungsfaktor berechnet ($OFV = ZL / G$). Dickenmessungen: Das die Gelenkhöhle auskleidende Stratum synoviale (**s**) ist zellreich und schließt sich dem gut vaskularisierten Stratum subsynoviale (**sb**) an. Die äußerste Schicht stellt das an Kollagenfasern (grün) reiche Stratum fibrosum (**f**) dar. Färbung nach VOLKMANN-STRAUß, 10-fache Vergrößerung.

Die **Flächenanteile (in %)** der **kollagenen Fasern** konnten ausschließlich an der VOLKMANN-STRAUß-Färbung gemessen werden und zwar mittels eines spezifischen Schwellenwertes für die in einem dunklen Grün dargestellten kollagenen Fasern (Abb. 16). Dieser Schwellenwert wurde zuvor festgelegt. Mit dem Bildanalyse-Programm NIS-Elements® wurden die prozentualen Flächenanteile der Kollagenfasern im gesamten Bildausschnitt durch eine automatische Farberkennung (Inlay in Abb. 16) definierter Grünanteile quantifiziert (Abb. 16, rote Fläche). Die Gesamtfläche des Bildausschnittes bei einer 10fachen Vergrößerung betrug 0,0554 mm² (55.3981 µm²). Die Messung wurde an sechs unterschiedlichen Bildausschnitten im ausgewählten Messbereich wiederholt. Der jeweilige Mittelwert daraus wurde für die nachfolgenden Berechnungen verwendet.

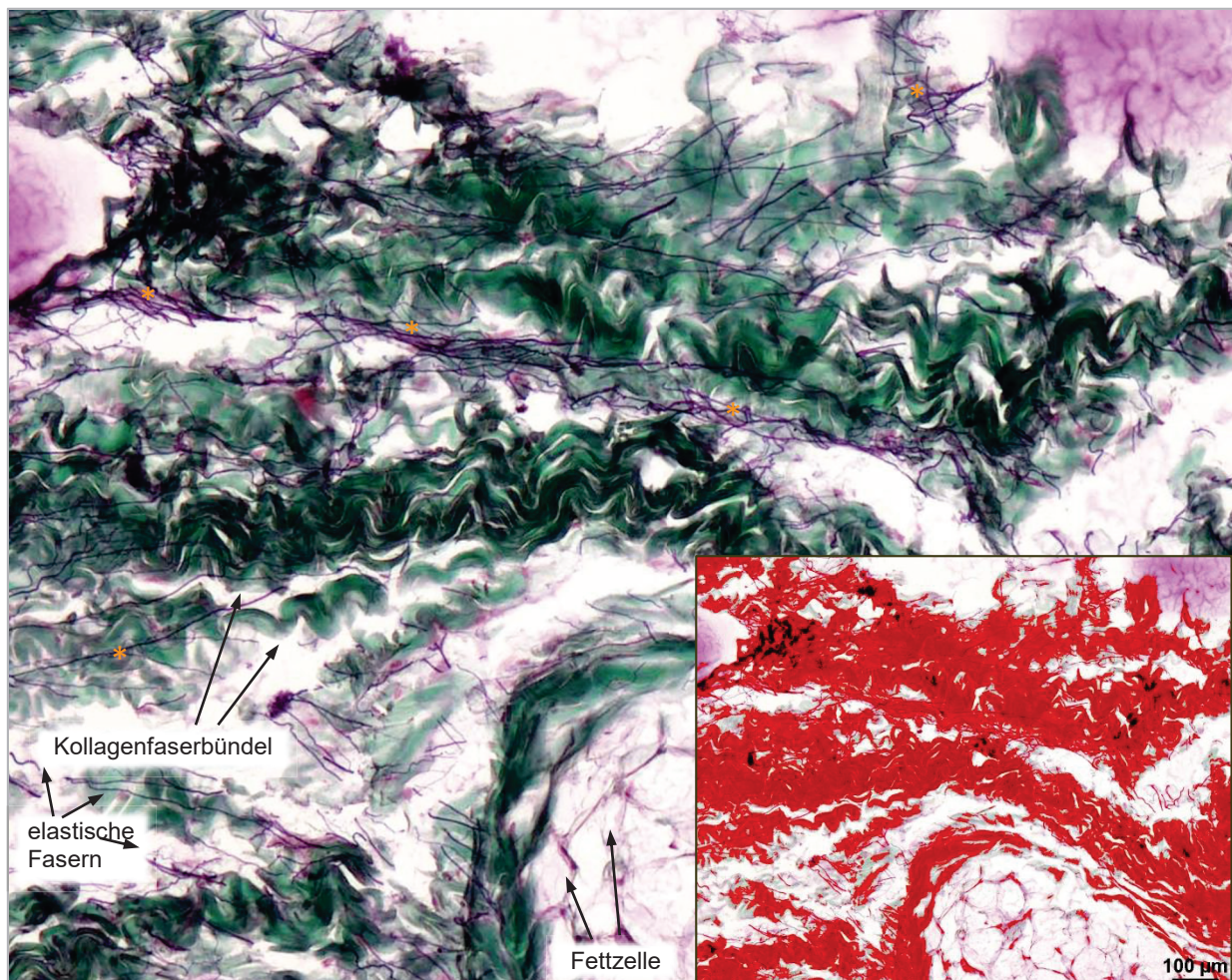


Abbildung 16: Kollagene Fasern (grün) und elastische Fasern (*) im Stratum fibrosum einer caninen Kniegelenkkapselprobe. Das Bildanalyse-Programm NIS-Elements® markiert die erkannten kollagenen Fasern rot und berechnet anschließend ihren Flächenanteil (in %) am gesamten Bildausschnitt. Färbung nach VOLKMANN-STRAUß; 10-fache Vergrößerung.

Mit der **LADEWIG-Färbung** als typische Trichromfärbung, erscheint **Fibrin** jeden Alters leuchtend zinnberrot (Abbildung 17). Selbst das Auffinden kleiner Fibrinmengen war anhand des guten Kontrastes zum umliegenden, blau gefärbten Bindegewebe (Abbildung 17) mit der automatischen Farberkennung durch das Bildanalyse-Programm NIS-Elements® der Firma Nikon (Chiyoda, Tokio, Japan) unproblematisch und eine Interpretation war immer eindeutig möglich. Auf diese Weise wurde der Fibringehalt für jeden Fall quantifiziert. Die Flächenanteile der Fibrinablagerungen am gesamten Bildausschnitt wurden in Prozent (%) wiedergegeben. Somit ergab sich für jeden Fall ein quantitativer Wert, der die Menge des extravasalen Entzündungsmaterials Fibrin in der Probe wiedergab.

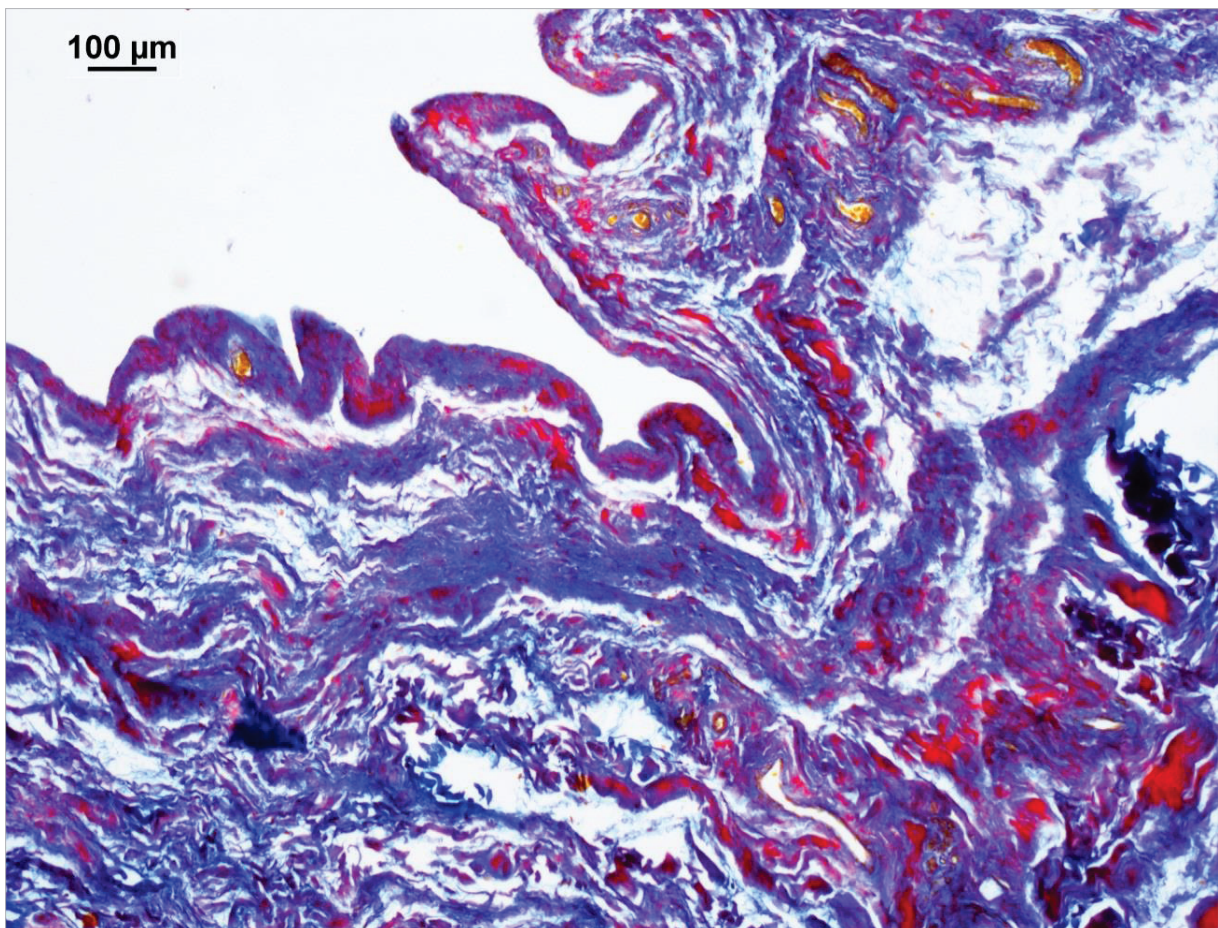


Abbildung 17: Schnittpräparat einer Kniegelenkkapselprobe eines Hundes, der wegen einer Femurfraktur operiert wurde. Mit dem Bildanalyse-Programm NIS-Elements® erfolgte die Farberkennung der lila bis rot gefärbten Fibrinablagerungen. Anschließend berechnete das Programm den Flächenanteil des Fibrins am Gesamtbild (in %). Bindegewebe (blau), Erythrozyten (gelb-orange); Färbung nach LADEWIG.

3.2.4. Statistische Methoden

Die Daten wurden mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics® (Armonk, Vereinigte Staaten) Version 22 für Windows ausgewertet. Der Kruskal-Wallis-ANOVA mit Posthoc-Test und Bonferroni-Korrektur wurde für die Beurteilung der signifikanten Unterschiede und Korrelationen zwischen den Messwerten und den verschiedenen Tiergruppen verwendet. P-Werte kleiner oder gleich 0,001 werden dabei als hochgradig signifikant anerkannt, bis 0,01 als mittelgradig, bis 0,05 als gering signifikant und bei Werten größer als 0,05 handelt es sich um nicht signifikante Unterschiede. Für die deskriptive Statistik wurden Tabellen aufgestellt. Boxplots, Säulen- oder Balkendiagramme sowie Flächendiagramme dienen der Veranschaulichung der ermittelten Ergebnisse.

4 ERGEBNISSE

4.1 Signalement der Patienten

Rassegruppenverteilung

Die Hunde der verschiedenen Rassen und Mischlingsrassen wurden in vier Gruppen eingeteilt (Abb. 18).

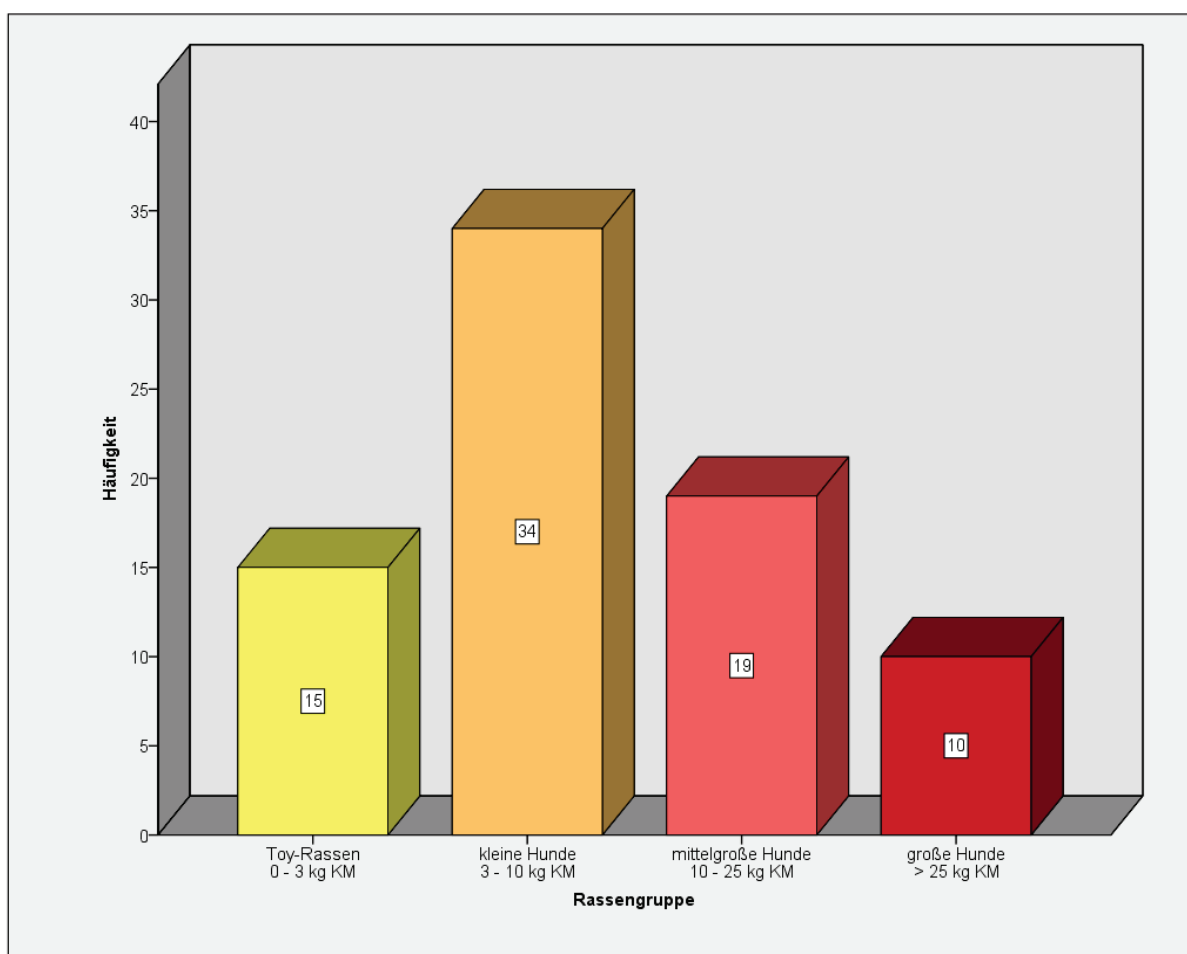


Abbildung 18 : Rassegruppenverteilung in der Stichprobe

Die Verteilung der Rassen in Bezug auf die verschiedenen Erkrankungen ist der Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Rasseverteilung der Tiere und die Erkrankung

Rassengruppe	Rasse	Patellaluxation (PL)	Kreuzbandruptur (KBR)	PL mit KBR	Femurfraktur, Kontrollen
		Fallanzahl (n)			
Toy-Hunde	Chihuahua	10	0	0	1
	Chihuahua-Mischling	0	1	0	0
	Russkiy Toy	1	0	0	0
	Prager Rattler	2	0	0	0
kleine Hunde	Rehpinscher	1	0	0	0
	Rehpinscher-Mischling	1	0	0	0
	Yorkshire Terrier	5	0	1	0
	Yorkshire Terrier-Mischling	1	0	0	0
	Malteser	2	0	1	0
	Bolonka Zwetna	2	0	0	0
	Shih Tzu	0	1	0	0
	Pekingese	1	0	0	0
	Chinesischer Schopfhund	1	0	0	0
	Cavalier King Charles Spaniel	2	0	0	0
	Zwergpudel	2	0	0	1
	Boston Terrier	1	0	0	0
	West Highland White Terrier	3	0	1	0
	Mischling < 10 kg	6	0	0	1
mittelgroße Hunde	Shetland Sheepdog	1	0	0	0
	Shetland Sheepdog-Mischling	1	0	0	0
	Französische Bulldogge	1	0	0	0
	Tibet Terrier	1	0	0	0
	Tibet Terrier-Mischling	0	1	0	0
	Beagle	0	1	0	0
	Border Collie	1	0	0	0
	Collie-Mischling	0	1	0	0
	Basset fauve de Bretagne	1	0	0	0
	Shar Pei	2	0	0	0
Podenco Canario-Mischling	1	0	0	0	

	Mischling 10 - 20 kg	5	1	1	0
große Hunde	DSH-Mischling	1	0	0	0
	Boxer	0	2	0	0
	Akita Inu	1	0	0	0
	American Staffordshire Terrier	1	0	0	1
	Kaukasischer Owtscharka-Mix	0	1	0	0
	Leonberger	0	1	0	0
	Deutsche Dogge	0	1	0	0
	Mischling > 20 kg	1	0	0	0

Altersverteilung

Bei der Operation und Probenentnahme waren die Tiere zwischen 4 Monate und 15 Jahre alt. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 4,72 Jahre. Im Median waren die Tiere 4,00 Jahre alt.

Tabelle 7 gibt eine Übersicht der Patienten, ihrem jeweiligen Krankheitsbild und ihrer Altersklasse wieder.

Tabelle 7: Altersverteilung der Patienten nach Erkrankungen

Erkrankung	Alter der Patienten (Jahre)				
	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Anzahl
Patellaluxation (PL)	0,50	15,00	4,22	3,50	59
Kreuzbandruptur (KBR)	2,50	12,00	6,00	4,50	11
PL mit KBR	4,50	10,00	7,31	7,38	4
Femurfraktur, Kontrollen (FX, KO)	0,30	15,00	5,70	3,75	4

PL = Patellaluxation, KBR = Kreuzbandruptur, FX = Femurfraktur, KO = Kontrollen

50% der Tiere (n = 39) waren zwischen 2,00 und 6,88 Jahre alt und 25 % (n = 19,5) waren jünger als 2 Jahre, dabei waren 6 Patienten (7,69 %) jünger als ein Jahr alt. Der jüngste Patient war ein 3,6 Monate alter Mischling, der wegen einer Femurfraktur operiert werden musste. Die beiden ältesten Patienten waren ein Chihuahua, der wegen Altersschwäche euthanasiert

werden musste und ein Mischling unter 10 kg Körpergewicht, der wegen einer Patellaluxation operiert wurde.

Verteilung der Gewichtsklassen

Zur besseren Übersicht bezüglich des Körpergewichts in der Studienpopulation wurden die Tiere in 10 Klassen mit einer jeweiligen Spannweite von 5 kg gegliedert, wie aus Abbildung 19 zu ersehen ist.

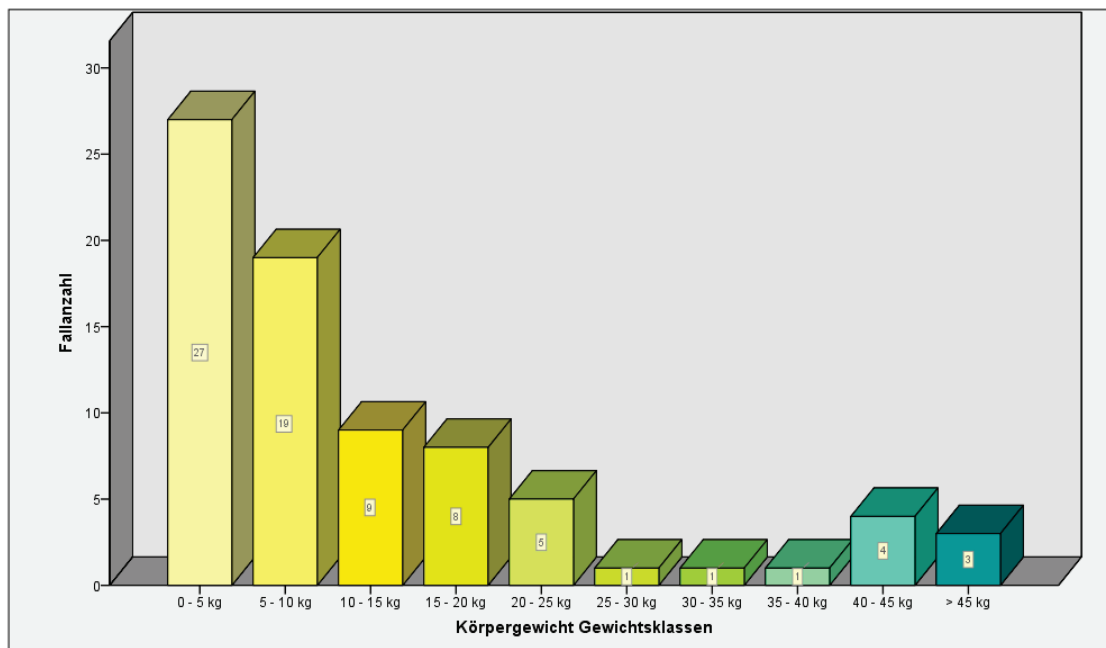


Abbildung 19: Die Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gewichtsklasse

34,62 % der Patienten ($n = 27$) waren bis zu 5 kg schwer. Davon waren 14,10 % ($n = 11$) Chihuahuas bzw. ein Chihuahua-Mischling (1,28 %). Andere Rassen dieser Gewichtsklasse waren Rehpinscher, Yorkshire Terrier, Russkiy Toy, Prager Rattler, Bolonka Zwetna, Malteser, Chinesischer Schopfhund und Pekinese. 24,36 % der Patienten wogen zwischen 5 kg und 10 kg, wie Cavalier King Charles Spaniel, Boston Terrier, Pudel, Shih Tzu, West Highland White Terrier und der Shetland Sheepdog. Gewichtsklasse 3 (10 - 15 kg KGW) zählte 9 Patienten (11,54 %) mit dem Beagle, Tibet Terrier sowie der Französischen Bulldogge, und zu Klasse 4 (15 - 20 kg KGW) gehörten 8 Patienten (10,26 %) mit dem Border Collie, Basset fauve de Bretagne und dem Shar Pei. Zwischen 20 und 25 kg (Klasse 5) schwer waren 5 Patienten (6,41 %). In die Gewichtsklassen 6 (25 - 30 kg KGW; Boxer), 7 (30 - 35 kg KGW; Deutscher Schäferhund-Mischling), 8 (35 - 40 kg KGW; Kaukasischer Owtscharka-Mischling) fiel jeweils nur ein Patient (1,28 %) ein. Zu den schwersten Gewichtsklassen gehörten 7 Patienten. Sie

waren zwischen 40 und 45 kg schwer (n = 4, 5,13 %, Akita Inu, American Staffordshire Terrier, Boxer) oder waren über 45 kg schwer (n = 3, 3,85 %, Leonberger und Deutsche Dogge). Aus Abbildung 20 ist die Verteilung der Gewichtsklassen und die Erkrankung zu ersehen.

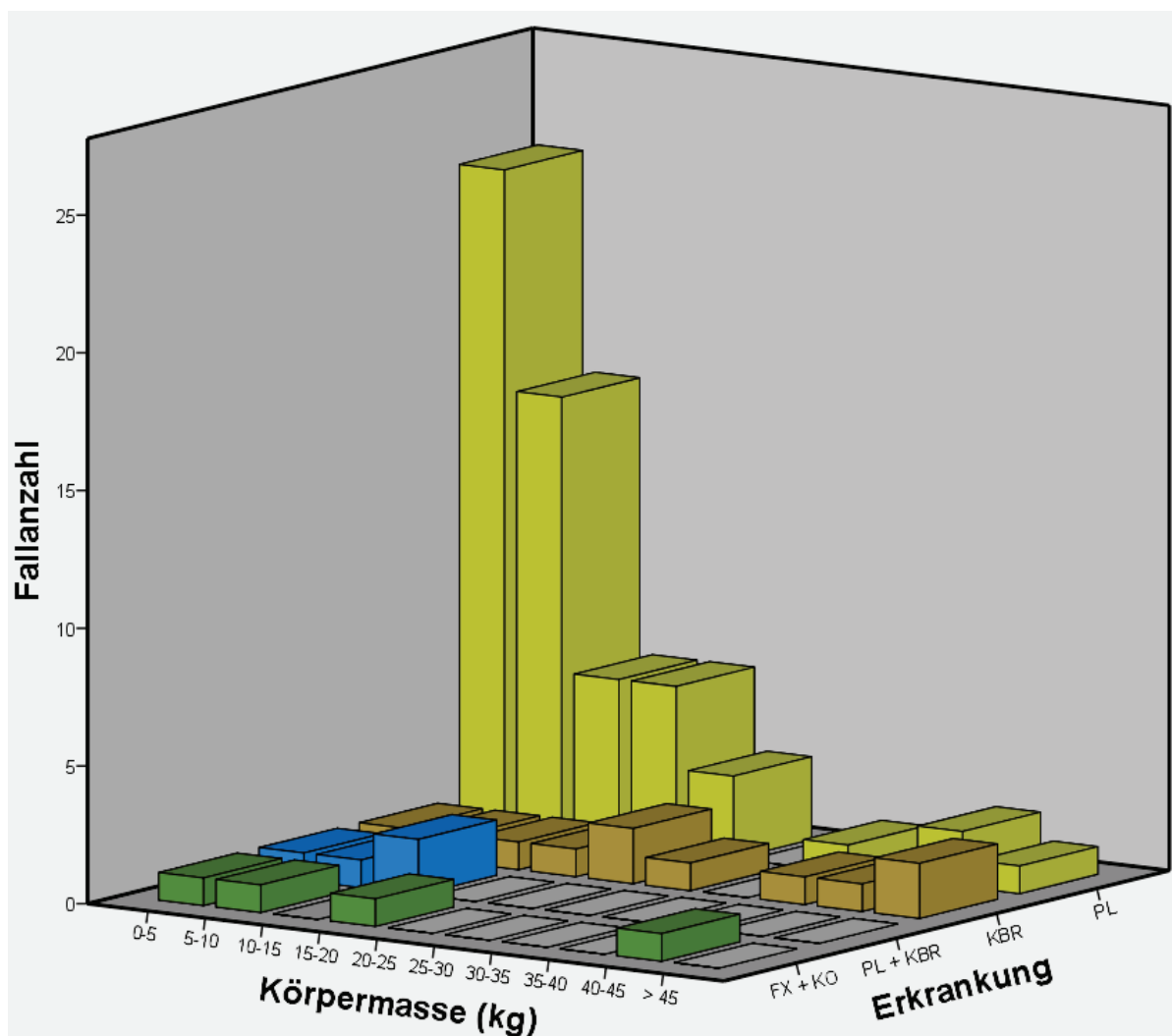


Abbildung 20: Gewichtsklassen und Verteilung der Erkrankungen (PL = Patellaluxation, KBR = Kreuzbandruptur, FX = Femurfraktur, KO = Kontrollen).

Geschlechterverteilung

43 Hunde waren männlich und 35 weiblich. 10 (28,57 %) der männlichen Tieren und 16 (37,21 %) der weiblichen waren kastriert. Bezüglich der verschiedenen Krankheitsbilder der Patienten war keine Geschlechtsdisposition für die jeweilige Erkrankung zu beobachten (Tab. 8).

Tabelle 8: Anzahl, Geschlecht und Erkrankung

Geschlecht	Fallanzahl			
	PL	KBR	PL mit KBR	FX, KO
weiblich	19	5	1	2
männlich	20	4	0	1
weiblich kastriert	13	1	2	0
männlich kastriert	7	1	1	1
Insgesamt	59	11	4	4

PL = Patellaluxation, KBR = Kreuzbandruptur, FX = Femurfraktur, KO = Kontrollen

Rüden (n = 27) wie Hündinnen (n = 32) waren von der Patellaluxation annähernd gleichermaßen betroffen. 6 der Patienten mit Kreuzbandruptur waren weiblich und 5 männlich. Jeweils ein Tier davon war kastriert. Je 2 der 4 Hunde mit Femurfraktur waren weiblich oder männlich (1 kastriert).

4.2 Ergebnisse des klinischen und orthopädischen Untersuchungsgangs

Erkrankungen

Es wurden 78 Gelenkkapselproben für diese Studie untersucht. 71 Hunde wurden wegen einer Lahmheit der Hintergliedmaße vorgestellt. 5 Hunde davon wurden wegen der Lahmheit der anderen Seite später wieder vorgestellt. Somit gelangten insgesamt 76 Proben nach einem operativen Eingriff zur Untersuchung, während 2 Proben post mortem entnommen wurden. Eine Patellaluxation wurde bei 59 Fällen (74 %) festgestellt (Tab. 9) und eine Kreuzbandruptur 11-mal (16 %). 4 Patienten (5 %) litten sowohl an einer Patellaluxation als auch einer Kreuzbandruptur. 2 Proben (2,5 %) wurden im Zuge der operativen Versorgung einer distalen Femurfraktur entnommen. In 2 Fällen (2,5 %) stammten die Proben von toten Tieren. Einer davon starb multimorbid im hohen Alter (Chihuahua, 15 Jahre, männlich kastriert), bei dem anderen (American Staffordshire Terrier, 1,5 Jahre, weiblich) wurde ein nicht operabler Darmverschluss festgestellt. Bei beiden wurden die Proben unmittelbar post mortem entnommen.

Tabelle 9: Erkrankung, Anzahl der Patienten und Probenanzahl

Erkrankung	Probenanzahl (n)	Prozent (%)
Patellaluxation (PL)	59	76
Kreuzbandruptur (KBR)	11	14
PL mit KBR	4	5
Femurfraktur, Kontrollen	4	5
Insgesamt	78	100

Bei den Fällen mit Patellaluxation (n = 59, 75,64%) bestand die Erkrankung in 28 Fällen (47,46 %) einseitig und in 31 Fällen (52,54 %) beidseitig (Abb. 21). Die Kontrollgruppe umfasste 15 Tiere (19,23 %) in zwei Untergruppen, mit 11 (14,10 %) Kreuzbandruptur (KBR) Patienten und 4 Hunden (5,13 %) (2 Femurfrakturen, 2 wegen eines Ileus und wegen Altersschwäche eingeschlaferte Hunde). Eine Sondergruppe bildeten 4 Hunde (5,13 %) mit gleichzeitiger Patellaluxation und Kreuzbandruptur.

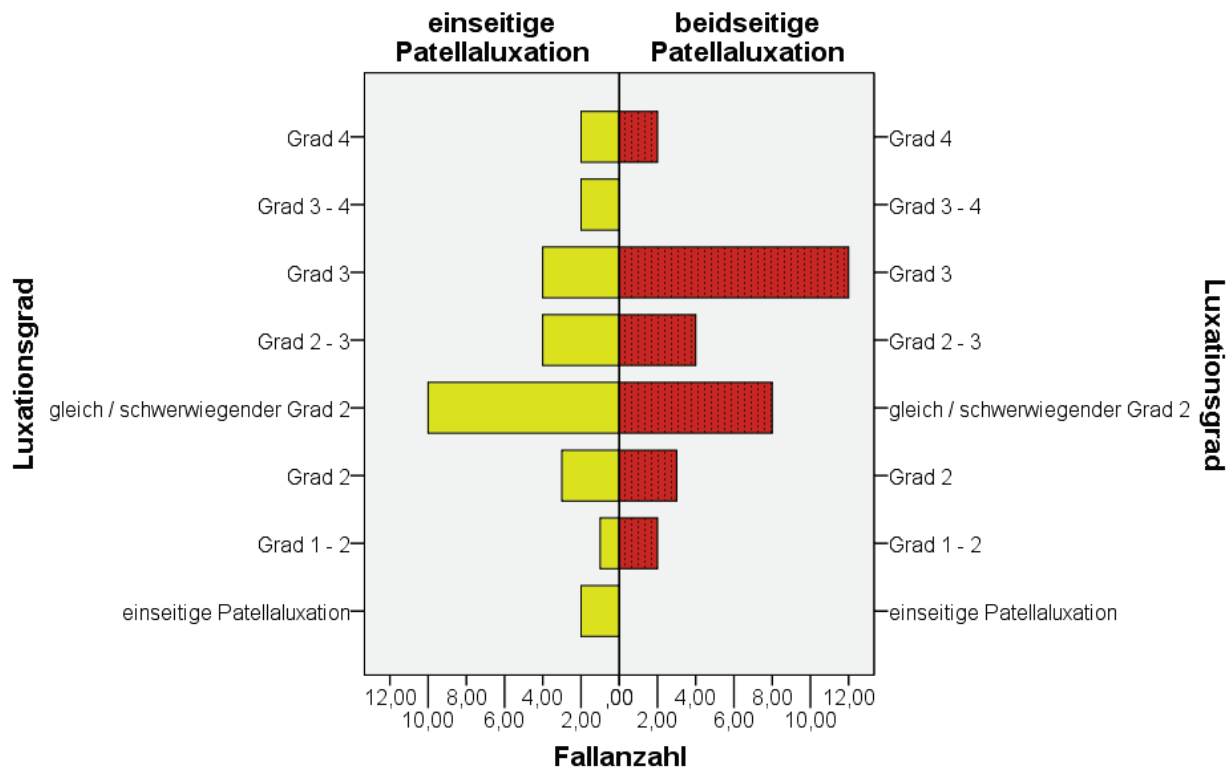


Abbildung 21: Patellaluxation, uni- oder bilateral, Luxationsgrad

Luxationsgrade

Bei den 59 Fällen war das Ausmaß der Luxation verschieden. Häufigste diagnostizierte Grade, die zur Operation führten, waren Grad 2, 3 und 4. Die Diagnose war ausgeprägt Untersucherabhängig. In der Reihenfolge der Häufigkeit bestand bei 18 Hunden (30,51 %) eine Grad 2 Luxation, die aber nur in 6 Fällen (10,17 %) von allen Untersuchern diagnostiziert wurde. 16-mal wurde Grad 3 (27,12 %) und 4-mal (6,78 %) Grad 4 diagnostiziert und operativ versorgt. Selten wurden Patienten mit einer Patellaluxation Grad 1 ($n = 2$; 3,39 %) vorgestellt. Insgesamt 13 (22,03 %) weitere Hunde hatten Luxationsgrade zwischen 1 - 2 ($n = 3$), 2 - 3 ($n = 8$) und 3 - 4 ($n = 2$).

Lahmheitsdauer / Krankheitsverlauf

Bei Erstvorstellung in der Klinik lahmten die Patienten seit mindestens einem Tag oder schon seit Monaten. Wegen kurz andauernder Funktionsstörung (1 - 2 Tage) wurden 8 Tiere (10,26 %) in der Klinik vorgestellt. Bei 4 dieser Hunde wurde nur eine Patellaluxation, 2-mal eine Femurfraktur und 1-mal ein Kreuzbandriss mit luxierter Kniescheibe diagnostiziert.

Ein weiterer Patient aus dieser Gruppe litt zudem an einem chronischen Darmverschluss und wurde deswegen euthanasiert (Abb. 22).

Bei 7 Tieren (8,97 %) setzte die Lahmheit akut ein, bestand aber schon bei Vorstellung seit 3 - 14 Tagen. vorgestellt. Sechs davon litten nur an der Patellaluxation und bei einem bestand zusätzlich eine Kreuzbandruptur. Weitere 8 Patienten (10,26 %) hatten die Funktionsstörungen seit 15 - 30 Tagen, sieben davon wegen der Patellaluxation und bei einem war zudem das vordere Kreuzband rupturiert. Weitere 7 Hunde lahmten seit 31 - 90 Tagen, 5-mal nur wegen einer Patellaluxation und 2-mal war auch das vordere Kreuzband gerissen (Abb. 22). Mehr als 90 Tage andauernde Funktionsausfälle hatten 26 Tiere (33,33 %). 21 davon nur wegen der Patellaluxation, bei drei bestand eine Kreuzbandruptur und bei weiteren 2 Fälle ein Kreuzbandriss mit luxierter Kniescheibe. Bei 20 Patienten (25,64 %) konnten zur Lahmheitsdauer vom Tierhalter keine Angaben gemacht werden. 2 Kontrolltiere wurden nicht wegen einer Lahmheit vorgestellt.

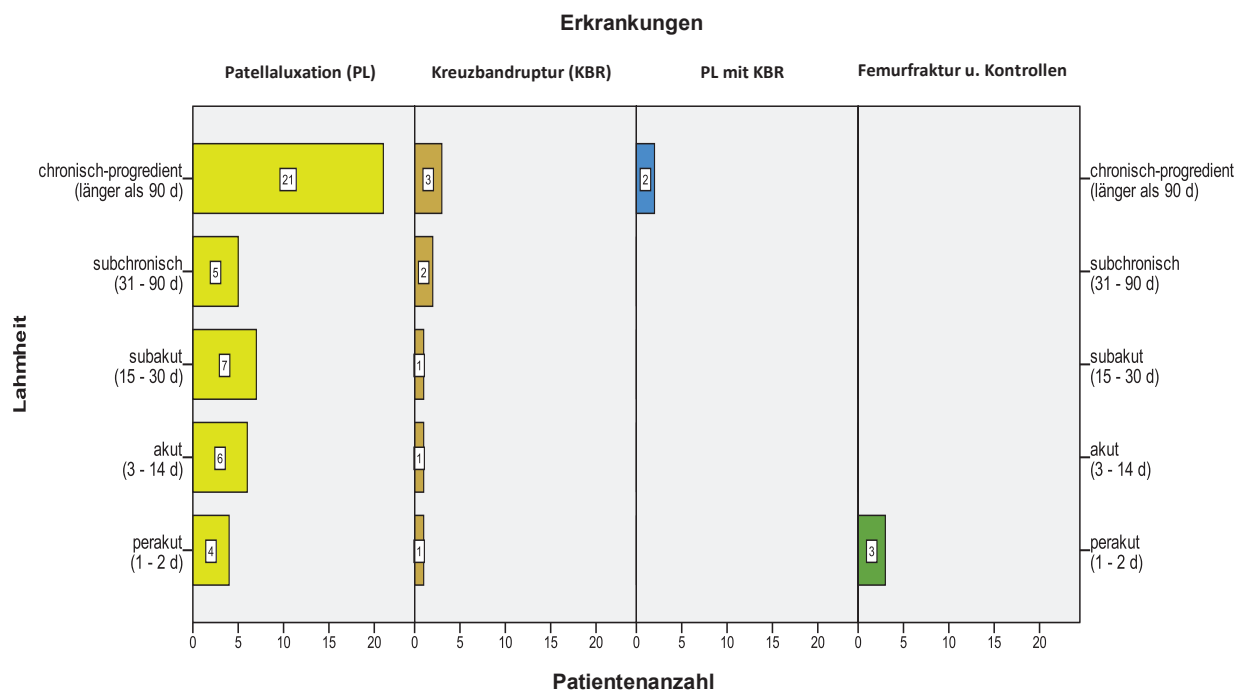


Abbildung 22: Anzahl der Patienten: nur mit Patellaluxation (gelb), nur mit Kreuzbandruptur (ocker), mit Patellaluxation und Kreuzbandriss (blau), mit Femurfraktur (grün).

4.3 Histologische Ergebnisse

Die histologischen Färbungen und immunhistochemischen Nachweismethoden dienen der Darstellung unterschiedlicher Strukturen in den 78 Gelenkkapsel-Biopsaten, auf welche in den folgenden Kapiteln eingegangen wird.

4.3.1 Morphologie der Kniegelenkkapsel des Hundes

Die Kniegelenkkapsel auf dem histologischen Schnitt lässt sich in einen proximalen Abschnitt mit Anschnitt des Musculus quadriceps femoris, einen mittleren, deutlich verjüngten Abschnitt und einen distalen Abschnitt unterteilen. Der Musculus vastus lateralis des Musculus quadriceps femoris strahlt in das proximale Stratum fibrosum ein. Seine meistens im Querschnitt angeschnittenen Muskelfaserbündel färben sich in der VOLKMANN-STRAUß-Färbung dunkelrot-violett und lassen sich somit von den umliegenden, dunkelgrün gefärbten und streng parallel angeordneten Kollagenfaserbündeln der Gelenkkapsel unterscheiden (Abb. 23). Mit diesem Befund konnte der proximale (Abb. 23a) von den anderen beiden Abschnitten (Abb. 23b und 23c) klar abgegrenzt werden. Die Fibrozyten sind hier von runder bis ovoider Gestalt und ordnen sich im Kollagenfasernetz des Stratum fibrosum ein. Neben dichten Strängen aus Kollagenfaserbündeln, die die Gelenkkapsel in proximo-distaler Richtung durchziehen, kommt im proximalen Abschnitt der Gelenkkapsel ebenso häufig ein lockeres Bindegewebe in Form von gut abgrenzbaren Fettzell-Arealen in unterschiedlichem Ausmaß vor. Diese sind in unregelmäßigen Abständen zwischen den Kollagenfasersträngen eingebaut und enthalten oft Arterien und Venen. Anschnitte von Zotten waren vorrangig im proximalen Abschnitt der Gelenkkapsel zu sehen (Abb. 23a). Zweitrangig kamen Zotten in geringerem Ausmaß und Ausdehnung auch im distalen Gelenkkapsel-Abschnitt vor. Der mittlere Bereich war so gut wie immer frei von Zotten (Abb. 23b). Es gab kein Präparat, wo Zotten ausschließlich im mittleren Bereich vorkamen. Villi und Plicae synoviales sind apikal ebenso mit einer Deckzellschicht mit unterschiedlichen Anzahlen an Deckzellagen versehen wie zotten- und faltenfreie Areale. Daran grenzt eine dünne bindegewebige Schicht des Stratum synoviale an. Das bindegewebs- und gefäßreiche Stratum subsynoviale verläuft im Zentrum der Fortsätze und bildet ihren basalen Abschluss. Der Übergang vom proximalen zum mittleren Abschnitt ist von zunehmender Verflechtung und Verdichtung der Kollagenfasern gekennzeichnet. Der mittlere Abschnitt stellt den schmalsten der drei Abschnitte dar. Gefäße kommen hier in geringer Anzahl vor und die Fibrozyten sind in der Regel von spindelförmiger Gestalt. Der distale Abschnitt, der sich meistens schmäler als der proximale Abschnitt darstellt, ist ebenso wie im proximalen Abschnitt häufig mit einer Anhäufung von Fettzellen durchsetzt, die mit einer vermehrten Anzahl von Gefäßen einhergeht (Abb. 23c).

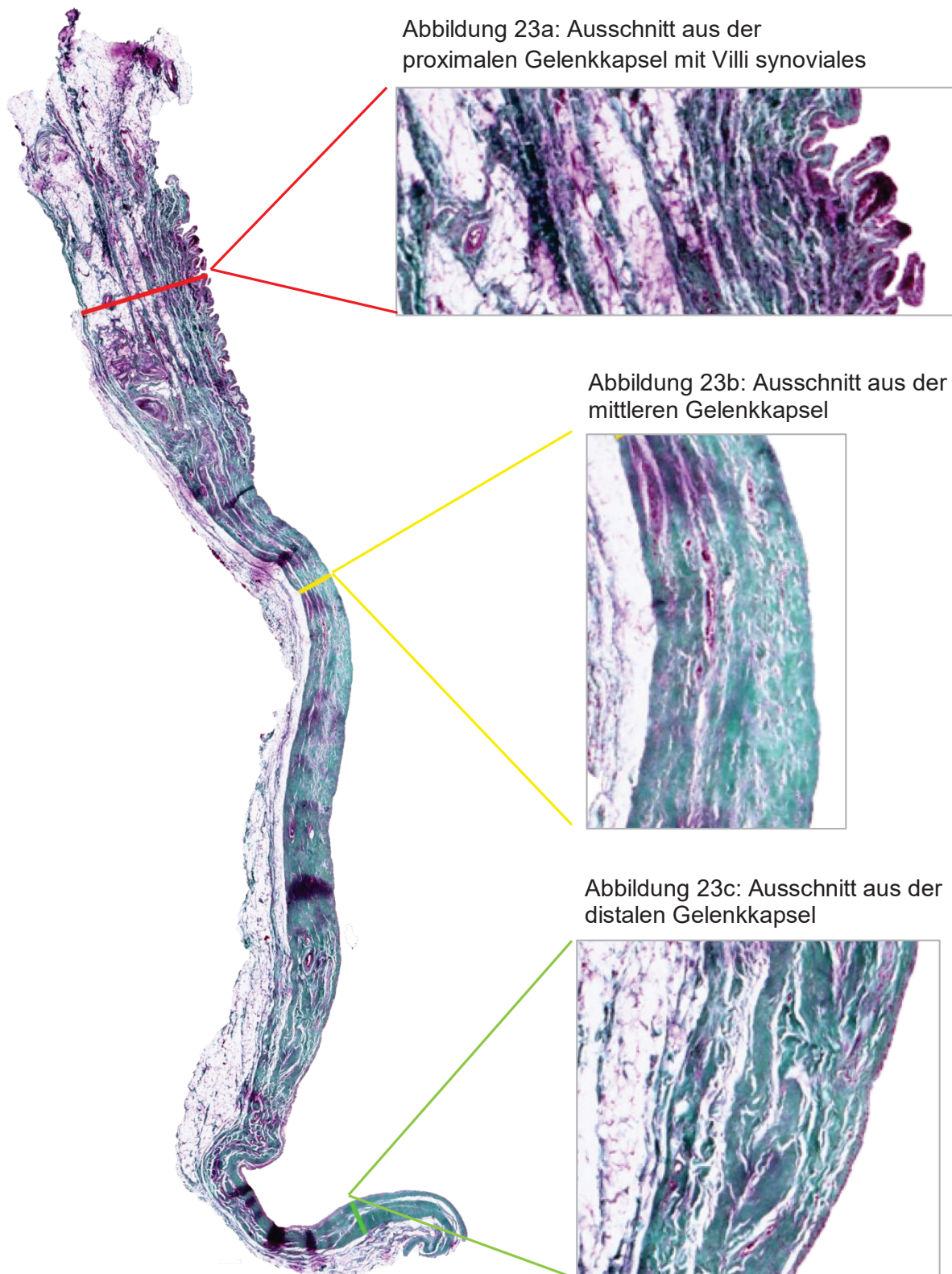


Abbildung 23: Kniegelenkkapsel eines Hundes mit Patellaluxation; Dicken des proximalen (rot), mittleren (gelb) und distalen (grün) Abschnitts; Färbung nach VOLKMANN-STRAUß; 1,25-fache Vergrößerung (Gelenkkapselprobe in toto), 5-fache Vergrößerung (Ausschnitte).

Schichten der Kniegelenkkapsel

Das Stratum synoviale ist die innere Auskleidung der Gelenkkapsel und durch seine zellreiche Deckzellschicht charakterisiert, welche im nachfolgenden Abschnitt eingehend erklärt wird. An die synoviale Deckzellschicht schließt sich nach außen das Stratum subsynoviale an. Es zeichnet sich durch sein gut vaskularisiertes und kollagenfaserhaltiges Bindegewebe aus. Venolen und Arteriolen durchziehen hier ein Netzwerk aus feinen und schmalen Kollagenfaserbündeln und gesellen sich gerne zu vereinzelt Fettzellen, mit denen sie bis in die die fingerförmigen Plicae synoviale vorragen. Außerdem sind hier regelmäßig elastische Fasern zu finden. Im außen anliegenden Stratum fibrosum sind die Kollagenfasern hingegen das Hauptcharakteristikum und kommen dort in deutlich dickeren Faserbündeln vor als im benachbarten Stratum subsynoviale. Diese zellarme und faserreiche Schicht beinhaltet im proximalen Abschnitt eine Fettzell-reiche Region, die dem retropatellaren Fettkörper zuzuordnen ist. Fettzellen kommen in kleineren Mengen auch im distalen Abschnitt und selten im mittleren Abschnitt der Gelenkkapsel vor. Häufig sind dort auch Gefäße und Nerven lokalisiert und ordnen sich zwischen dem dichten Kollagenfasernetz dieser Schicht ein.

4.3.2 Metrische Ergebnisse an der Kniegelenkkapsel

4.3.2.1 Deckzellschicht

Die Deckzellschicht bildet den Abschluss der Gelenkkapselinnenoberfläche und ist in allen drei Abschnitten der Gelenkkapsel vorhanden. Sie besteht aus dicht nebeneinander liegenden polygonalen Zellen mit heterochromatischem Zellkern. In der VOLKMANN-STRAUß-Färbung zeigen diese Zellen ein rosa gefärbtes Zytoplasma, während sich der Zellkern in einem sattem Rot-Violett darstellt. Im proximalen Abschnitt sind sie rund bis oval und säumen meist in 3 - 4 Lagen die Zottenoberfläche (Abb. 24 A; Tab.10). Im mittleren Abschnitt liegen sie meist in 2 - 3 Lagen - stellenweise auch einlagig - vor (Abb. 24 B; Tab.10). Hier sind sie oft von abgeplatteter Gestalt (Abb. 24 B). Im distalen Bereich ähneln sie denen im proximalen Bereich und kommen dementsprechend auch meistens in 3 - 4 Lagen vor (Tab.10).

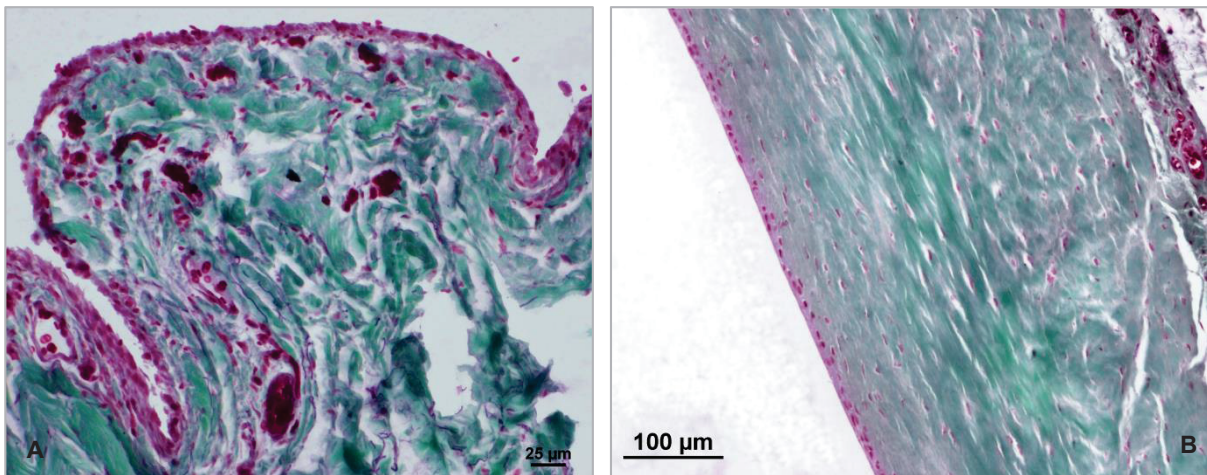


Abbildung 24 A: mehrschichtige ovale Deckzellen im proximalen Abschnitt der Gelenkkapsel; Kreuzbandruptur; B: einschichtig vorliegende, platte Deckzellen im mittleren Abschnitt der Gelenkkapsel, Patellaluxation; Färbung nach VOLKMANN-STRAUß.

Tabelle 10 bietet eine Übersicht über die Mittelwerte und die jeweilige Standardabweichung der Anzahl der Deckzellen in den drei Abschnitten der Kniegelenkkapsel.

Tabelle 10: Anzahl der Deckzelllagen in den 3 Bereichen der Gelenkkapsel

	Deckzelllagen		
	<i>proximales Stratum synoviale</i>	<i>mittleres Stratum synoviale</i>	<i>distales Stratum synoviale</i>
Mittelwert ± s	3,88 ± 2,19	2,66 ± 2,80	3,21 ± 1,71
PL	4,03 ± 2,27	2,39 ± 2,51	3,14 ± 1,44
KBR	3,73 ± 2,05	3,91 ± 4,23	3,55 ± 2,21
PL + KBR	4,25 ± 1,71	4,25 ± 2,36	4,75 ± 3,30
FX + KO	1,75 ± 0,50	1,75 ± 1,50	1,75 ± 0,96

Zwei Drittel der Proben (n = 48, 61,54 %) wiesen in mindestens einem der drei Messbereiche eine einschichtige Deckzelllage auf. Davon war die Deckzellschicht in 8 Fällen (10,26 %) an zwei der drei Messbereiche einschichtig und in 3 Proben (3,85 %) bestand die Deckzellschicht

in allen drei Gelenkkapsel-Abschnitten aus einer einzigen Zellschicht. Mehr als 3 übereinander liegende Deckzelllagen wurden als mehrschichtig betrachtet. In 73,08 % (n = 57) der Biopate war die Deckzellschicht an mindestens einem der drei Messbereiche mehrschichtig. Die größten Schwankungen in der Anzahl der Deckzellen kamen im mittleren Gelenkkapselabschnitt vor. Dort wies die Deckzellschicht des Stratum synoviale zwischen 1 und 15 Deckzelllagen auf. Die geringsten Schwankungen gab es distal im Stratum synoviale. Dort waren zwischen 1 und 8 Deckzelllagen nachweisbar. Der Mittelwert der Anzahl der Deckzelllagen des Stratum synoviale proximal lag bei 3,88 und unterschied sich signifikant vom Mittelwert 2,66 des mittleren Gelenkkapsel-Abschnittes (P = 0,004). Die anderen Mittelwerte unterschieden sich nicht signifikant voneinander.

Aus Abbildung 25 wird ersichtlich, dass die Deckzellschicht im mittleren Gelenkkapsel-Abschnitt bei der Mehrzahl der Tiere aus einer einzigen Zellschicht besteht, während sie im proximalen und distalen Abschnitt meist 3 bis 4 Zellschichten zählt.

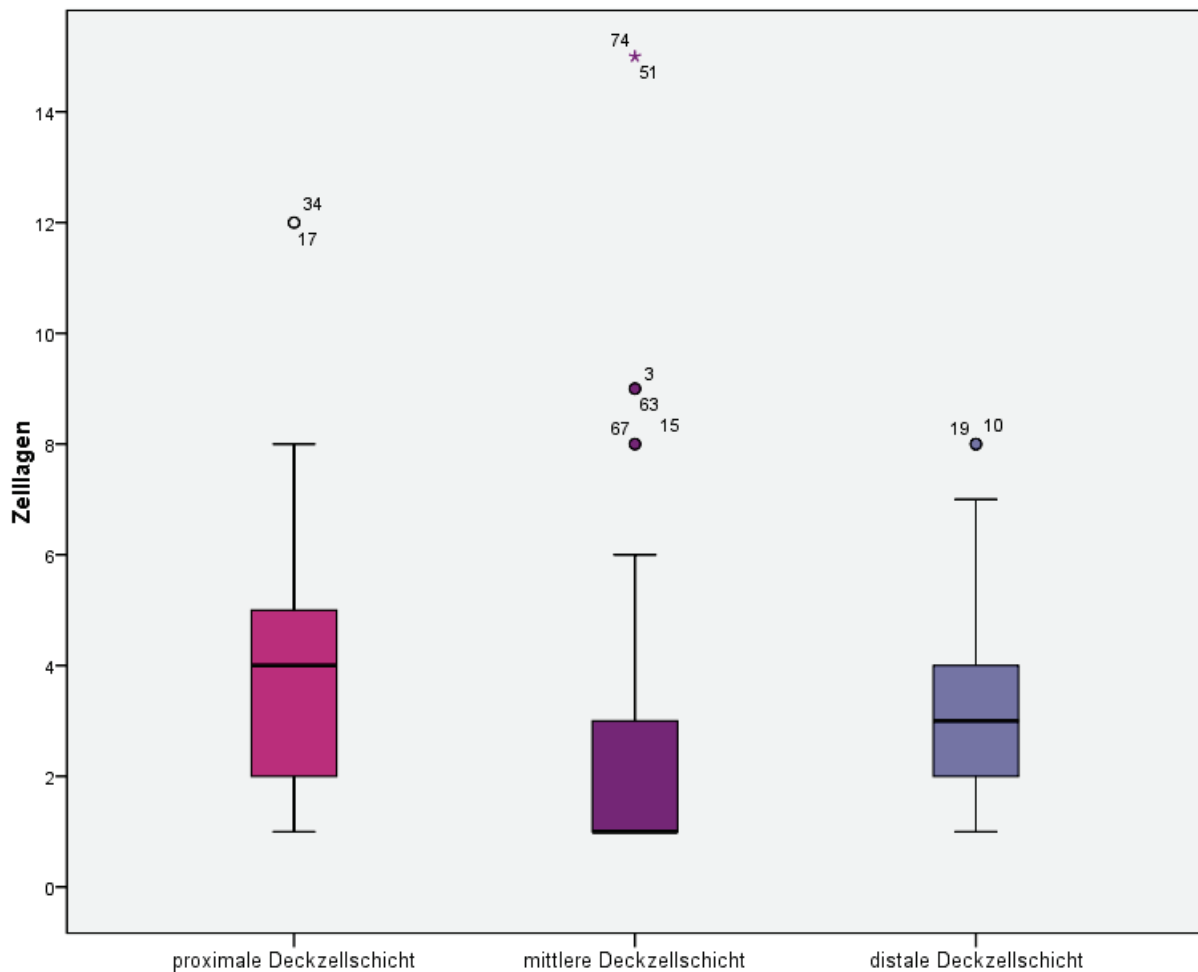


Abbildung 25: Deckzelllagen im proximalen, mittleren und distalen Gelenkkapsel-Abschnitt

Korrelation zwischen Deckzellagen und Erkrankung

Während sich die Mittelwerte der Anzahl der Deckzellagen im proximalen Gelenkkapsel-Abschnitt bei den Hunden mit Patellaluxation (MW = 4,03), Kreuzbandruptur und Patellaluxation mit Kreuzbandruptur kaum voneinander unterschieden, liegt ein geringerer Mittelwert bei den Hunden mit einer Femurfraktur und bei den Kontrollen vor. Allerdings konnte die Signifikanz dieses Unterschiedes nicht nachgewiesen werden.

Im mittleren und distalen Gelenkkapsel-Abschnitt gab es größere Schwankungen zwischen den einzelnen Gruppen. Es gab hinsichtlich der Deckzellagen in diesen beiden Messbereichen keine signifikanten Unterschiede.

Hunde mit einer Patellaluxation und einer zusätzlichen Kreuzbandruptur, also Patienten mit einem chronisch-progredienten Krankheitsverlauf (siehe Abschnitt 3.3.2., Lahmheitsdauer), weisen im Durchschnitt die meisten Deckzellagen im Stratum synoviale auf, wohingegen Hunde mit einer Femurfraktur, also Patienten mit der kürzesten Lahmheitsdauer (perakute Lahmheit, 1-2 d), die geringste Anzahl der Deckzellen haben (Abb. 26).

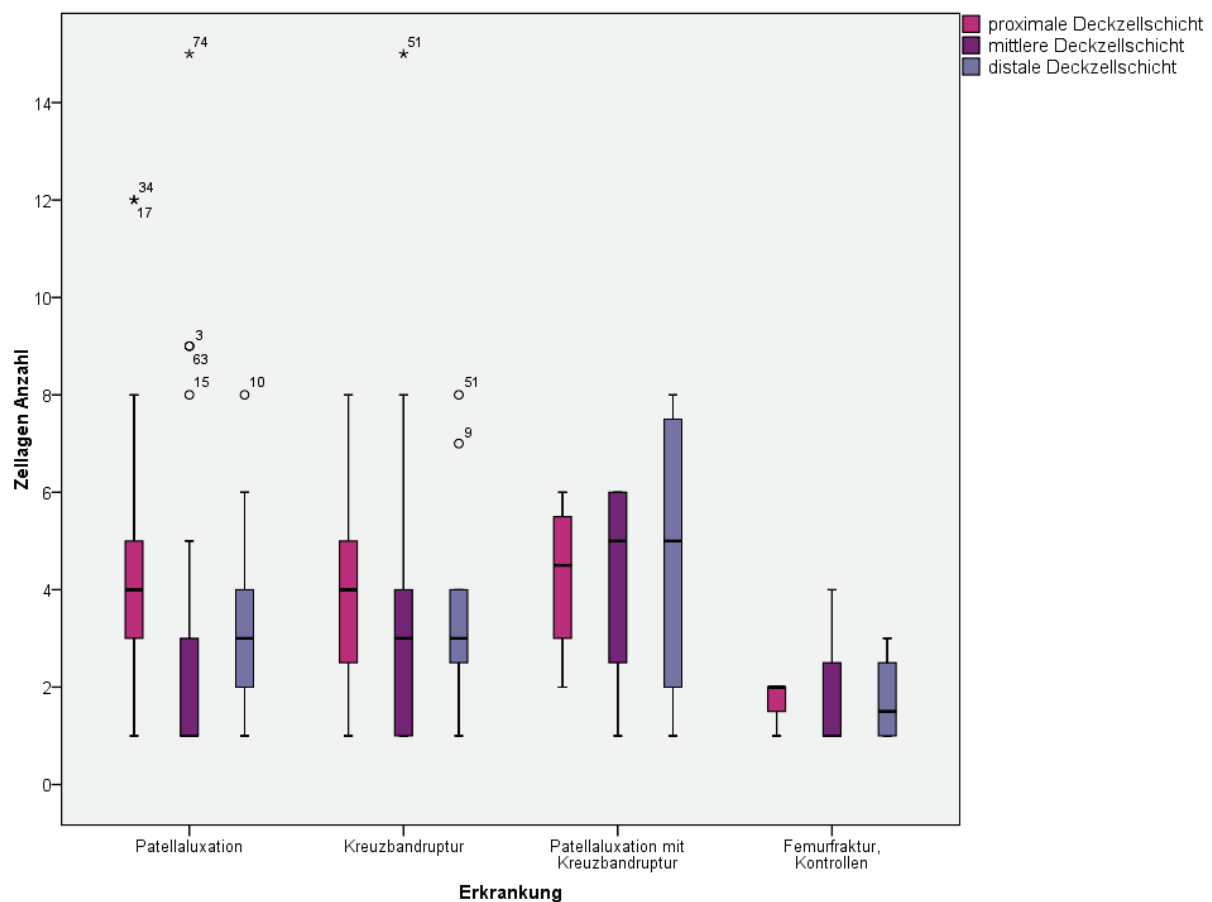


Abbildung 26: Deckzellagen im proximalen, mittleren und distalen Stratum synoviale bei den vier Probandengruppen.

Korrelation zwischen der Deckzelllagen und den Rassegruppen

Die Mittelwerte der Zahl der Deckzelllagen in den drei Abschnitten der Gelenkkapsel bei den vier Rassegruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Außer bei großen Hunderassen ist die Anzahl der Deckzelllagen der mittleren Deckzellschicht im Durchschnitt bei Toy-Hunden, sowie bei kleinen und mittelgroßen Hunderassen stets kleiner als die der proximalen und distalen Deckzellschicht. Die proximale Deckzellschicht weist im Durchschnitt die meisten Deckzelllagen bei den drei letzt genannten Rassegruppen auf.

Die Rassegruppe hat keinen Einfluss auf die Anzahl der Deckzelllagen in keinem der drei Gelenkkapselabschnitte. Dies wird in Abbildung 27 dargestellt.

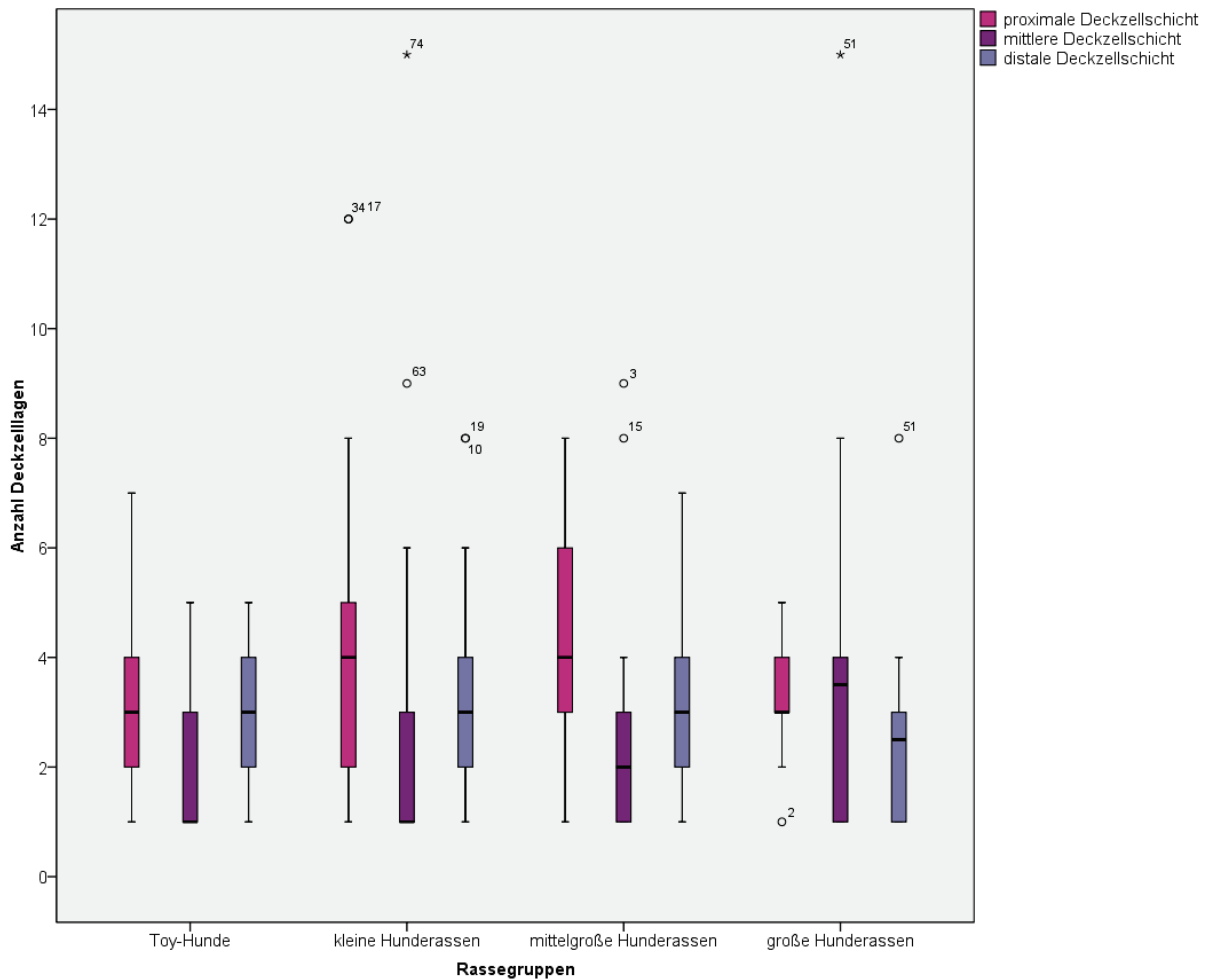


Abbildung 27: Anzahl der Deckzelllagen mit Unterscheidung zwischen den vier Rassegruppen

Korrelation zwischen Deckzellagen und Lahmheitsdauer / Krankheitsverlauf

Die Mittelwerte der Anzahlen der Deckzellagen der drei Gelenkkapsel-Abschnitte im Bezug auf die verschiedenen Lahmheitsdauern sind sehr variabel. Es konnten dabei keine Signifikanzen nachgewiesen werden. Aus Abbildung 28 wird ersichtlich, dass bei allen Verlaufsformen die mittlere Deckzellschicht im Vergleich zu den Deckzellschichten des proximalen und distalen Gelenkkapsel-Abschnittes im Durchschnitt immer die wenigsten Zellagen aufweist. Außerdem ist der Grafik zu entnehmen, dass die geringste Streuung der Werte im perakuten Stadium der Lahmheit vorherrscht. Dies betrifft 8 Fälle (10,26 %), wovon in 4 (5,13 %) eine Patellaluxation vorlag, in 2 (2,56 %) handelte es sich um eine Femurfraktur, in einem (1,28 %) wurde eine Kreuzbandruptur diagnostiziert und in einem weiteren (1,28 %) starb das Tier wegen eines inoperablen Ileus. Demzufolge haben 75 % der Kontrollgruppe mit einer Femurfraktur und die Kontrollen die geringste Streuung. Die Hunde mit einer perakuten Lahmheitsdauer wiesen vergleichsweise die geringsten Anzahlen in den Deckzellagen auf.

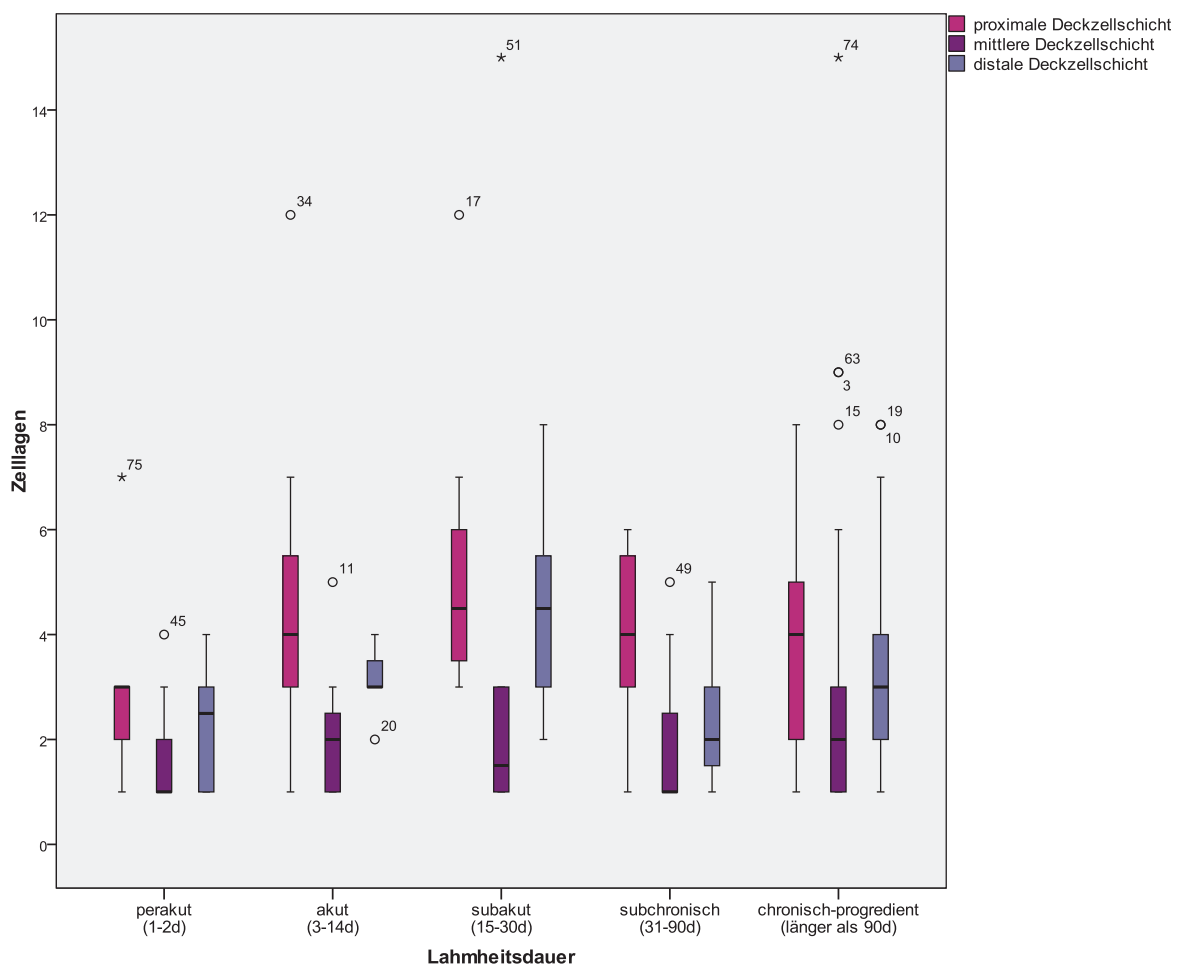


Abbildung 28: Anzahl der Deckzellagen in den drei Gelenkkapsel-Abschnitten nach Lahmheitsdauer.

Korrelation zwischen Deckzelllagen und Alter der Patienten

In Bezug auf das Alter der Patienten konnte keine Korrelation zur Deckzellschicht gefunden werden. In keinem der drei Gelenkkapsel-Abschnitte gibt es einen direkten Zusammenhang zwischen der Anzahl der Deckzelllagen und dem Alter der Patienten. Die mittlere Deckzellschicht ist in fast allen Altersstufen mit den wenigsten Zelllagen ausgestattet. Dies betrifft 53 Fälle (67,95 %) und 17 (60,71 %) von insgesamt 28 verschiedenen Altersstufen. Tabelle 11 listet diese Fälle mit ihren Mittelwerten der Deckzelllagenanzahl in den drei Gelenkkapsel-Abschnitten und den jeweiligen Fallanzahlen auf.

Tabelle 11: Deckzellanzahlen der drei Gelenkkapsel-Abschnitte nach Alter

<i>Alter (in Jahren)</i>	<i>Fallanzahl</i>	<i>Deckzelllagen</i>		
		<i>proximal</i>	<i>mittig</i>	<i>distal</i>
0,5	1	7	1	3
0,75	4	4	2,5	4
1,5	4	4,5	1,75	3
1,75	1	2	1	3
2	7	4	1,5	3
2,5	5	3,5	2	2,5
3	3	4,5	1,5	3,5
3,5	2	2,5	1	3
4	5	3	2,5	3,5
5	5	5	2	4
5,5	1	2	1	5
6	5	2,5	2	2,5
7	3	5	1	3
7,5	1	8	3	7
8,5	4	4,5	2	4
9	1	5	4	7
10,5	1	3	1	3

4.3.2.2 Kapseloberfläche - Villi et plicae synoviales

Oberflächenvergrößerungsfaktor - OVF

Der OVF war ein Maß für die Zottenausbildung an der Gelenkkapselinnenoberfläche. Im Weiteren wurde der Faktor für die Gradeinteilung der Zottenbildung verwendet. Tabelle 12 zeigt die Aufteilung der Fälle in drei Gruppen. Der Wert 1 bedeutet, dass keine Zotten vorhanden sind (Abb. 29). Erklärbar ist dieser Wert durch den Quotienten aus der Länge einer glatten Oberfläche ohne Zotten und seiner genauso langen, parallelen Geraden dazu. Alle Werte größer als der Wert 1 stehen für die Ausbildung weniger oder flacher Zotten ($1 < \text{OVF} > 2,5$) (Abb. 30) bis hin zu vielen oder großen Zotten ($2,5 < \text{OVF} > 5$) (Abb. 31).

Tabelle 12: Gradeinteilung der Zottenbildung (Kapseloberfläche) anhand des Oberflächenvergrößerungsfaktors (OVF)

OVF	Kapseloberfläche	Fallanzahl	Prozent
1	keine Zotten	3	3,85
$1 < \text{OVF} \geq 2,5$	kleine / wenige Zotten	41	52,56
$2,5 < \text{OVF} \geq 5$	hohe / viele Zotten	26	33,33
	nicht messbare Fälle	8	10,26
	Gesamtsumme	78	100

Die Korrelationen der Zottenausbildung zu Signalement und den Daten der Krankenakten der Patienten wird im folgenden Abschnitt gezeigt.

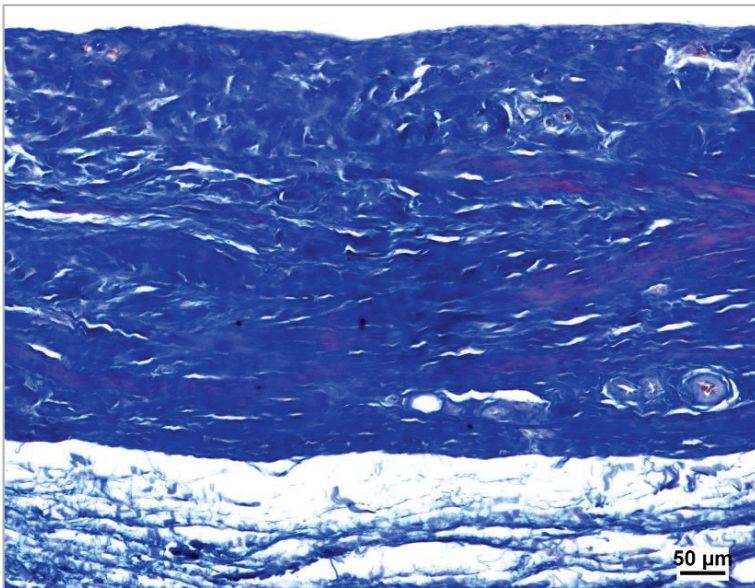


Abbildung 29: keine Zotten in der mittleren Kniegelenkkapsel eines Hundes mit einer Patellaluxation; Färbung nach LADEWIG.

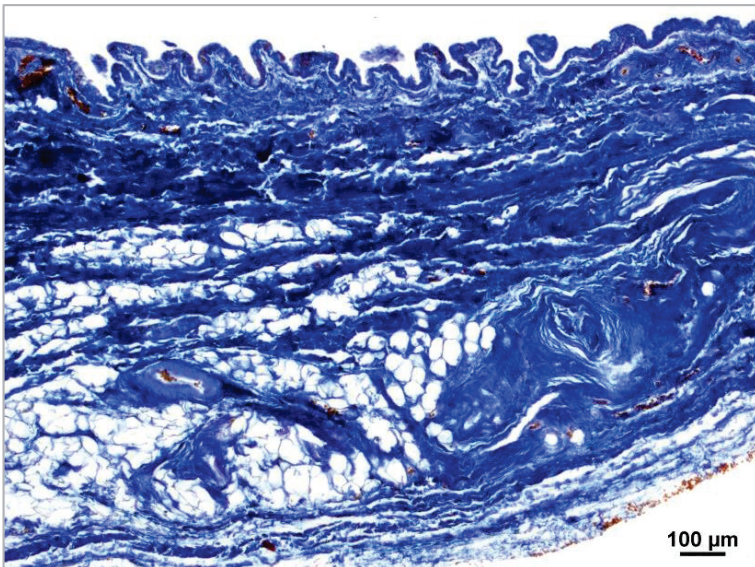


Abbildung 30: kleine Zotten in der proximalen Kniegelenkkapsel eines Hundes mit einer Patellaluxation; Färbung nach LADEWIG.

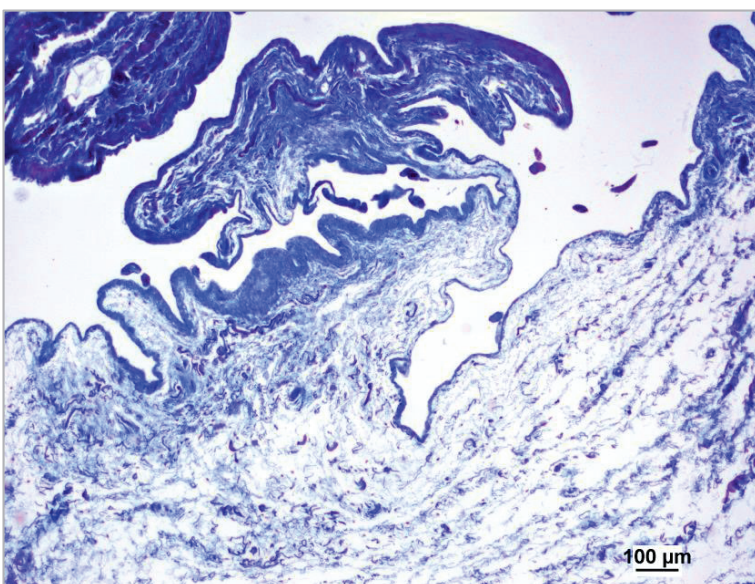


Abbildung 31: große Zotten in der mittleren Kniegelenkkapsel eines Hundes mit einer Femurfraktur; Färbung nach LADEWIG.

Korrelation zwischen Oberflächenvergrößerungsfaktor und Erkrankung

Die Mittelwerte der Oberflächenvergrößerungsfaktoren bei den verschiedenen Erkrankungen unterscheiden sich kaum. Allerdings weist die Gruppe der Hunde mit einer Patellaluxation (n = 52; 66,66 %) eine deutlich größere Streuung in der Zottenausbildung auf als die Vergleichsgruppe der Kontrolltiere und der Hunde mit einer Femurfraktur. Tabelle 13 bietet eine Übersicht über die Mittelwerte der Oberflächenfaktoren bei den verschiedenen Erkrankungen.

Tabelle 13: Mittelwerte und weitere Kennwerte der Oberflächenvergrößerungsfaktoren bei den verschiedenen Erkrankungen

Erkrankung	Oberflächenvergrößerungsfaktor					
	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	s	Median
Patellaluxation	52	1,00	4,94	2,27	0,85	2,16
Kreuzbandruptur	11	1,00	3,82	2,33	0,83	2,18
Kreuzbandruptur mit Patellaluxation	3	1,14	3,35	2,38	1,13	2,66
Femurfraktur, Kontrollen	4	2,64	4,86	3,54	0,96	3,33
Insgesamt	70	1,00	4,94	2,35	0,89	2,22

Bei den Fällen mit Patellaluxation (PL) gibt es einerseits Präparate ohne jegliche Zotten (n = 2; 2,56 %) und andererseits Proben mit den höchsten bzw. meisten Zotten (n = 16; 20,51 %). Bei den meisten Hunden mit einer Patellaluxation (n = 34, 43,59 %) konnten jedoch wenige oder kleine Zotten nachgewiesen werden. Ebenso waren bei den 11 Hunden mit einer Kreuzbandruptur kleine oder wenige Zotten am häufigsten zu sehen (n = 6; 7,69 %). In einem Fall (1,28 %) waren keine Zotten vorhanden und in 4 Fällen waren sehr große oder viele Zotten sichtbar (5,13 %). Bei den Hunden mit einer Patellaluxation und zusätzlicher Kreuzbandruptur (PL + KBR) waren in einem Fall (1,28 %) kleine bzw. wenige Zotten vorhanden und in 2 Fällen (2,56 %) waren hohe oder viele Zotten auffindbar. Alle Hunde der Vergleichsgruppe (Femurfraktur, Kontrollen (FX + KO); n = 4, 5,13 %) hatten ausschließlich hohe oder besonders viele Zotten. Bei 8 Tieren (10,26 %) konnten keine Zottenabmessungen erfolgen, da das Stratum synoviale bei diesen Präparaten fehlte (Abriss, Präparationsschäden).

Die Abbildung 32 stellt die Ausbildung von Zotten und die Verteilung des entsprechenden Oberflächenvergrößerungsfaktors dar.

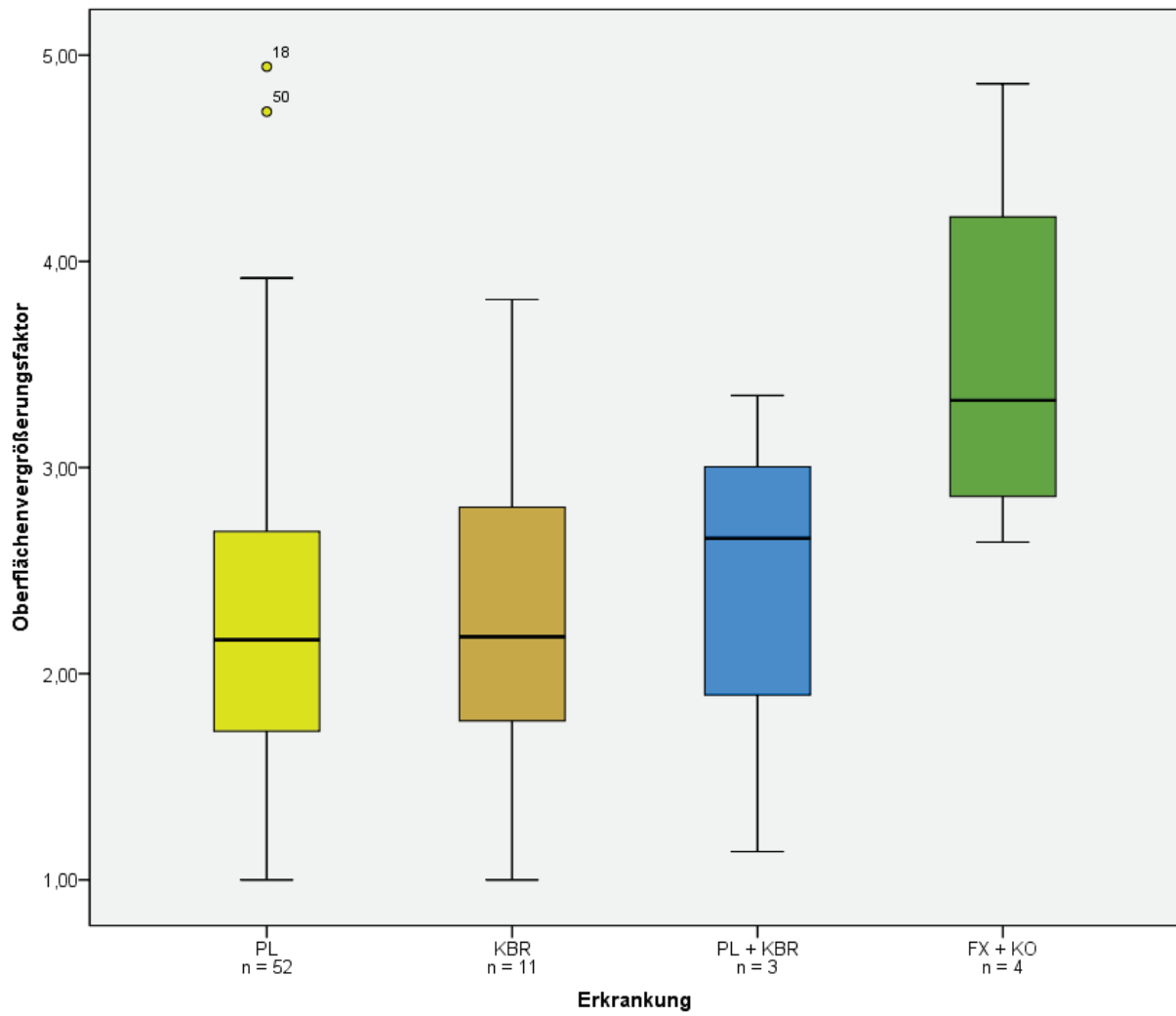


Abbildung 32: Verteilung des Oberflächenvergrößerungsfaktors bei den Erkrankungen

Korrelation zwischen Oberflächenvergrößerungsfaktor und Luxationsgraden der Patellaluxation

Der Schweregrad der Luxation korreliert nicht mit der Kapseloberfläche bzw. der Zottenbildung bei Hunden mit Patellaluxation. Abbildung 33 liefert eine Übersicht dazu.

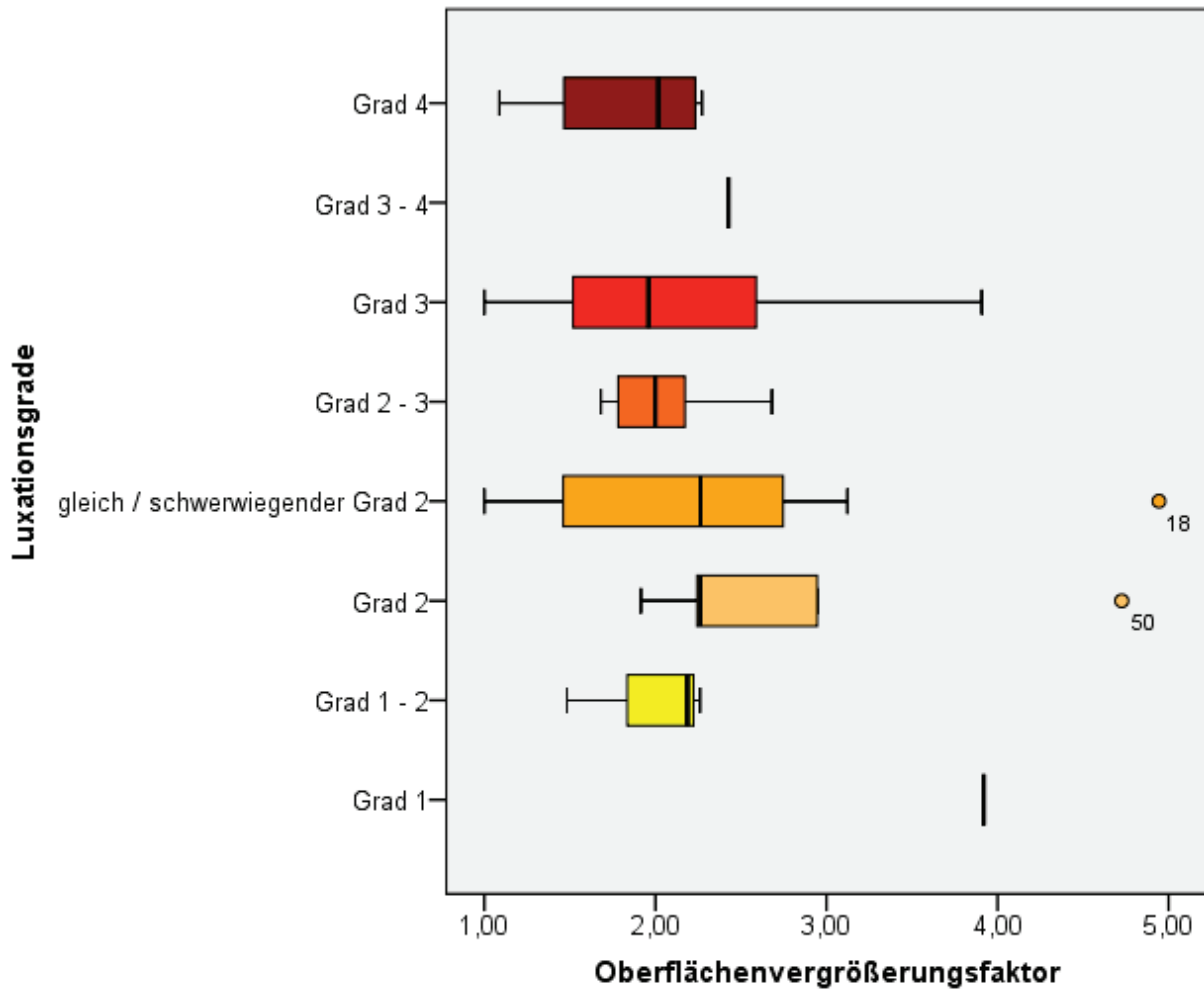


Abbildung 33: Oberflächenvergrößerungsfaktor und Grade der Patellaluxation

Korrelation zwischen Oberflächenfaktor und Krankheitsverlauf / Lahmheitsdauer

Bei den verschiedenen Krankheitsverläufen zeigen die Mittelwerte der jeweiligen Oberflächenfaktoren geringe Unterschiede. Sie belaufen sich auf eine mindestens 2,20-fache Vergrößerung der Gelenkkapseloberfläche bei den Fällen mit einer subakuten Lahmheit (Tab.14). Dementsprechend kommen in diesen Fällen überwiegend kleine Zotten vor. Außerdem zeigt diese Gruppe die geringsten Schwankungen (Minimum 1,52; Maximum 2,98). Durchschnittlich die größten Zotten (OVF = 2,92) weisen Fälle mit einem subchronischen Verlauf auf. Dabei handelt es sich gleichzeitig um die Gruppe mit den größten Schwankungen (Minimum 1; Maximum 4,94). Eine fast genauso große Schwankung in den Mittelwerten der Oberflächenvergrößerungsfaktoren besteht in der Gruppe mit einem perakuten Krankheitsverlauf (Minimum 1,09; Maximum 4,86). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei subakuten und chronisch-progredienten Lahmheiten durchschnittlich eher kleine Zotten vorkamen, während perakute, akute und subchronische Lahmheitsformen zur Ausbildung von großen Zotten neigten. Eine Übersicht dieser Kennwerte liefert Tabelle 14, dargestellt sind sie in Abbildung 34.

Tabelle 14: Verlaufsformen der Lahmheiten mit entsprechenden Kennwerten zu den Oberflächenvergrößerungsfaktoren

Krankheitsverlauf	Oberflächenvergrößerungsfaktor					
	N	Mittelwert	Minimum	Maximum	Median	s
perakut (1 - 2 d)	8	2,60	1,09	4,86	2,65	1,17
akut (3 - 14 d)	7	2,56	1,68	3,91	2,50	0,80
subakut (15 - 30 d)	8	2,20	1,52	2,98	2,22	0,45
subchronisch (31 - 90 d)	7	2,92	1,00	4,94	3,10	1,37
chronisch-progredient (> 90 d)	26	2,46	1,14	4,73	2,30	0,86

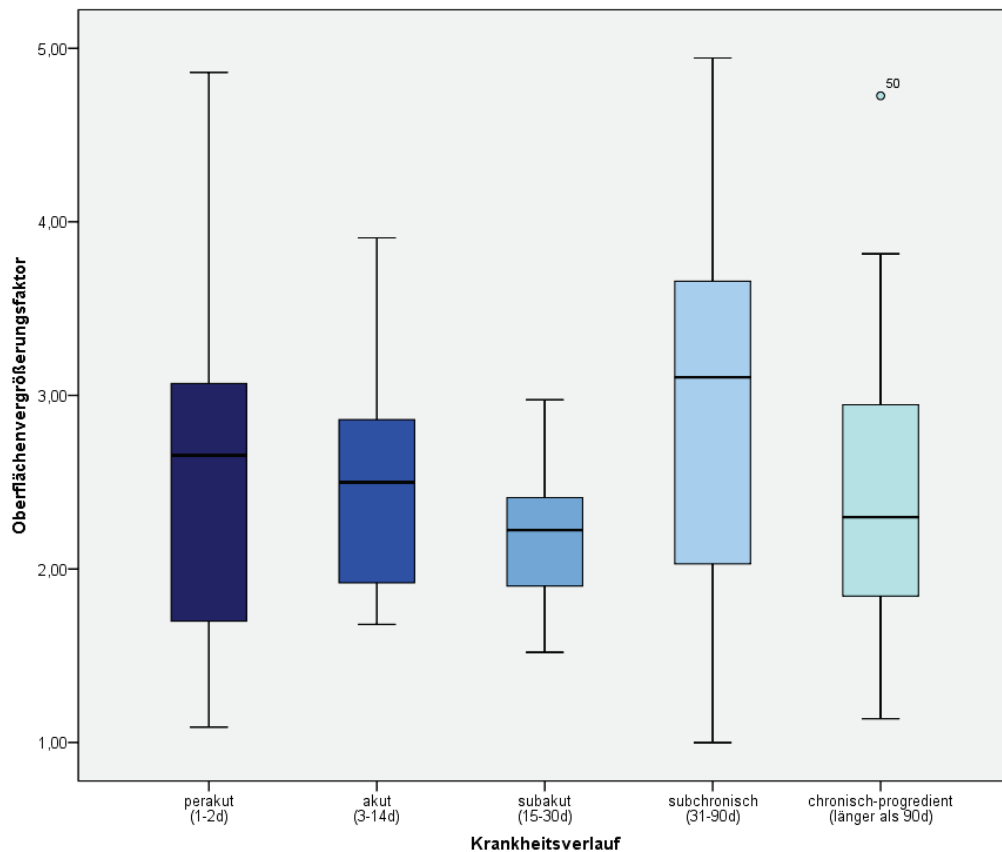


Abbildung 34: Verteilung der Oberflächenfaktoren bei den Krankheitsverläufen

Korrelation zwischen Oberflächenfaktor und Rassegruppen

Die Mittelwerte der Oberflächenvergrößerungsfaktoren bei den vier Rassegruppen unterscheiden sich kaum. Toy- und kleine Hunderassen haben im Schnitt genauso große Zotten wie mittelgroße und große Hunderassen. Die größte Streuung der Oberflächenfaktoren weisen kleine Hunde auf. Unter ihnen gibt es Patienten mit den größten Zotten (OVF = 4,94) aber auch Hunde mit gar keinen Zotten (OVF = 1,00). Streuung, Mittelwerte und Extremwerte von Toy- und großen Hunden sind annähernd gleich. Eine Verhältnismäßigkeit der Zottengröße zur Körpergröße eines Hundes konnte somit nicht nachgewiesen werden. Abbildung 35 veranschaulicht die Zottenausbildung bei den vier Gruppen, Tabelle 15 liefert eine Übersicht der entsprechenden Kennwerte.

Tabelle 15: Kennwerte der Oberflächenvergrößerungsfaktor bei den 4 Rassegruppen

Rassegruppe	Oberflächenvergrößerungsfaktor					
	N	Mittelwert	Minimum	Maximum	Median	s
Toy-Hunde	15	2,17	1,09	3,57	2,19	0,60
kleine Hunderassen	31	2,39	1,00	4,94	2,14	0,95
mittelgroße Hunderassen	14	2,52	1,00	4,73	2,30	0,99
Große Hunderassen	10	2,29	1,00	3,82	2,12	1,01

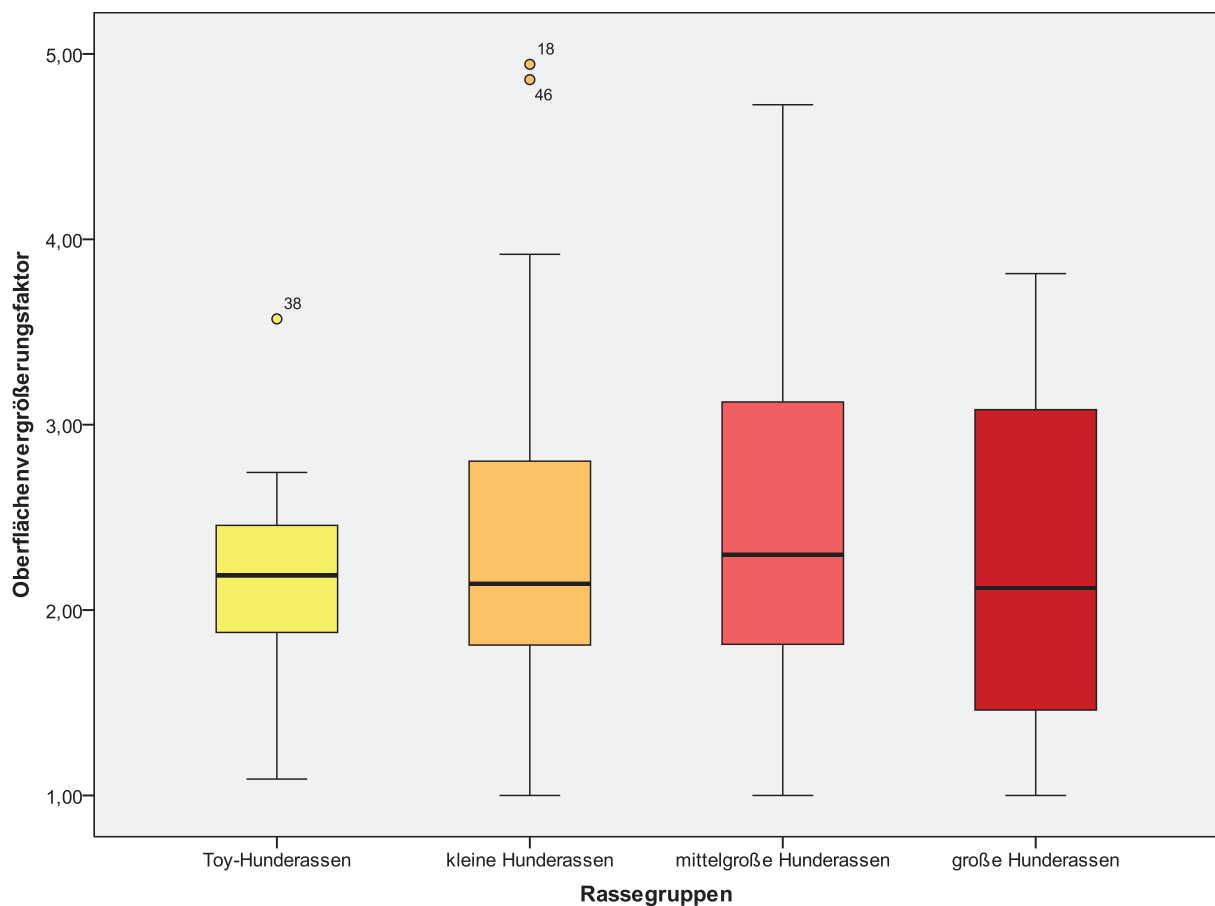


Abbildung 35: Verteilung des OVF bei den Rassegruppen

Korrelation zwischen Oberflächenfaktor und Alter der Patienten

Hinsichtlich des Alters der Patienten und dem Oberflächenvergrößerungsfaktor gibt es keinen Zusammenhang. Junge Patienten mit einem Alter unter einem Jahr weisen im Mittel einen Oberflächenvergrößerungsfaktor zwischen 1,88 (kleine Zotten) und 2,99 (große Zotten) auf. Die Mittelwerte der Oberflächenvergrößerungsfaktoren der älteren Tiere liegen meistens zwischen diesen beiden Werten. Es konnte somit kein Einfluss des Alters auf die Ausbildung der Zotten nachgewiesen werden. Abbildung 36 gibt die unstetige Verteilung der Oberflächenfaktoren hinsichtlich des Alters der einzelnen Patienten wieder.

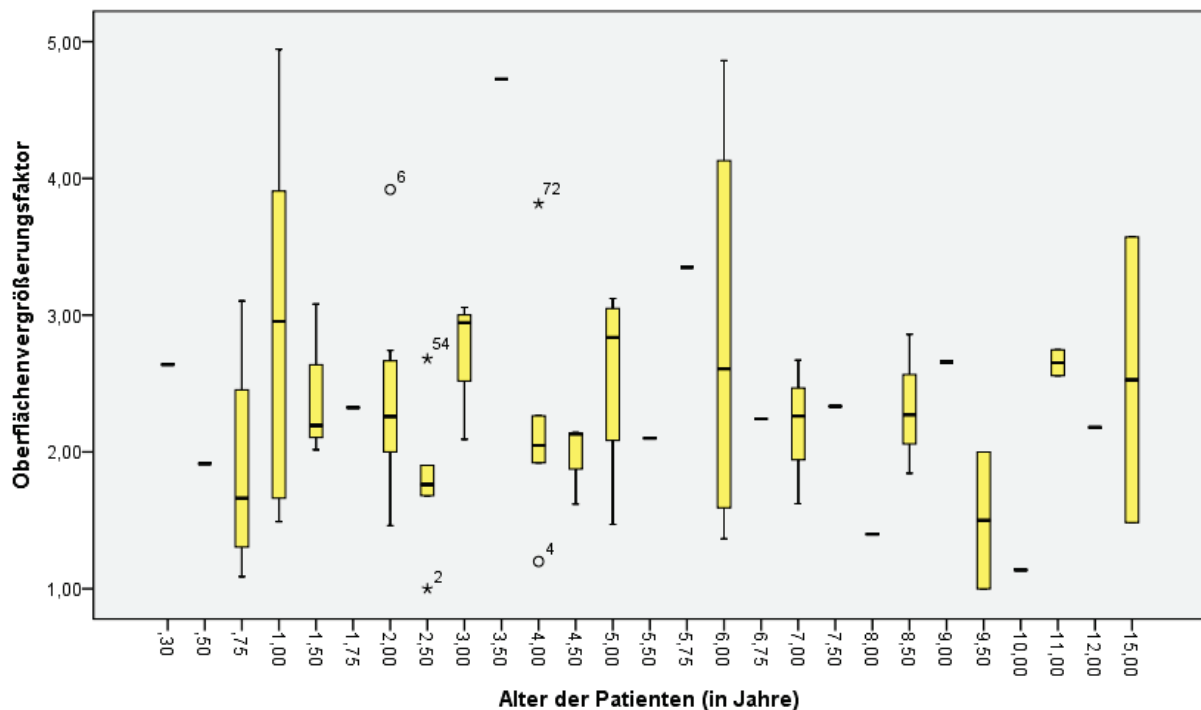


Abbildung 36: Oberflächenfaktoren und Alter der Patienten

Korrelation zwischen Zottenoberfläche und Anzahl der Deckzellagen

Im Hinblick auf ihren apikalen Abschluss durch die Deckzellen konnte keine signifikante Korrelation zwischen dem Grad der Zottenbildung und der Anzahl der Deckzellagen in den drei Abschnitten der Gelenkkapsel ermittelt werden. Kleine Zotten können dementsprechend genauso viele oder wenige Deckzellagen aufweisen wie große Zotten.

4.3.2.3 Fehlen des mittleren Stratum subsynoviale

Im Zuge der histomorphologischen Untersuchungen fiel bei der Analyse der Kniegelenkkapselproben auf, dass das Stratum subsynoviale im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapselproben in 59 von 78 Fällen (75,64 %) nicht vorhanden war. Demzufolge schloss das Stratum synoviale unmittelbar an das Stratum fibrosum an (Abb. 38). Im proximalen und distalen Gelenkkapselabschnitt konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden. Hier waren immer alle drei Schichten vorhanden (Abb. 37).

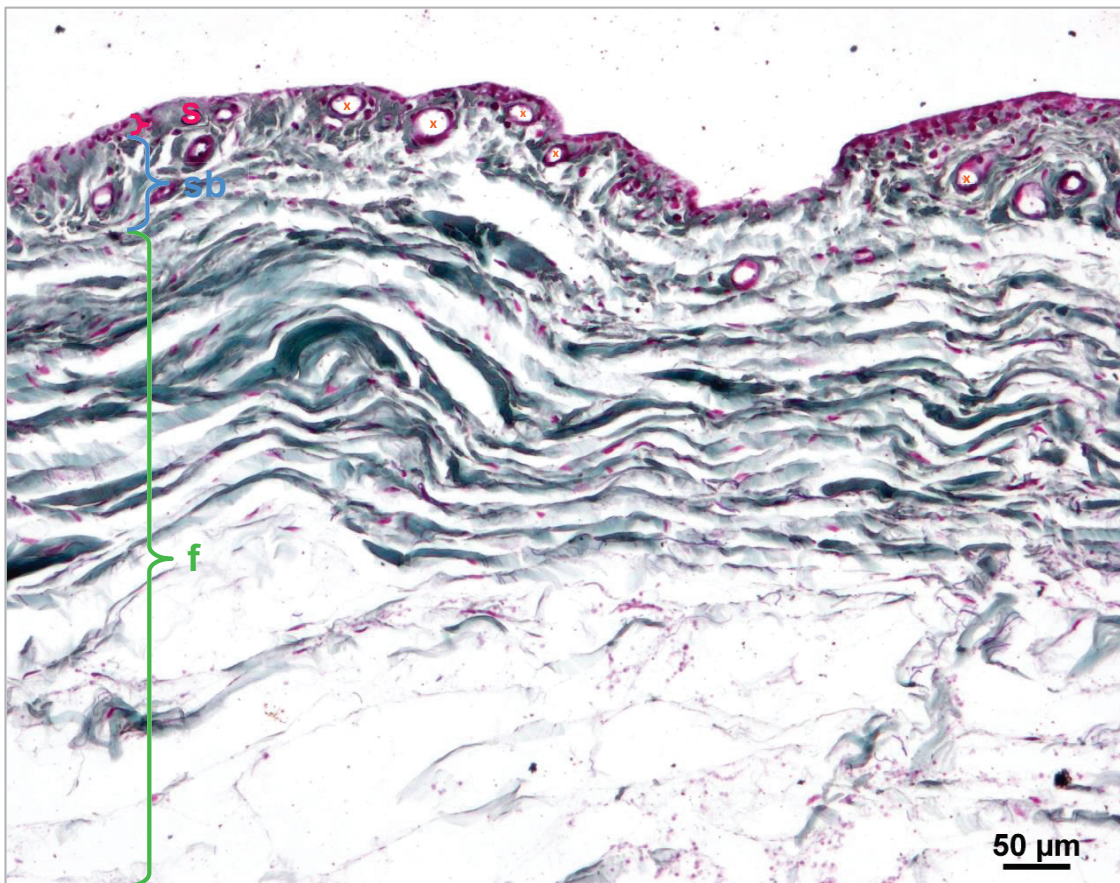


Abbildung 37: Mittlerer Abschnitt der Kniegelenkkapsel; Kreuzbandruptur. Das zellreiche Stratum synoviale (s) schließt an das gut vaskularisierte (x) Stratum subsynoviale (sb) an, das in das mit Kollagenfasern (grün) ausgestattete Stratum fibrosum (f) übergeht. Färbung nach VOLKMANN-STRAUß.

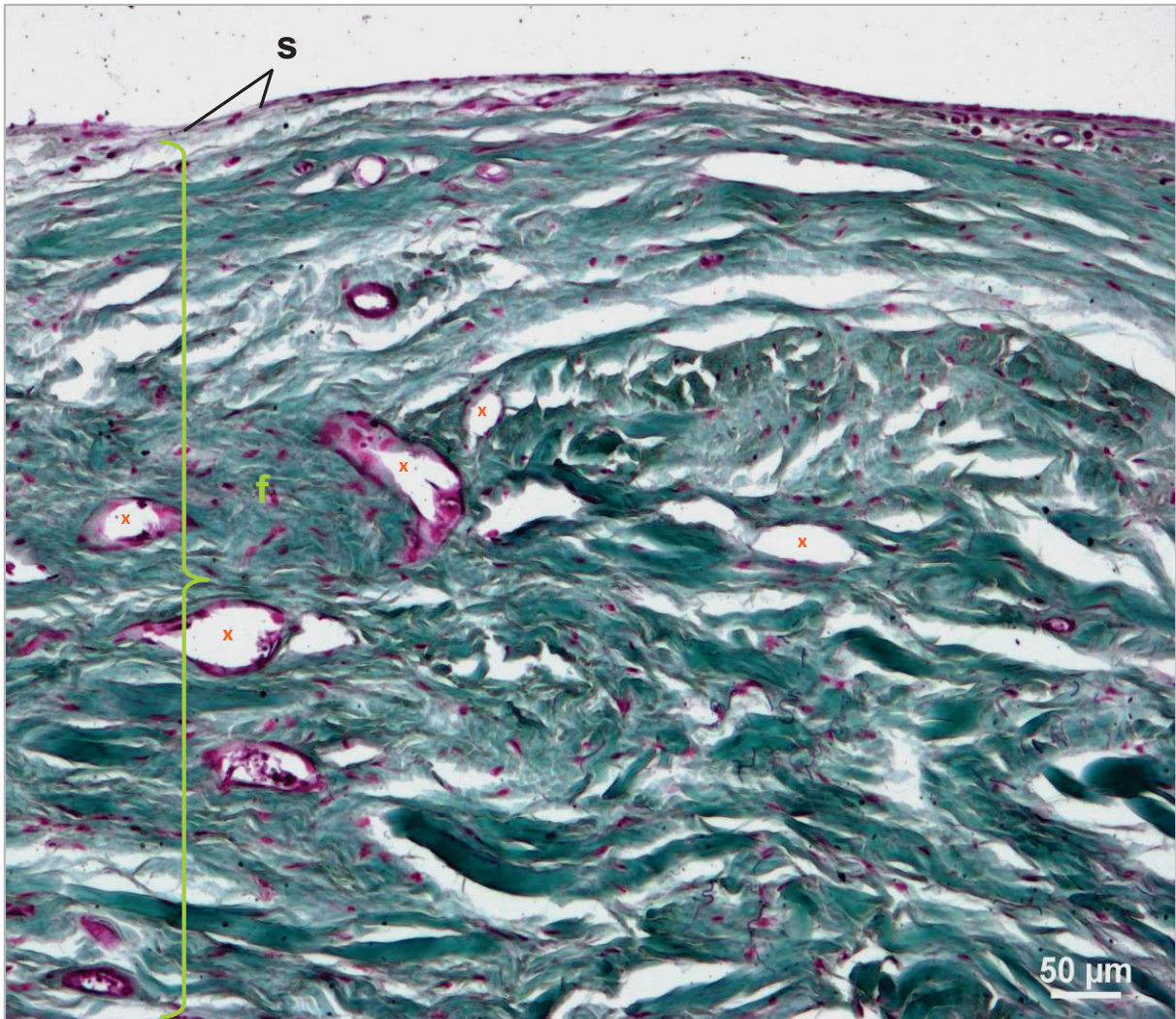


Abbildung 38: Mittlerer Abschnitt der Kniegelenkkapsel; Patellaluxation. Das zellarme, einschichtige Stratum synoviale (**s**) mit abgeplatteten Synoviozyten und Fibroblasten schließt direkt an das kollagenfaserreiche (grün) und gut durchblutete (**x**) Stratum fibrosum (**f**) an. Färbung nach VOLKMANN-STRAUSS.

Die Häufigkeit des Vorhandenseins des Stratum subsynoviale im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel wurde in Abhängigkeit von der Rassegruppe, dem Alter, dem Körpergewicht, der Art der Erkrankung und der Lahmheitsdauer ausgewertet. In Bezug auf die Art der Erkrankung und die Lahmheitsdauer existiert eine signifikante Abhängigkeit.

Rassengruppen

Aus Tabelle 16 geht hervor, dass der mittlere Abschnitt des Stratum subsynoviale bei Toy-, kleinen, mittelgroßen und großen Hunden in annähernd drei Viertel der Fälle nicht vorhanden war.

Tabelle 16: Vorhandensein / Nicht-Vorhandensein des mittleren Stratum subsynoviale bei den vier Rassegruppen der untersuchten Population

Str. subsynoviale	Rassegruppen			
	<i>Toy-Rassen</i>	<i>kleine Hunde</i>	<i>mittelgroße Hunde</i>	<i>große Hunde</i>
vorhanden	4 (26,7 %)	7 (20,6 %)	5 (26,3 %)	3 (30 %)
nicht vorhanden	11 (73,3 %)	27 (79,4 %)	14 (73,7 %)	7 (70 %)

Alter

Ein Zusammenhang des Fehlens des Stratum subsynoviale im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel konnte nicht nachgewiesen werden (Abb. 39).

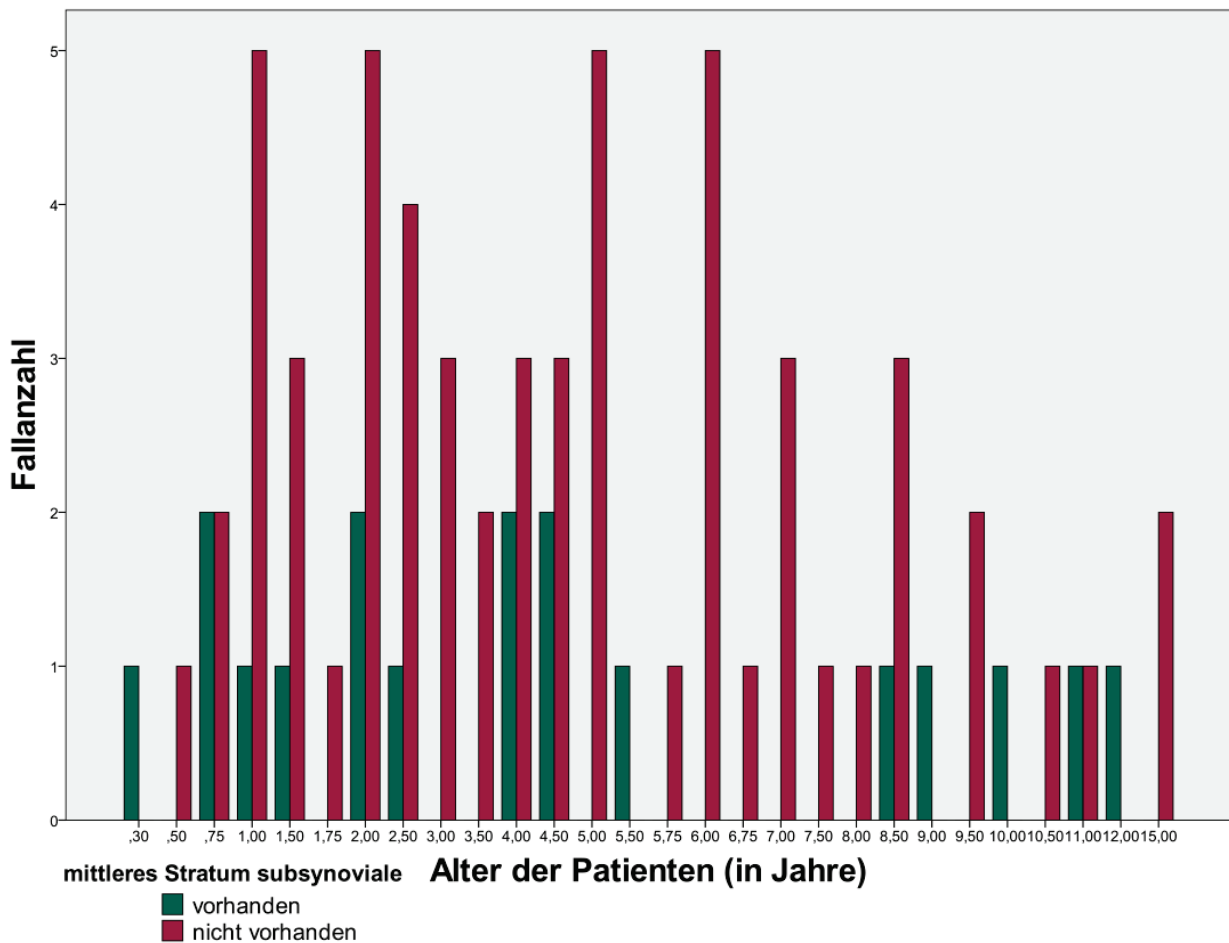


Abbildung 39: Verteilung der Fallanzahlen mit vorhandenem und nicht vorhandenem mittleren Stratum subsynoviale nach den Altersstufen der untersuchten Population.

Gewichtsklassen

In allen Gewichtsklassen außer der schwersten (Gewichtsklasse > 45 kg) fehlte das Stratum subsynoviale im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel meistens (Abb. 40). Während diese Schicht in der niedrigsten Gewichtsklasse (0 - 5 kg) in 74,07 % der Fälle (n = 20) nicht nachgewiesen werden konnte, fehlte sie in der nächst schwereren (5 - 10 kg) in 84,21 % (n = 16). In den schwereren Gewichtsklassen änderte sich das Verhältnis zwischen dem Fehlen und Vorhandensein des mittleren Stratum subsynoviale in 2:1 für die Gewichtsklasse 10 - 15 kg und in 7:1 für die Gewichtsklasse 15 - 20 kg. Bei den Gewichtsklassen 25 - 30 kg, 30 - 35 kg und 35 - 40 kg war jeweils nur ein Fall vorhanden, wobei in allen drei Fällen kein mittleres Stratum subsynoviale nachgewiesen werden konnte in der Gewichtsklasse 40 - 45 kg bestätigt sich wieder das Verhältnis von 3:1 (ohne/mit mittlerem Stratum subsynoviale). Die Abbildung 29 gibt das Vorhandensein / Nicht-Vorhandensein des mittleren Stratum subsynoviale in den zehn Gewichtsklassen der untersuchten Population mit den jeweiligen Fallanzahlen wieder.

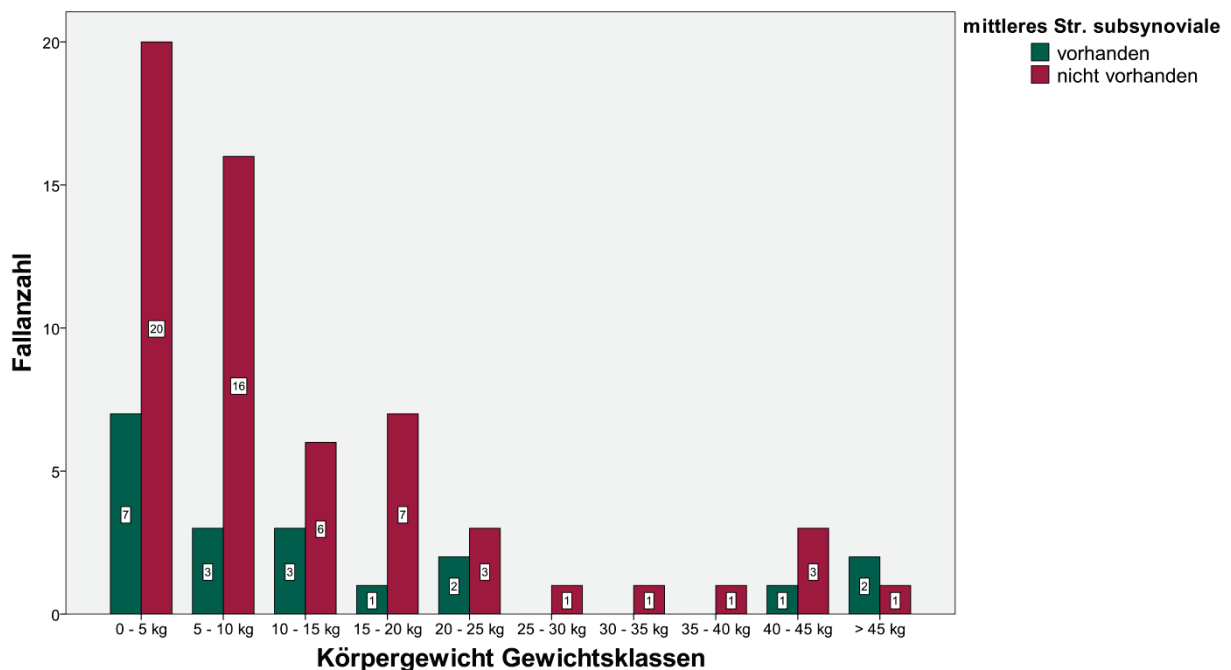


Abbildung 40: Verteilung der Fälle mit (grün) und ohne (rot) mittlerem Stratum subsynoviale auf die zehn Gewichtsklassen der untersuchten Stichprobe.

Erkrankung

81,36 % (n = 44) der Fälle mit Patellaluxation und 63,64 % (n = 7) der mit einer Kreuzbandruptur wiesen im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel einen direkten Anschluss des Stratum synoviale an das Stratum fibrosum auf (Tab. 17). Die Erkrankung der

Patellaluxation ist damit signifikant häufiger mit einem fehlenden Stratum subsynoviale behaftet als dies bei den anderen Erkrankungen festgestellt wurde (P-Wert = 0,000) (Abb. 41). In lediglich 18,64 % (n = 11) der Fälle mit Patellaluxation und 36,36 % (n = 4) jener mit einer Kreuzbandruptur lag zwischen den beiden zuvor genannten Schichten das Stratum subsynoviale vor. In der Gruppe mit einer Patellaluxation und kombinierter Kreuzbandruptur, sowie in der Gruppe mit einer Femurfraktur und den Kontrollen, waren jeweils 50 % ohne mittleres Stratum subsynoviale. Tabelle 17 liefert eine Übersicht der Fallanzahlen der Erkrankungen im Hinblick auf das Vorhandensein des mittleren Stratum subsynoviale. In Abbildung 41 wird diese Aufteilung dargestellt.

Tabelle 17: Fallanzahlen mit vorhandenem und fehlendem mittleren Stratum subsynoviale bei den untersuchten Erkrankungen.

Vorhandensein des mittleren Stratum subsynoviale und Art der Erkrankung

Anzahl		Vorhandensein		Fallanzahl
		0	1	
Art der Erkrankung	Patellaluxation	48*	11	59
	Kreuzbandruptur	7	4	11
	Patellaluxation mit Kreuzbandruptur	2	2	4
	Femurfraktur und Kontrollen	2	2	4
Gesamt		59	19	78

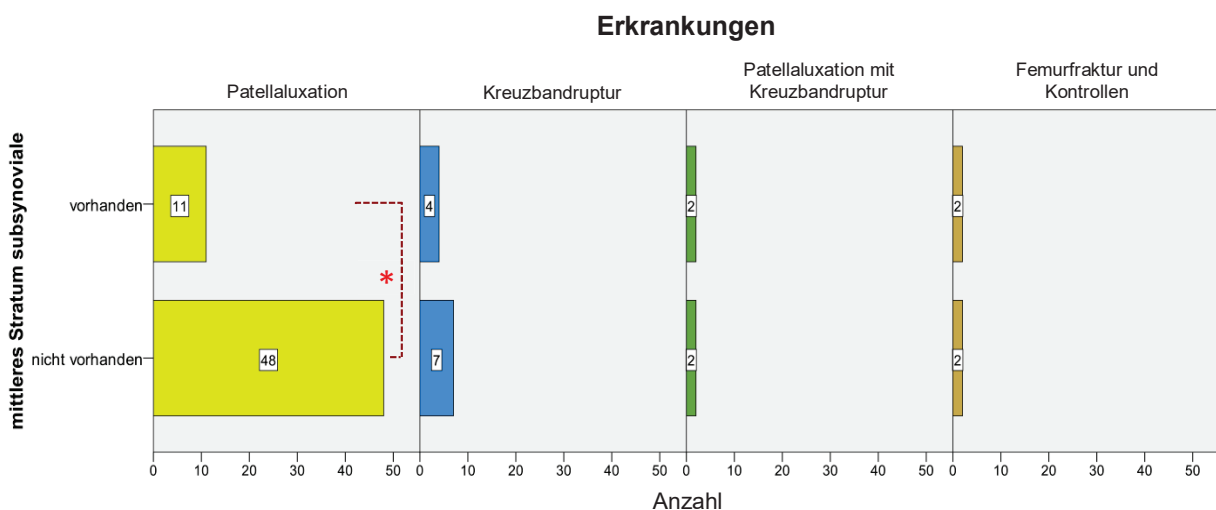


Abbildung 41: Anzahl der Patienten in den jeweiligen Krankheitsgruppen und ob sie ein mittleres Stratum subsynoviale aufwiesen oder nicht. Signifikanter Unterschied bei den Hunden mit einer Patellaluxation (*).

Lahmheitsdauer

In jedem Stadium der untersuchten Lahmheiten waren deutlich mehr Fälle ohne ein mittleres Stratum subsynoviale zu verzeichnen als solche mit diesem Schichtanteil. Bei chronisch-progredienten Lahmheiten war mit 23 Fällen (88,46 %) die Fallanzahl aller Gruppen am höchsten (Abb. 42). Damit waren die Fälle mit chronisch-progredientem Verlauf signifikant häufiger mit dem Fehlen des mittleren Stratum subsynoviale assoziiert als die übrigen Verlaufsformen (P-Wert = 0,000). In den Fällen mit akuter Lahmheit lag dieser Wert bei 85,71 % (n = 6), in denen mit perakuter und subakuter Lahmheit waren es hingegen 62,50 % (jeweils n = 5). Die Gruppe der subchronischen Lahmheiten bestand ausschließlich aus Fällen ohne diese Schicht (n = 7, 100%). Bei den Hunden der Kontrollgruppe, die nicht wegen einer Lahmheit vorgestellt worden waren, war das mittlere Stratum subsynoviale in beiden Fällen vorhanden.

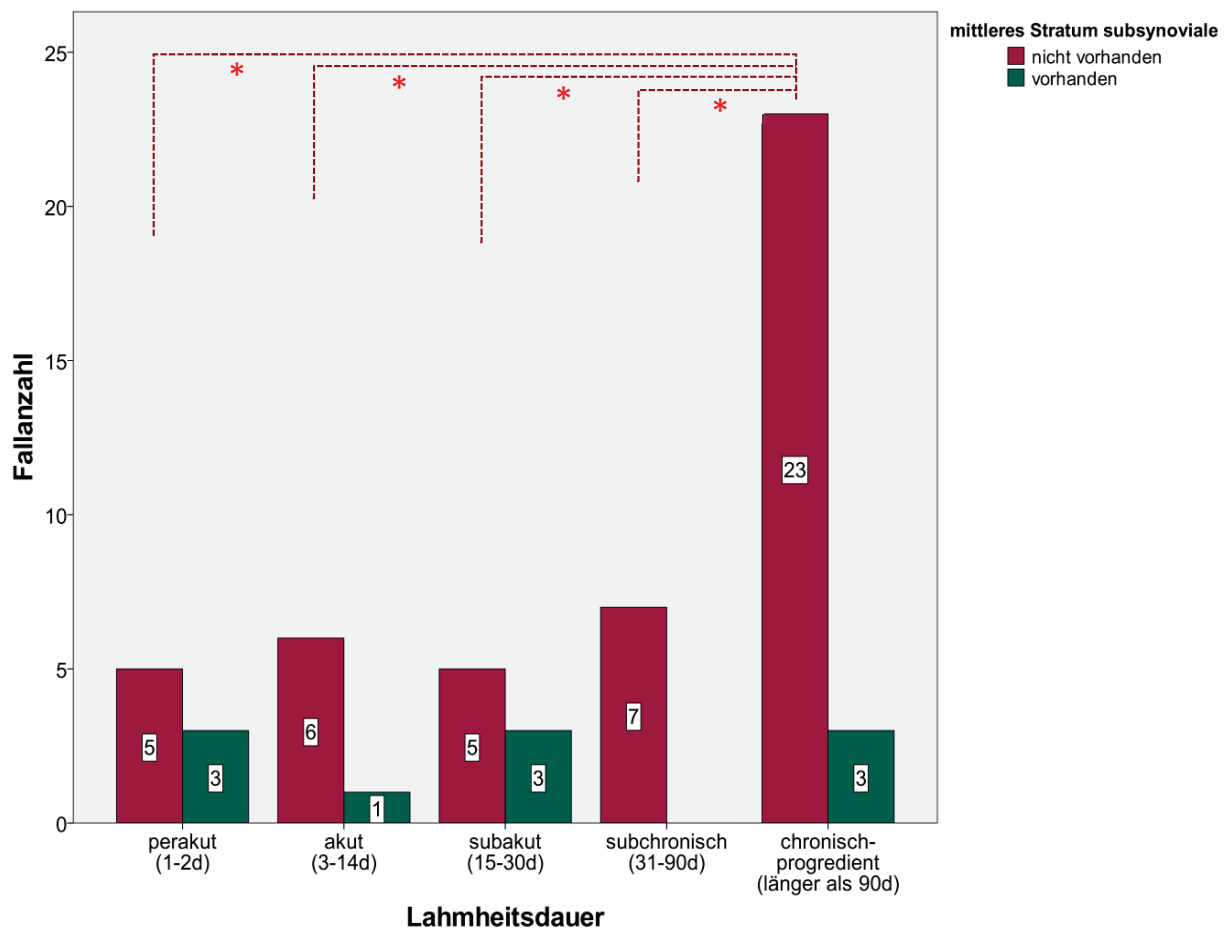


Abbildung 42: Verteilung der Fälle mit und ohne mittleres Stratum subsynoviale bei den verschiedenen Lahmheitsstadien. *Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Signifikante Unterschiede in den Flächenanteilen von Gesamtkollagen zwischen Hunden mit und ohne mittleres Stratum subsynoviale

Anhand von nichtparametrischen Tests nach Mann-Whitney-U für unabhängige Stichproben ergaben sich dabei signifikante Unterschiede nicht nur im mittleren und distalen Abschnitt des Stratum subsynoviale sondern auch in diesen Bereichen des Stratum synoviale. Die Tiere mit nachgewiesenem **mittleren Stratum subsynoviale** (n = 19, 24,35 %) wiesen einen durchschnittlichen Flächenanteil an Kollagenfasern von 64,41 % auf, mit dem Flächenanteil an Kollagenfasern im proximalen und distalen Abschnitt positiv korreliert (P-Wert = 0,000).

Im **distalen Abschnitt des Stratum subsynoviale** unterschieden sich die beiden Gruppen mit einem P-Wert von 0,020. Bei Tieren ohne ein mittleres Stratum subsynoviale bestanden im Durchschnitt 58,11 % der Gesamtfläche aus Kollagenfasern, während es bei Tieren mit dieser Schicht 70,59 % waren (Abb. 44). Im **mittleren Stratum synoviale** (Abb. 43) wiesen Hunde mit fehlendem mittlerem Stratum subsynoviale einen Flächenanteil des Gesamtkollagens von 38,98 % auf und unterschieden sich somit signifikant vom Flächenanteil der Tiere, bei denen es vorhanden war (53,48 %, P-Wert = 0,018).

Im **distalen Abschnitt des Stratum synoviale** unterschieden sich die beiden Gruppen um 12,85 % signifikant voneinander (P-Wert = 0,042, ANOVA). Hunde ohne mittleres Stratum subsynoviale wiesen durchschnittlich einen Flächenanteil von 41,03 % auf, während dieser bei Hunden mit dieser Schicht bei 53,88 % lag (Abb. 43).

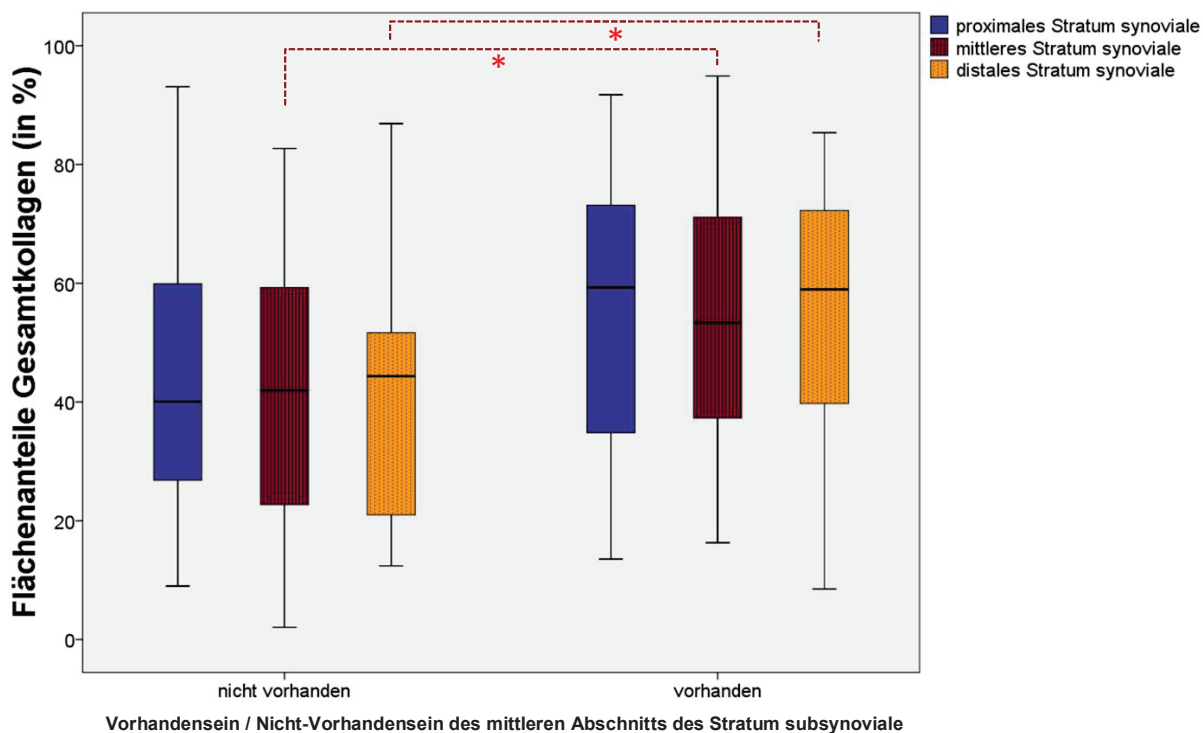


Abbildung 43

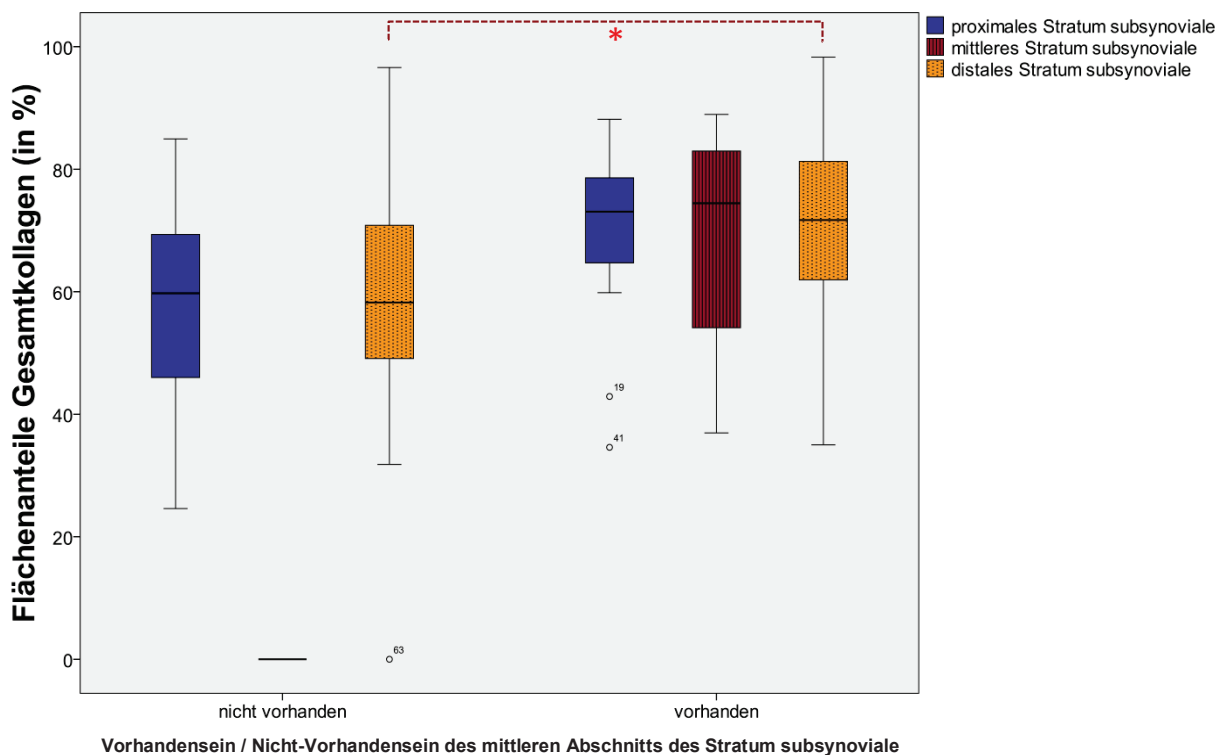


Abbildung 44

Abbildung 43 und 44: Flächenanteile der Kollagenfasern (in %) in den drei Abschnitten des Stratum subsynoviale und des Stratum synoviale bei Patienten mit und ohne einem mittlerem Stratum subsynoviale. * Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

4.3.2.4 Dicke der Kniegelenkkapsel im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt

Die Dickenvermessungen des proximalen, mittleren und distalen Abschnitts der Kniegelenkkapsel ergaben keine signifikanten Zusammenhänge zum Alter, zum Geschlecht, zum Gewicht der Patienten, zur Art ihrer Erkrankung, zur Lahmheitsdauer, zu den Luxationsgraden der Patellaluxation und zum Ausbildungsgrad der Zotten des Stratum synoviale. Signifikante Zusammenhänge konnten hinsichtlich der Rassegruppen (Abb. 45) nachgewiesen werden.

Rassegruppen

Nichtparametrische Tests nach Kruskal-Wallis für unabhängige Stichproben ergaben signifikante Unterschiede in den Dicken des proximalen und mittleren Abschnitts der Kniegelenkkapsel in Bezug auf die Rassegruppen. Bei Toy-Hunden (n = 15) sind die durchschnittlichen Dicken des proximalen Abschnitts um 46,41 % kleiner als bei großen Hunden (n = 10) (P-Wert = 0,045, Bonferroni) und um 44,60 % kleiner als bei mittelgroßen (n = 19) (P-Wert = 0,036, Bonferroni) (Tab.18). Im mittleren Abschnitt wiesen Toy-Hunde zu allen anderen Rassegruppen eine signifikant dünnere Kniegelenkkapsel auf (Abb. 45).

Tabelle 18: Signifikante Unterschiede in den Dicken der proximalen und mittleren Gelenkkapsel zwischen den vier Rassegruppen, n. s. = nicht signifikant.

Dicken (in μm) und signifikante Korrelationen						
Rassegruppen	proximale Gelenkkapsel			mittlere Gelenkkapsel		
	Mittelwert \pm Stabw	Unterschied zu	Signifikanz (Test)	Mittelwert \pm Stabw	Unterschied zu	Signifikanz (Test)
Toy-Hunde	1.714,97 \pm 914,47	großen Hunden	0,045 (Bonferroni)		n. s.	
kleine Hunde		n. s.			n. s.	
mittelgroße Hunde	3095,42 \pm 1318,84	Toy-Hunden	0,036 (Bonferroni)	2159,55 \pm 1332,42	Toy-Hunden	0,030 (Bonferroni)
große Hunde		n. s.		2445,44 \pm 1418,23	Toy-Hunden	0,007 (Bonferroni)

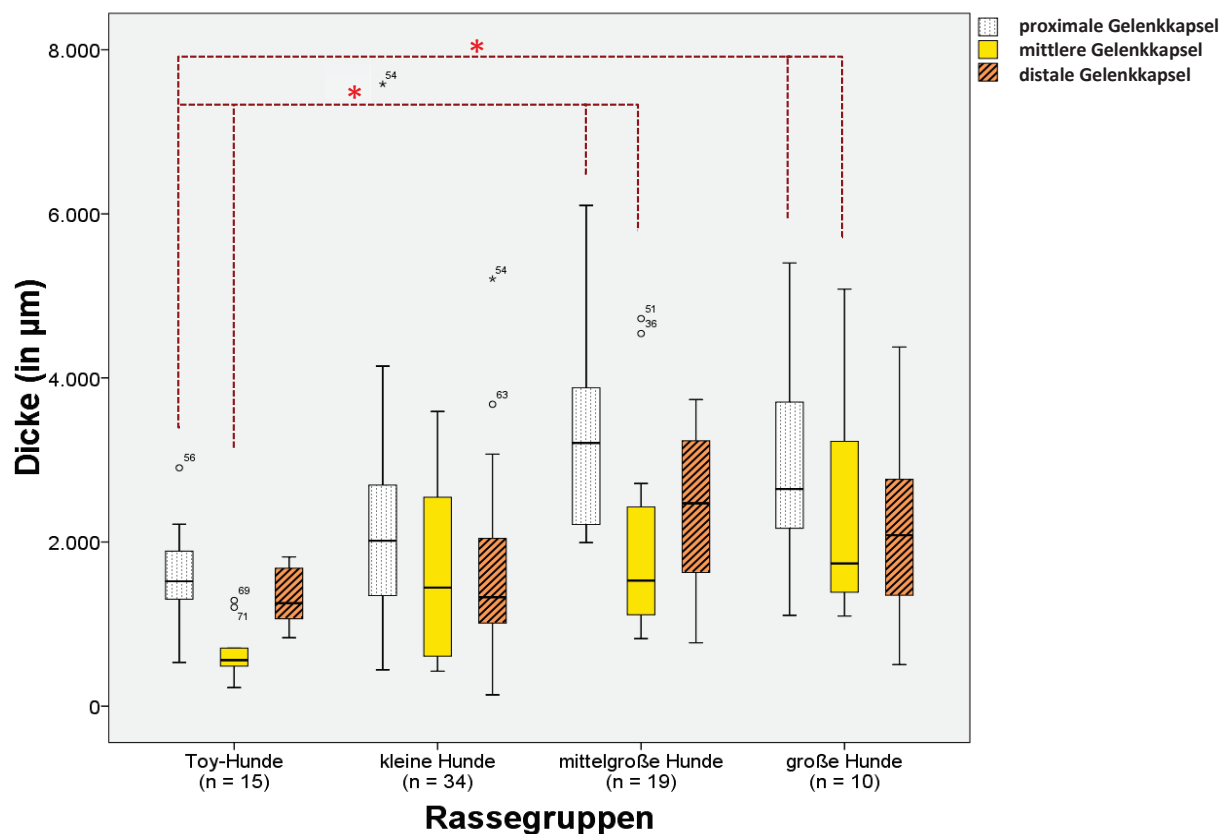


Abbildung 45: Dicke des proximalen, mittleren und distalen Abschnitts der Kniegelenkkapsel bei den vier Rassegruppen; * Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Korrelation der Dicken des proximalen, mittleren und distalen Abschnitts der Kniegelenkkapsel zueinander

Die drei Abschnitte der Gelenkkapsel korrelieren hinsichtlich ihrer Dicken jeweils signifikant miteinander. Ein linearer Zusammenhang in Bezug auf die vier Rassegruppen kann aus der Abbildung 46 gelesen werden. Die Korrelationskoeffizienten nach Spearman liegen zwischen 0,327 und 0,536 und sind mit einem P-Wert von 0,000 signifikant (Abb. 46).

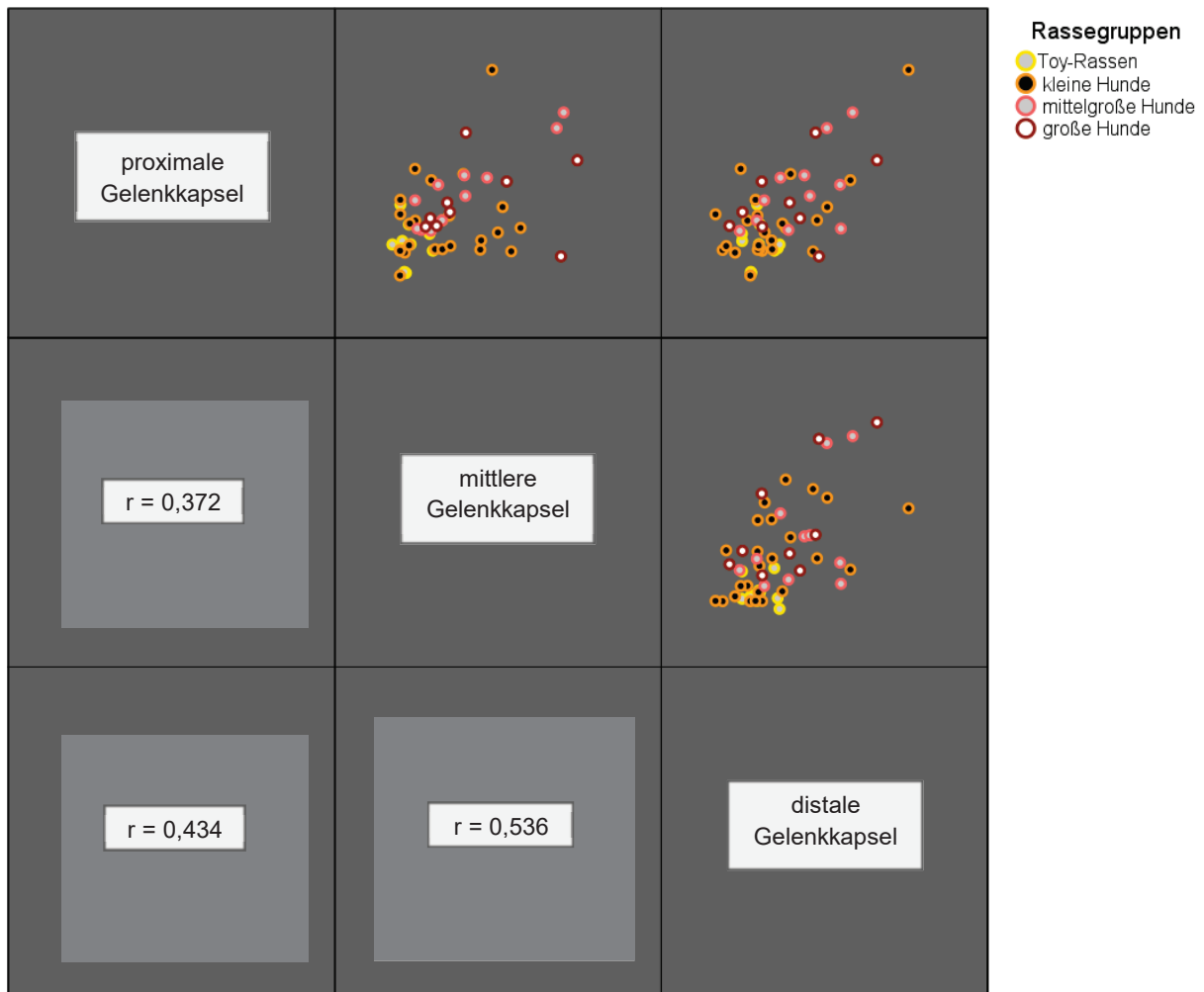


Abbildung 46: Korrelation der drei Gelenkkapsel-Abschnitte untereinander mit den dazugehörigen Korrelationskoeffizienten r mit Markierung der einzelnen Rassegruppen.

Schichtdicken im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt der Kniegelenkkapsel

In Bezug auf die Schichtdicken der Kniegelenkkapsel in ihrem proximalen, mittleren und distalen Abschnitt konnten keine signifikanten Unterschiede zum Alter, der Patienten, zum Geschlecht, zum Gewicht und zur Lahmheitsdauer bei den Patienten gefunden werden.

Signifikante Zusammenhänge ließen sich zwischen den Schichtdicken der Kniegelenkkapsel und den Rassegruppen, der Art der Erkrankung, der Unterscheidung zwischen ein- und beidseitiger Patellaluxation, den Luxationsgraden und zum Grad der Zottenausbildung im Stratum synoviale entdecken.

Rassegruppen

Hinsichtlich der vier Rassegruppen ergaben sich signifikante Unterschiede (Abb. 47) in folgenden Schichten und Abschnitten der Kniegelenkkapsel:

- proximaler, mittlerer und distaler Abschnitt des Stratum fibrosum
- proximaler Abschnitt des Stratum subsynoviale
- proximaler und mittlerer Abschnitt des Stratum synoviale

In den übrigen Schichten und Abschnitten der Kniegelenkkapsel waren keine signifikanten Zusammenhänge zu den Rassegruppen auffindbar.

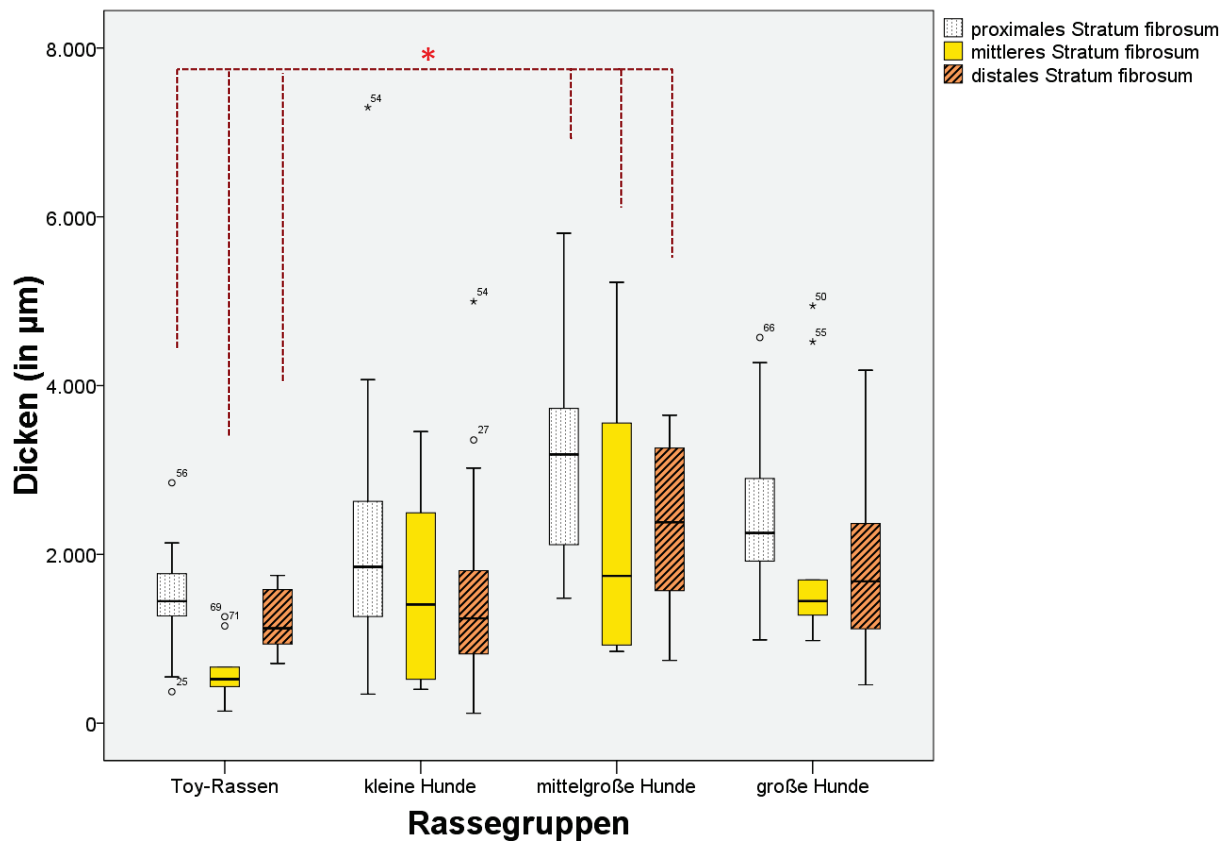


Abbildung 47: Signifikante Unterschiede zwischen ausgewählten Abschnitten und Schichten der Kniegelenkkapsel bei den vier Rassegruppen.

* Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

Proximaler, mittlerer und distaler Abschnitt des Stratum fibrosum und Rassegruppen

Die Dicken des proximalen Abschnitts des Stratum fibrosum von Toy-Hunden ($n = 15$) waren im Durchschnitt um 42,70 % dünner als jene bei mittelgroßen Hunden ($n = 19$) (P-Wert = n 0,049, Bonferroni). Dieselben Rassegruppen unterschieden sich signifikant in den durchschnittlichen Dicken des mittleren Abschnitts des Stratum fibrosum. Dabei wiesen Toy-Hunde ($n = 15$) ein um 68,03 % dünneres Stratum fibrosum in diesem Bereich auf als mittelgroße Hunde ($n = 19$) (P-Wert = 0,006, Bonferroni).

Während somit das Stratum fibrosum bei Toy-Hunden im proximalen Bereich fast halb so dünn ist wie bei mittelgroßen Hunden, erwies sich dieses im mittleren Abschnitt bei Toy-Hunden als annähernd dreimal dünner als bei mittelgroßen Hunden.

Ebenso ergab sich bei denselben Rassegruppen ein signifikanter Unterschied in den durchschnittlichen Dicken des distalen Abschnitts des Stratum fibrosum ($p = 0,048$; Bonferroni). Toy-Hunde ($n = 15$) besaßen demnach im Durchschnitt ein um 49,02 % dünneres Stratum fibrosum im distalen Bereich als mittelgroße Hunde ($n = 19$). Die signifikanten Unterschiede in den Schichten der Kniegelenkkapsel in Bezug auf die Rassegruppen sind in den Abbildungen 47 dargestellt.

Proximaler Abschnitt des Stratum subsynoviale und Rassegruppen

Bei den Dicken des Stratum subsynoviale ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen Toy-Hunden und großen Hunden und zwischen kleinen und großen Hunden. Die durchschnittlichen Dicken des proximalen Abschnitts des Stratum subsynoviale von Toy-Hunden waren um 66,85 % dünner als jene von großen Hunden ($n = 10$) (P-Wert = 0,002, Bonferroni). Bei kleinen Hunden ($n = 34$) war dieser Schichtabschnitt durchschnittlich um 65,73 % dünner als bei großen Hunden ($n = 10$) (P-Wert = 0,000, Bonferroni). Diese signifikanten Zusammenhänge sind in der Abbildung 48 dargestellt und markiert (*).

Mittlerer Abschnitt des Stratum synoviale und Rassegruppen

Post-Hoc-Tests nach Bonferroni ergaben, dass Toy-Hunde ($n = 15$) ein um 63,96 % signifikant dünneres mittleres Stratum synoviale als große Hunde ($n = 10$) hatten (P-Wert = 0,009). Die Tests ergaben zwischen mittelgroßen und großen Hunden einen signifikanten Unterschied in diesem Schichtabschnitt mit einem P-Wert von 0,021. Demnach war der mittlere Abschnitt des Stratum synoviale von mittelgroßen Hunden ($n = 19$) um 53,76 % dünner als jenes von großen Hunden ($n = 10$) (Abb. 48).

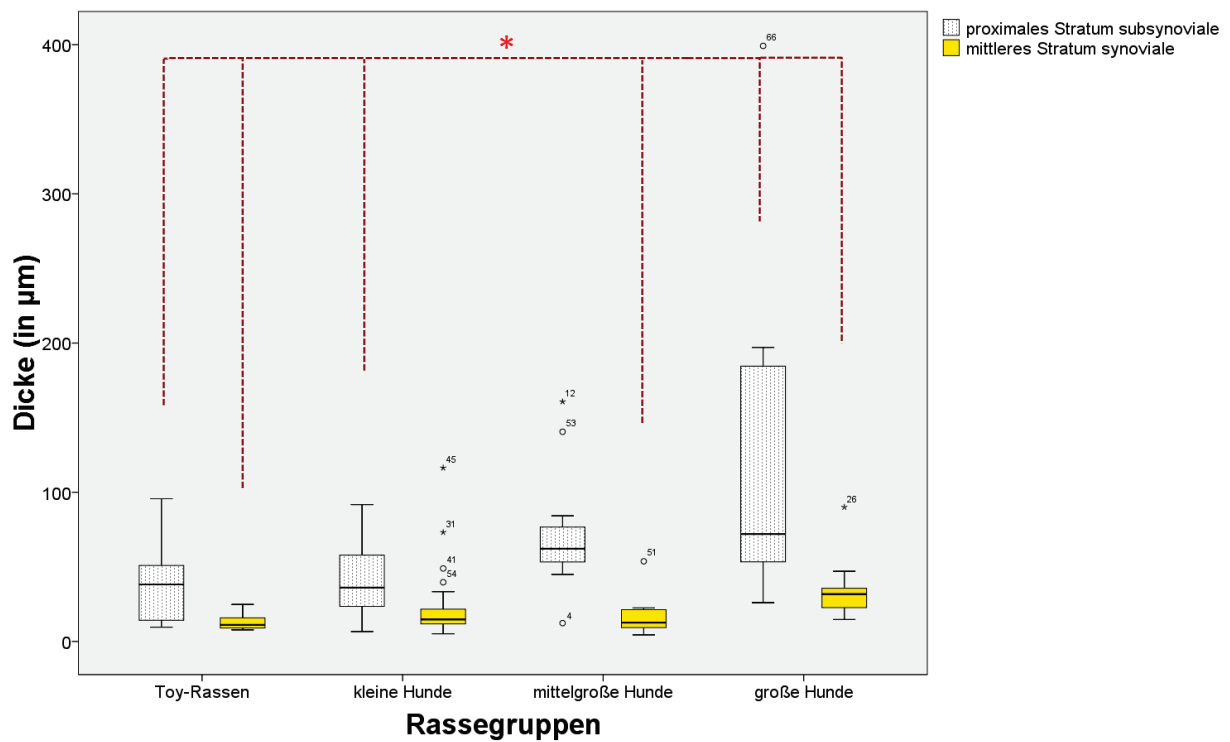


Abbildung 48: Ausgewählte Abschnitte des Stratum subsynoviale und des Stratum synoviale der Kniegelenkkapsel mit gekennzeichneten, signifikanten Unterschieden zwischen den Rassegruppen. * Die Differenz der Mittelwerte ist auf dem Niveau 0.05 signifikant.

Mittlerer Abschnitt des Stratum synoviale und Art der Erkrankung

In Korrelation zu den Erkrankungen konnten signifikante Unterschiede ausschließlich in den Dicken des mittleren Bereichs des Stratum synoviale gefunden werden. Dabei unterscheiden sich die Fälle mit Patellaluxation einerseits von jenen mit einer Kreuzbandruptur und andererseits von den Kontrollen. Hunde mit einer Patellaluxation ($n = 59$) hatten demnach einem um 55,17 % dünneren mittleren Abschnitt des Stratum synoviale als Hunde mit einer Kreuzbandruptur ($n = 11$) (P -Wert = 0,009, Bonferroni). Im Vergleich zu den Kontrollen ($n = 4$) wiesen die Hunde mit Patellaluxation sogar einen um 64,65 % dünneren mittleren Abschnitt auf (P -Wert = 0,021, Bonferroni). In Abbildung 49 sind die signifikanten Unterschiede der durchschnittlichen Dicken des mittleren Abschnitts des Stratum synoviale bei den Erkrankungen dargestellt und markiert.

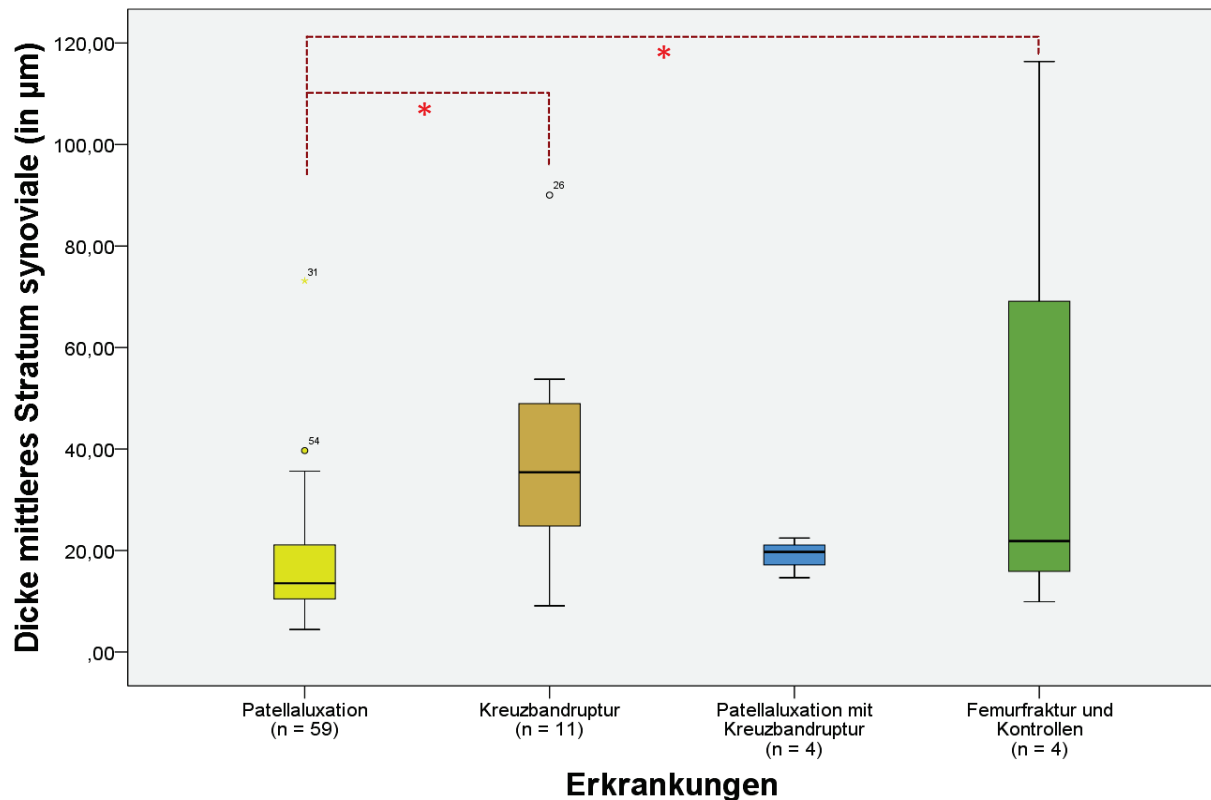


Abbildung 49: Dicken des mittleren Stratum synoviale bei den untersuchten Krankheiten und im Vergleich zu Kontrollen. Signifikante Unterschiede sind markiert. * Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Proximaler und mittlerer Abschnitt des Stratum fibrosum sowie distales Stratum synoviale bei ein- und beidseitiger Patellaluxation

Die durchschnittlichen Dicken des proximalen und mittleren Abschnitt des Stratum fibrosum sowie des distalen Abschnitts des Stratum synoviale waren bei den Fällen mit ein- und beidseitiger Patellaluxation signifikant unterschiedlich. Alle drei Schichtabschnitte erwiesen sich bei den Fällen mit einer beidseitigen Patellaluxation (n = 31) als signifikant dünner als bei jenen mit einer einseitigen Patellaluxation (n = 28). Hinsichtlich des Stratum fibrosum war dieses in den Fällen mit einer beidseitigen Patellaluxation im proximalen Abschnitt um durchschnittlich 23,00 % (P-Wert = 0,013, Mann-Whitney-U) und im mittleren Abschnitt um 45,13 % (P-Wert = 0,017, Mann-Whitney-U) dünner als in den Fällen, in denen die Patellaluxation nur einseitig vorlag. In Abbildung 50 sind die signifikanten Dickenunterschiede in den genannten Schichtabschnitten dargestellt und gekennzeichnet (*).

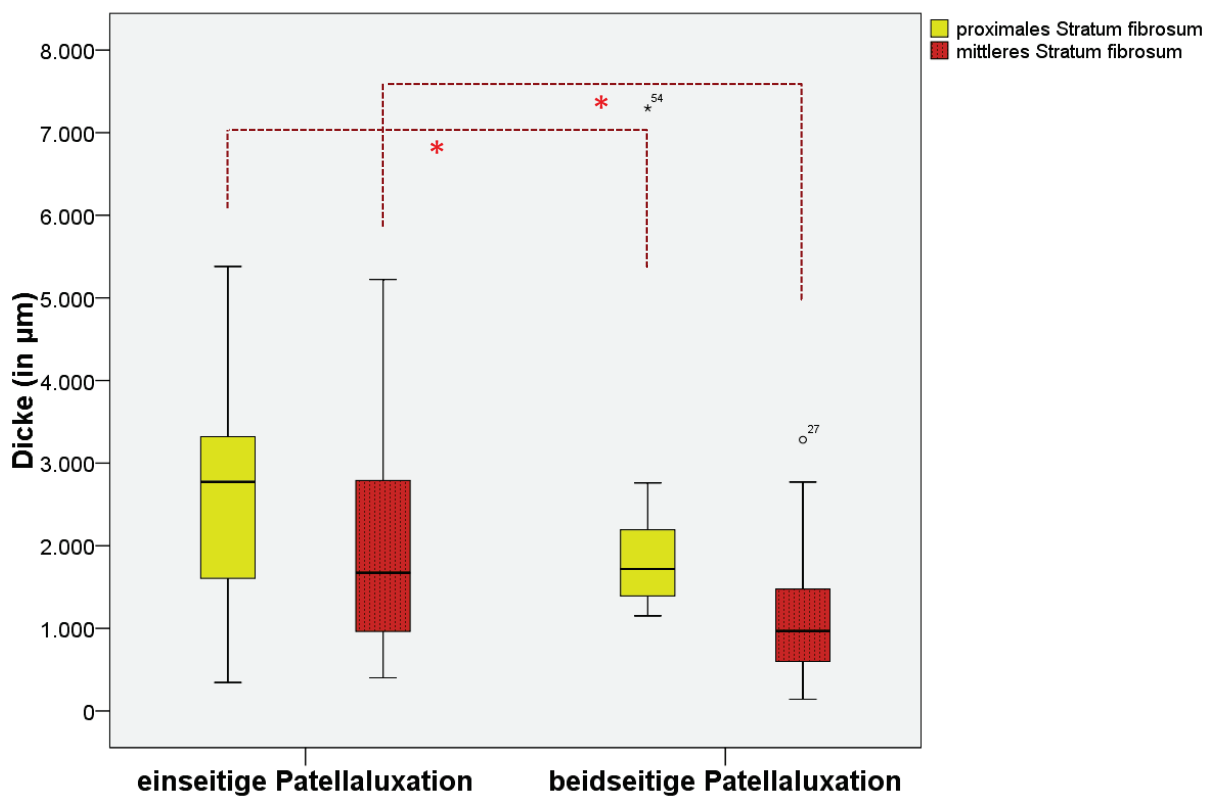


Abbildung 50: Signifikante Unterschiede in den durchschnittlichen Dicken des proximalen und mittleren Stratum fibrosum bei Hund mit ein- und beidseitiger Patellaluxation.

* Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Distaler Abschnitt des Stratum synoviale und ein- und beidseitige Patellaluxation

Die Mittelwerte des distalen Abschnitts des Stratum synoviale unterschieden sich signifikant zwischen den Fällen mit einseitiger und jenen beidseitiger Patellaluxation (P-Wert = 0,034, Mann-Whitney-U). Hunde mit einer bilateralen Patellaluxation (n = 31) hatten durchschnittlich ein um 34,37 % dünneres Stratum synoviale im distalen Bereich als jene mit einer unilateralen Luxation (n= 28). In Abbildung 51 sind diese Signifikanzen zwischen den beiden Untergruppen anschaulich gemacht.

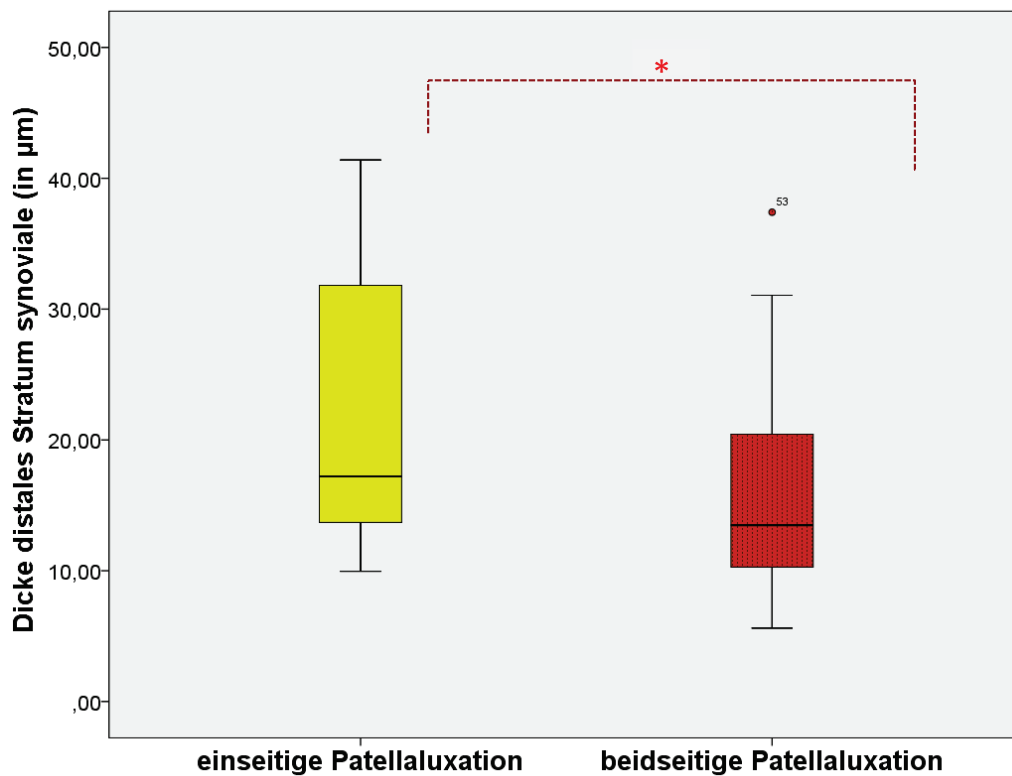


Abbildung 51: Hunde mit einer beidseitigen Patellaluxation zeigen ein signifikant (*) dünneres Stratum synoviale im distalen Bereich als Hunde mit einer einseitigen Patellaluxation. * Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Mittlerer Abschnitt des Stratum fibrosum und Luxationsgrade der Patellaluxation

Hinsichtlich der Luxationsgrade der Patellaluxation ergaben sich signifikante Unterschiede in den durchschnittlichen Dicken des mittleren Abschnitts des Stratum fibrosum zwischen Hunden mit einer Patellaluxation Grad 1 (n = 2) und jenen mit einer größer/gleich 2 (n = 20). Demnach war dieser Schichtabschnitt mit dem schwerwiegenderen Grad der Patellaluxation um durchschnittlich 71,92 % dünner als bei denen mit einer Patellaluxation Grad 1 (P-Wert = 0,036, Gabriel). In Abbildung 52 wird dieser Unterschied gezeigt und markiert (*).

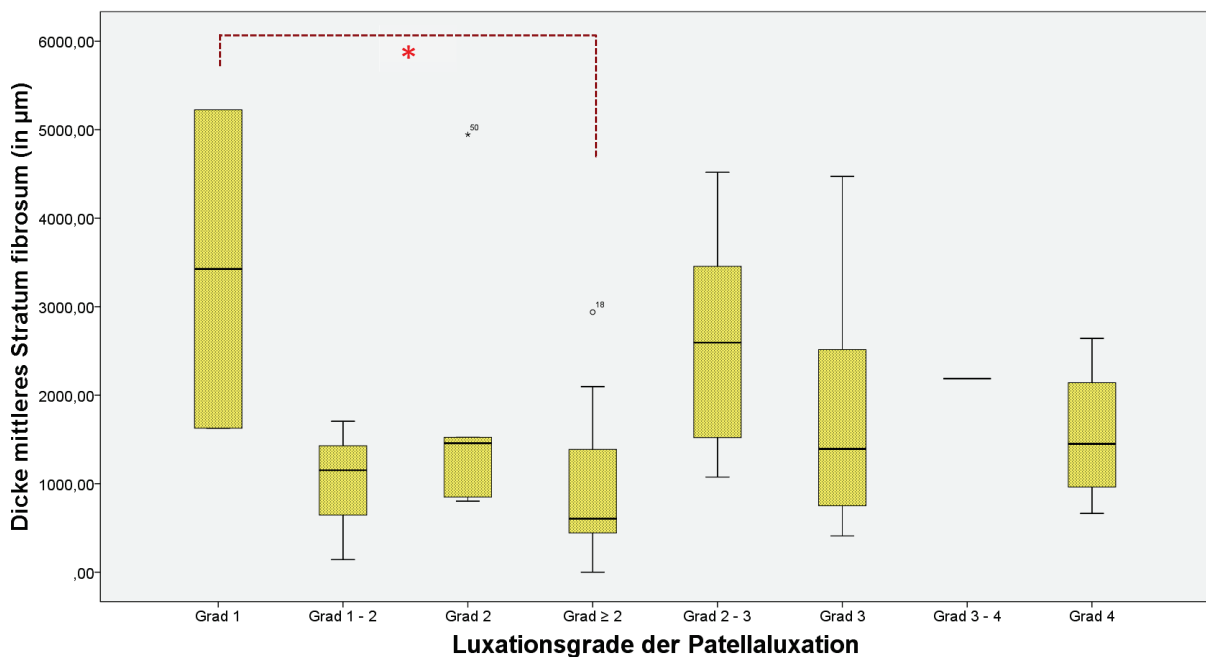


Abbildung 52: Dicken des mittleren Stratum fibrosum bei den verschiedenen Luxationsgraden der Patellaluxation, Signifikanz (*) zwischen Grad 1 und Grad ≥ 2 .

* Signifikanzniveau bei $p < 0.05$

Distaler Abschnitt des Stratum subsynoviale und Ausbildungsgrad der Zotten an der Gelenkinnenoberfläche

Die Fälle ohne Zotten an der Gelenkinnenoberfläche zeigen ein signifikant dünneres Stratum subsynoviale im distalen Abschnitt als jene mit hohen Zotten (P-Wert = 0,030, LSD). Dieser Schichtabschnitt ist bei Fällen ohne Zotten (n = 3) um durchschnittlich 66,85 % dünner als bei denen mit hohen oder vielen Zotten (n = 26). In Abbildung 53 ist dieser signifikante Zusammenhang (*) dargestellt.

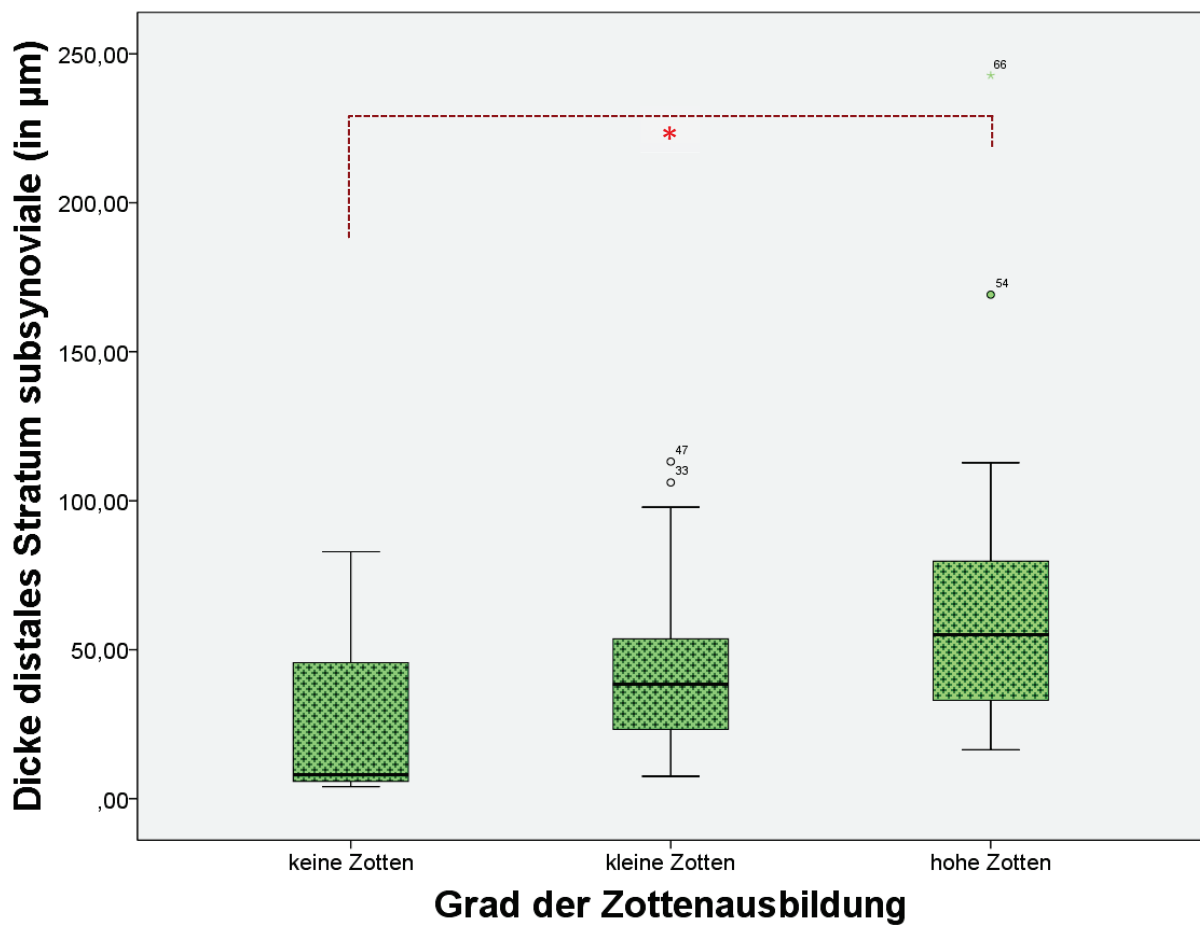


Abbildung 53: Dicken des distalen Stratum subsynoviale bei den drei Graden der Zottenausbildung. Signifikanz (*) zwischen keinen und großen Zotten.

4.3.2.5 Flächenanteile (in %) der Fibrinablagerungen

Die Flächenanteile des im Bindegewebe der Kniegelenkkapsel (Abb. 54 und 55, blau) extrazellulär abgelagerten Fibrins (Abbildung 54, pink bis zinnoberrot) ergaben weder signifikante Unterschiede noch Zusammenhänge zu den Rassegruppen, zum Alter, zum Geschlecht, zum Gewicht, zur Art der Erkrankung, zur Lahmheitsdauer, zum Ausbildungsgrad der Zotten oder zum Gehalt der Kollagene. 13 (16,66 %) von 78 Fällen waren frei von Fibrinablagerungen. Dies betraf 6 Hunde mit einer Patellaluxation, 5 mit einer Kreuzbandruptur und einen mit Patellaluxation und Kreuzbandruptur. Waren Fibrinablagerungen vorhanden, konnten disseminiert über alle drei Schichten sowie im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt der Kniegelenkkapsel lokalisiert werden (Abbildung 54). Die Flächenanteile des Fibrins nahmen dabei zwischen 0,01 % und 29,85 % der Fläche des gesamten Kniegelenkkapselpräparats ein. In 82,22 % der Fälle mit Fibrinablagerungen betrug dieser Flächenanteil bis zu 10 %, in 13,51 % lag er zwischen 10 % und 20 % und in 5,41 % nahm er zwischen 20 und 30 % ein.

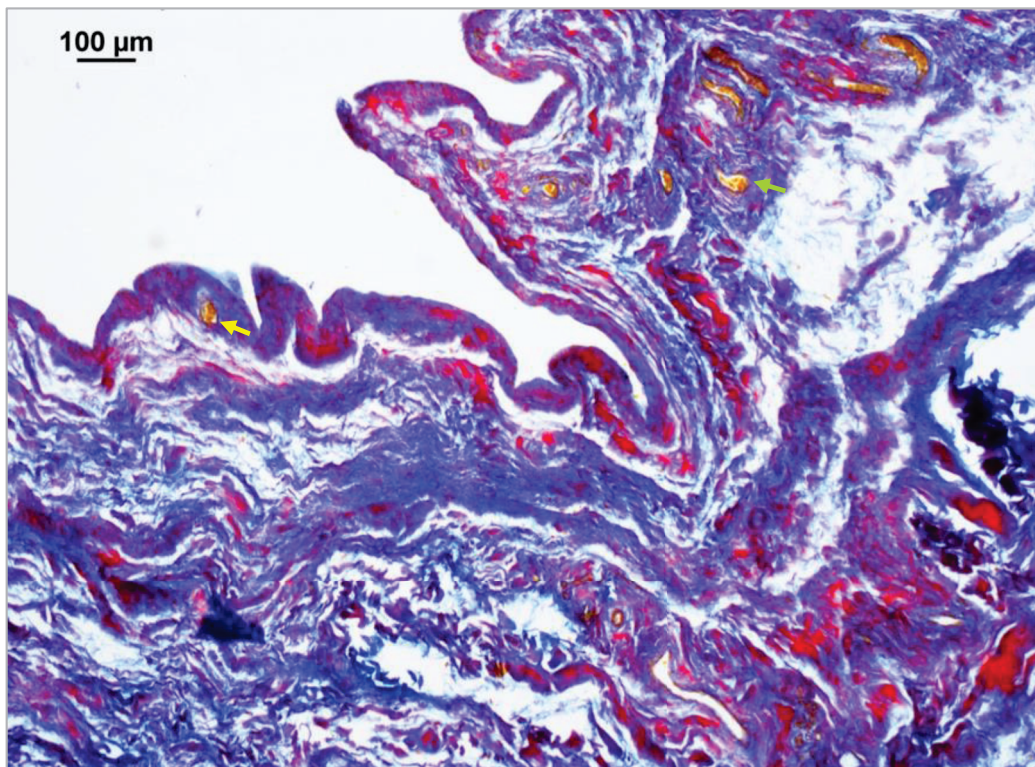


Abb. 54: Femurfraktur; Fibrinablagerungen (pink bis rot) im Bindegewebe (blau) des mittleren Abschnitts des Stratum fibrosum, subsynoviale und synoviale; Gefäße im Stratum synoviale (↖) und fibrosum (↗); Färbung nach LADEWIG.

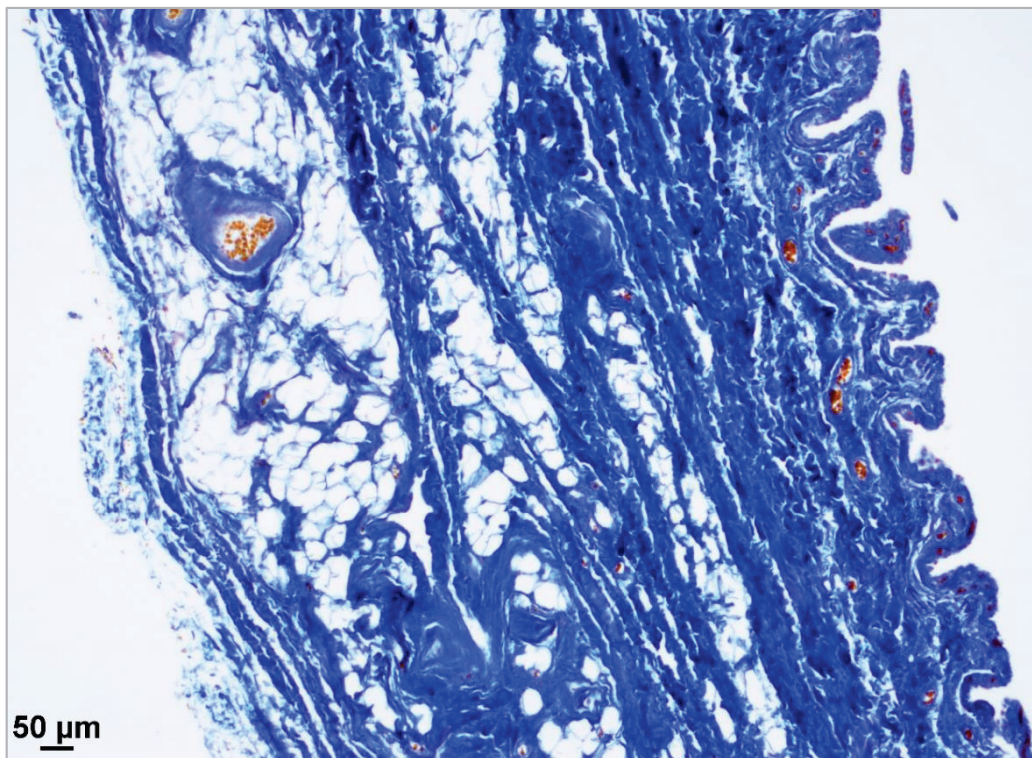


Abb. 55: Patellaluxation; Fibrin-freie Probe; Erythrozyten (orange); Färbung nach LADEWIG.

4.3.2.6 Flächenanteile (in %) des Gesamtkollagens

Da der mittlere Abschnitt des Stratum subsynoviale in 59 von 78 Fällen (75,64 %) fehlte, wurde er von den weiteren Berechnungen zum Gehalt des Gesamtkollagens (in %), zum semiquantitativen Gehalt der immunhistochemisch detektierten Kollagen-Typen sowie dem Gehalt an Fibrinablagerungen (in %) in der Kniegelenkkapsel ausgeschlossen. Die Mittelwerte der Flächenanteile (in %) des Gesamtkollagens waren in allen neun Messbereichen unterschiedlich (Tab.19). Sie wichen jedoch nur geringgradig zwischen dem proximalen, mittleren und distalen Abschnitt innerhalb ein und derselben Schicht der Kniegelenkkapsel voneinander ab. Demensprechend ergaben sich signifikante Korrelationen zwischen den Flächenanteilen der drei Abschnitte jeweils untereinander in jeder Schicht (Abb. 56). Deutlich ausgeprägter waren die Unterschiede hingegen in den Flächenanteilen der Kollagenfasern zwischen den drei Schichten. Die größten Flächenanteile wies das Stratum subsynoviale auf, in dem das Gesamtkollagen zwischen 61,11 % im proximalen Abschnitt und 64,41 % im mittleren Abschnitt einnahm. Das Stratum fibrosum wies nur gering kleinere Flächenanteile auf (51,19 % - 53,63 %), weshalb der Flächenanteil des Gesamtkollagens im proximalen Abschnitt des Stratum subsynoviale mit dem im mittleren und distalen Abschnitt des Stratum fibrosum stark korrelierten (P-Wert = 0,004 bzw. 0,008, Bonferroni) und der mittlere Abschnitt des Stratum subsynoviale mit dem distalen Abschnitt des Stratum fibrosum mäßig korrelierte (P-Wert = 0,037, Bonferroni). Im Stratum synoviale waren die geringsten Flächenanteile des Gesamtkollagens zu vermerken. Sie lagen zwischen 42,93 und 44,93 %.

Tabelle 19: Flächenanteile (in %) des Gesamtkollagens in den neun Messbereichen

Schichtabschnitt	Flächenanteil (in %) des Gesamtkollagens			
	Mittelwert	Stabw	Minimum	Maximum
proximales Stratum fibrosum	53,6299	17,05601	16,20	88,50
mittleres Stratum fibrosum	51,2265	18,66629	15,50	97,60
distales Stratum fibrosum	51,1932	16,72468	12,30	81,75
proximales Stratum subsynoviale	61,1115	17,27282	19,90	88,15
mittleres Stratum subsynoviale	64,4132	20,13773	34,40	88,95
distales Stratum subsynoviale	62,0389	18,46589	0,00	98,30
proximales Stratum synoviale	44,0431	22,34677	5,20	93,10
mittleres Stratum synoviale	42,9341	22,45271	2,05	94,90
distales Stratum synoviale	44,9297	21,90141	8,50	86,90

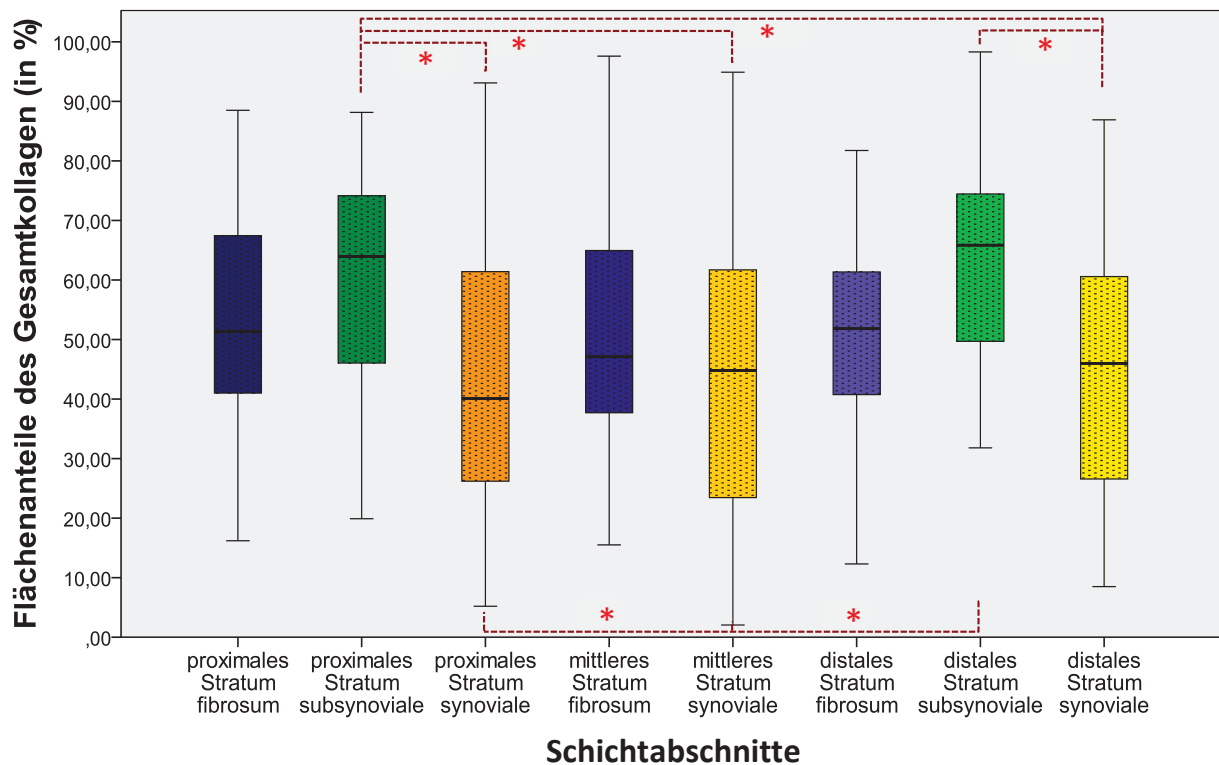


Abbildung 56: Flächenanteile des Gesamtkollagens in den verschiedenen Schichten und Abschnitten der Kniegelenkkapsel.

Die Unterschiede zwischen den Flächenanteilen des Gesamtkollagens im proximalen und im distalen Abschnitt des Stratum subsynoviale und jenen des proximalen und distalen Abschnitts des Stratum synoviale waren im selben Abschnitt der Kniegelenkkapsel jeweils signifikant (P-Werte jeweils = 0,000, Bonferroni). Außerdem war der Flächenanteil im proximalen Bereich des Stratum subsynoviale signifikant höher als jener im mittleren und im distalen Abschnitt des Stratum synoviale (P-Wert jeweils = 0,000). Vergleichbar damit war der distale Abschnitt des Stratum subsynoviale signifikant mehr mit Kollagenfasern ausgestattet als der proximale und mittlere Bereich des Stratum synoviale (P-Wert = 0,000, Bonferroni). In Abbildung 56 sind die signifikanten Unterschiede dargestellt und markiert (*).

Statistische Auswertungen der Flächenanteile des Gesamtkollagen in den verschiedenen Messbereichen ergaben keine signifikanten Zusammenhänge oder Unterschiede hinsichtlich der Altersverteilung, dem Geschlecht, der Gewichtsklassen, der Art der Erkrankung, der Lahmheitsdauer, dem Grad der Patellaluxation, der Unterscheidung zwischen ein- und beidseitiger Patellaluxation, dem Ausbildungsgrad der Zotten an der Gelenkkapsel-Innenoberfläche und dem Flächenanteil an Fibrinablagerungen. Bezüglich der Rassegruppen weisen mittelgroße Hunde (n = 19) im proximalen Abschnitt des Stratum fibrosum um 29,75 % signifikant weniger Gesamtkollagen auf als große Hunde (n = 10).

4.4 Immunhistochemische Ergebnisse

4.4.1 Signifikante Korrelationen der Kollagene bezüglich ihrer Lokalisation

Die Kollagen Typen waren in den Biopтатаen nicht nur in verschiedenen Stellen lokalisiert, sondern auch unterschiedlich konzentriert in der Kniegelenkkapsel. Die Kollagen Typen I und III kamen mit dichten Kollagenfaserbündeln in der gesamten Kniegelenkkapsel kraniolateral vor. In allen analysierten Bereichen waren sie verglichen zu den anderen Kollagenen am häufigsten (Abbildungen 57, 58, 59 und 60). Kollagen Typ IV fand sich in allen Proben nur in arteriellen und venösen Gefäßwänden, vor allem im Stratum fibrosum, weniger konzentriert im Stratum subsynoviale und kaum im Stratum synoviale (Abbildungen 61 und 62). Äußerst interessant ist im Hinblick auf die Lokalisation, dass Kollagen Typ V bei allen Tieren abgesehen von denen mit Patellaluxation nur im Stratum synoviale nachgewiesen wurde (Abbildungen 63 und 64). Kollagen Typ VI war vergleichbar den Typen I und III verteilt, aber quantitativ verschieden wie aus den Abbildungen 61 und 62 zu ersehen ist. Im Folgenden werden die verschiedenen Kollagenverteilungsmuster in den Kniegelenkkapselbiopтатаen im Hinblick auf Rasse, Erkrankung sowie Lahmheitsdauer erläutert und dargestellt.

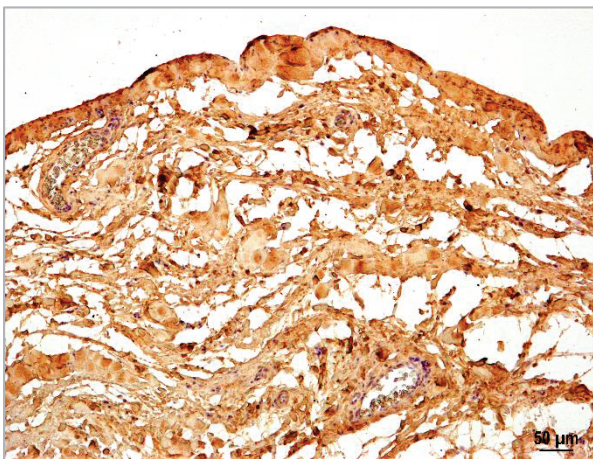


Abbildung 57: Patellaluxation; dichtes Fasergeflecht aus **Kollagen Typ I** (braun) in der gesamten Kniegelenkkapsel.

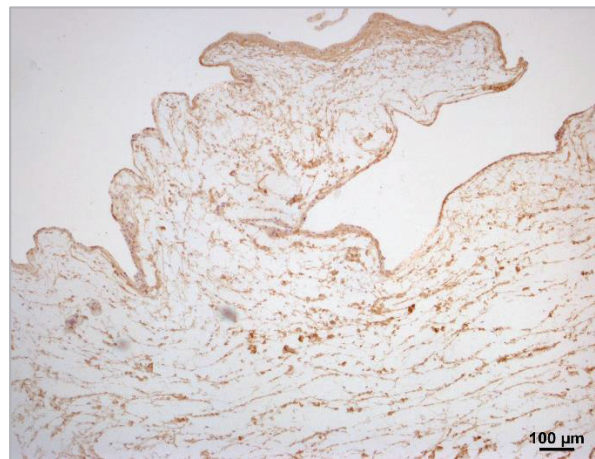


Abbildung 58: Femurfraktur; locker angeordnetes **Kollagen Typ I** (braun) in allen drei Schichten der Gelenkkapsel.

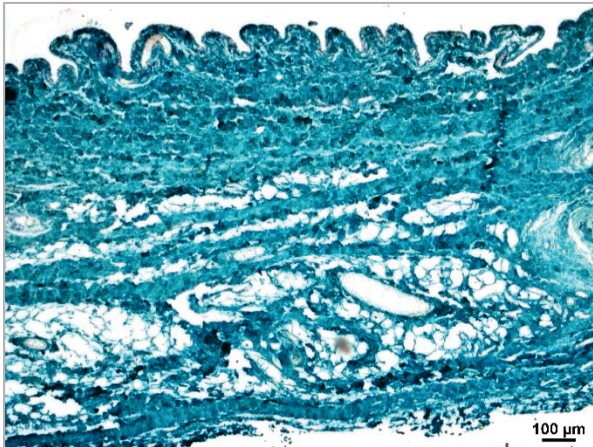


Abbildung 59: Patellaluxation; **Kollagen Typ III** (blaugrün) ist über die gesamte Gelenkkapsel dicht verteilt.

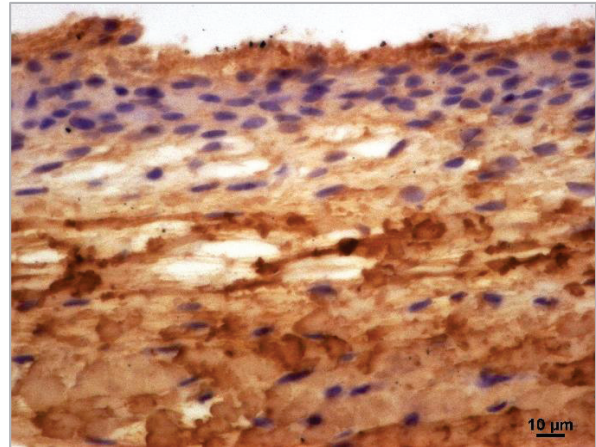


Abbildung 60: Kreuzbandruptur; **Kollagen Typ III** kommt gehäuft im Stratum synoviale und fibrosum vor.

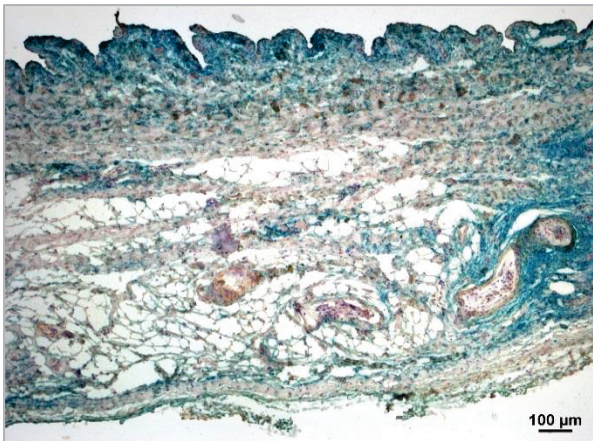


Abbildung 61: Patellaluxation; **Kollagen Typ IV** (braun) kommt an der Basalmembran der Gefäße vor; Kollagen Typ VI (blaugrün) diffus in allen drei Schichten.

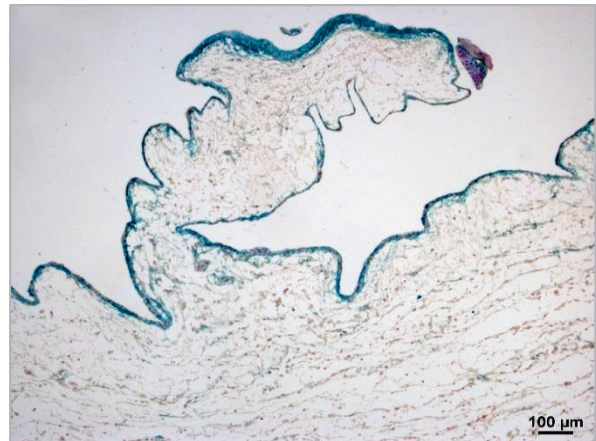


Abbildung 62: Femurfraktur; **Kollagen Typ IV** (braun) kommt nur gering in Gefäßen vor, Kollagen Typ VI (blaugrün) ausschließlich im Stratum synoviale.

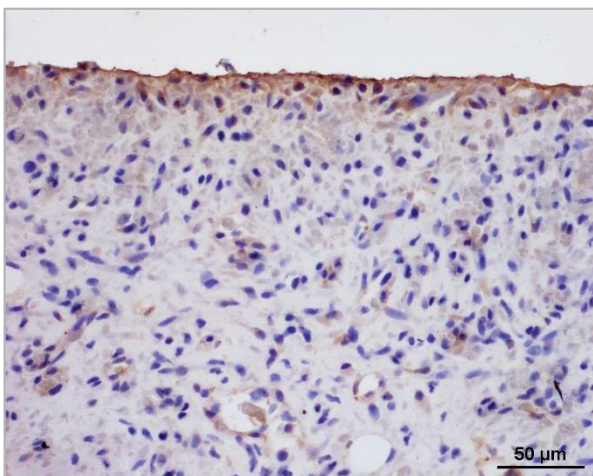


Abbildung 63: Patellaluxation; **Kollagen Typ V** verteilt sich vorwiegend im Stratum synoviale.

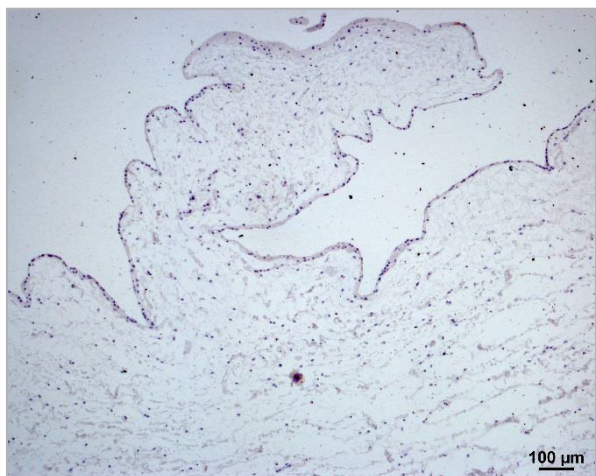


Abbildung 64: Femurfraktur; **Kollagen Typ V**-freie Kniegelenkkapsel-Probe.

Von **Kollagen Typ I** korrelieren die durchschnittlichen Score-Werte der drei Schichten und der drei Abschnitte stark miteinander (Signifikanzniveau $< 0,01$). Allerdings fällt der mittlere Abschnitt des Stratum subsynoviale heraus, da er mit keinem anderen Schichtabschnitt korreliert.

Auch die Score-Werte für **Kollagen Typ III** aus dem mittleren Abschnitt des Stratum subsynoviale korrelieren nicht mit denen aus den anderen Abschnitten und Schichten, während sie mit denen in den anderen Lokalisationen und Schichten mäßig bis stark korrelieren. Der Kollagen Typ III-Score aus dem proximalen Abschnitt im Stratum fibrosum korreliert nur nicht mit dem aus dem mittleren Abschnitt des Stratum subsynoviale und nicht mit dem aus dem distalen Abschnitt des Stratum synoviale. Auch ließ sich kein Zusammenhang zwischen Werten aus dem mittleren Abschnitt des Stratum fibrosum mit dem aus dem distalen Abschnitt des Stratum synoviale sowie mit dem aus dem distalen Abschnitt des Stratum fibrosum und mit dem mittleren Abschnitt des Stratum synoviale feststellen.

Wie aus den **Kollagen Typ IV**-Scores des mittleren Abschnitts des Stratum subsynoviale und dem des distalen Abschnitts des Stratum fibrosum zu sehen ist, besteht eine Korrelation. Dies trifft nicht auf die übrigen Abschnitte zu.

Der **Kollagen Typ V**-Score aus dem mittleren Abschnitt des Stratum subsynoviale wies keinen Zusammenhang mit den andere Lokalisationen auf. Die mäßigen Korrelationen des Typ V-Scores ergaben sich aber zu dem des proximalen Abschnitts des Stratum subsynoviale und dem des proximalen und des distalen des Stratum synoviale. Zudem korreliert der Typ V-Score aus dem distalen Abschnitt des Stratum subsynoviale mit jenen aller drei Abschnitte des Stratum synoviale.

Kollagen Typ VI korreliert mit allen Scores der Schichtabschnitte außer mit dem aus dem proximalen Abschnitt des Stratum synoviale und dem aus dem distalen Abschnitt des Stratum subsynoviale. Wiederum korreliert kein Schichtabschnitt Score abgesehen vom distalen Abschnitt des Stratum fibrosum mit dem des Stratum subsynoviale.

4.4.2. Scores der Kollagen Typen I, III, IV, V und VI hinsichtlich der vier Rassegruppen

Die Verteilung der untersuchten Kollagen Typen ist in den vier Rassegruppen verschieden (Abb. 65). Nichtparametrische Tests nach Mann-Whitney-U für unabhängige Stichproben ergaben signifikante Unterschiede zwischen den vier Rassegruppen in den neun verschiedenen Messbereichen. Anhand der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) wurden die Signifikanzen überprüft.

Toy-Hunde

Signifikante Unterschiede im Kollagenmuster der Kniegelenkkapsel von Toy-Hunden wurden zu jenem von kleinen und großen Hunden gefunden. Während Kollagen Typ I bei Toy-Hunden insgesamt vergleichbar häufig (Score = 2,72) auch bei mittelgroßen (Score = 2,75) und großen Hunden (Score = 2,33) vorkommt, war der Unterschied signifikant im Vergleich zu den kleinen Hunden. Bei Toy-Hunden kommt Kollagen Typ I (Score = 2,72) im proximalen Abschnitt des Stratum fibrosum signifikant häufiger als bei kleinen Hunden vor (Score = 1,88) (P-Wert = 0,05, Bonferroni). Toy-Hunde (Score = 2,39) haben im proximalen Abschnitt des Stratum subsynoviale ein signifikant dichteres Fasergeflecht an Kollagen Typ I als große Hunde (Score = 0,58) (P-Wert = 0,011, Bonferroni). Eine Signifikanz ließ sich auch Kollagen Typ III zwischen Toy-Hunden (Score = 1,87) und großen Hunden (Score = 1,03) nachweisen (P-Wert = 0,047, Bonferroni). Kollagen Typ III kommt signifikant häufiger bei Hunden der Toy-Rassen als bei denen größer vor. Für Kollagen Typen IV, V und VI ließen sich zwischen Toy- und den Hunden anderer Rassegruppen keine signifikanten Differenzen feststellen.

Kleine Hunde

Bei kleinen Hunden (Score = 1,88) kommt Kollagen Typ I nicht nur im proximalen Abschnitt des Stratum fibrosum signifikant seltener als bei den Toys (Score = 2,72) dieser Studie vor, sondern diese Signifikanz ließ sich auch für mittelgroße Hunde (Score = 2,75) in demselben Schichtabschnitt aufdecken (P-Wert = 0,007, Bonferroni). Auch Kollagen Typ I war im mittleren Abschnitt des Stratum fibrosum bei kleinen Hunden (Score = 1,87) signifikant seltener als bei mittelgroßen Hunden (Score = 2,66) nachweisbar (P-Wert = 0,028, Bonferroni). Hinsichtlich der Kollagen Typen III, IV, V und VI bestanden keine Unterschiede zwischen kleinen und den Hunden anderer Rassen.

Mittelgroße Hunde

Mittelgroße Hunde wiesen im Vergleich zu den anderen die meisten Differenzen im Kollagen-Verteilungsmuster und / oder seiner Dichte auf. Neben den bereits genannten signifikanten Unterschieden bei Kollagen Typ I im proximalen und mittleren Abschnitt des Stratum fibrosum im Vergleich kleine zu großen Hunden wurde dies auch bei Kollagen Typ III aufgedeckt. So konnte bei mittelgroßen Hunden (Score = 2,00) im proximalen Abschnitt des Stratum subsynoviale ein dichteres Fasergeflecht an Kollagen Typ I als bei großen (Score = 0,58) gefunden werden (P-Wert = 0,011, Bonferroni), Kollagen Typ III war im distalen Abschnitt des Stratum synoviale bei mittelgroßen Hunden (Score = 1,71) signifikant dichter als bei großen (Score = 0,36) war (P-Wert = 0,016, Bonferroni). Kollagen der Typen IV, V und VI waren dagegen in den vier Rassegruppen nicht signifikant different.

Große Hunde

Große Hunde zeigten insgesamt ein weniger dichtes Kollagenfasergeflecht der untersuchten Kollagen Typen als alle kleineren Rassegruppen (Abb. 65). Signifikante Unterschiede gab es wie oben erwähnt bezüglich des Kollagen Typen I im proximalen Stratum subsynoviale von großen Hunden (Score = 0,58) zu Toy- (Score = 2,39) und mittelgroßen Hunden (Score = 2,00). Im Falle von Kollagen Typ III im distalen Stratum synoviale zeigten große Hunde (Score = 0,38) einen signifikant geringeren Gehalt als mittelgroße Hunde (Score = 1,71) und Toy-Hunde (2,19) (P-Wert = 0,47, Bonferroni). Zu den Kollagen Typen I, V und VI gab es keine signifikanten Unterschiede.

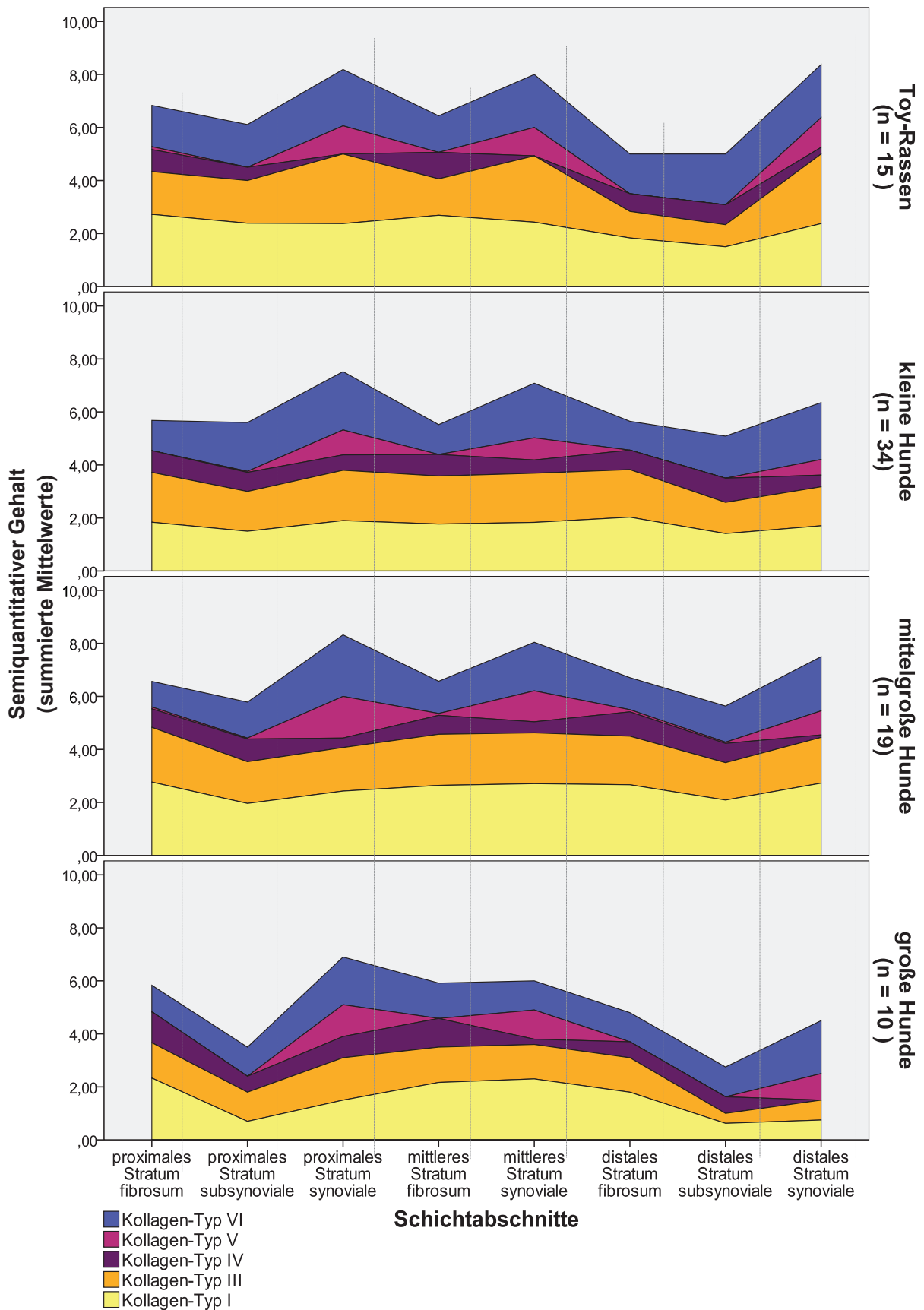


Abbildung 65: Semiquantitativer Gehalt der untersuchten Kollagen Typen bei den vier Rassegruppen

4.4.3. Scores der Kollagen Typen I, III, IV, V und VI hinsichtlich der vier Erkrankungen

Die Scores für die untersuchten Kollagen Typen bei den verschiedenen Erkrankungen zeigte ein ähnliches Muster wie die entsprechenden prädisponierten Rassegruppen (Abbildung 66). Insgesamt waren sich Hunde mit einer Patellaluxation, jene mit einer Kreuzbandruptur und jene mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur in ihrem jeweiligen Kollagenmuster sehr ähnlich. Davon unterschieden sich die Scores der untersuchten Kollagen Typen von Hunden mit einer Femurfraktur und den Kontrollen von den anderen drei Gruppen.

Bei allen Erkrankungen waren die Kollagen Typen I, III und VI am häufigsten vertreten und kommen außer bei Hunden mit einer Femurfraktur und bei den Kontrollen in allen Schichtabschnitten in annähernd gleichem Gehalt vor.

Während die **Kollagen Typen I** und **III** bei Hunden mit Patellaluxation, jenen mit einer Kreuzbandruptur und jenen mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur gleichmäßig in allen Abschnitten und Schichten der Kniegelenkkapsel vorkamen, traf dies nicht auf Hunde mit einer Femurfraktur und auf die Kontrollen zu. Bei dieser Gruppe überwog der Gehalt an Kollagen Typ III deutlich im Vergleich zu Kollagen Typ I in allen Schichtabschnitten.

Im Falle von **Kollagen Typ IV** - welcher ausschließlich nahe der Basalmembran von Gefäßen lokalisiert ist - konnte eine relativ gleichmäßige Verteilung in allen Schichten und Abschnitten der Kniegelenkkapsel beobachtet werden. Außerdem waren dabei keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Erkrankungen feststellbar. Bei Hunden mit einer Patellaluxation und jenen mit einer Kreuzbandruptur konnte ein gleichmäßiges Vorkommen in allen Schichtenabschnitten beobachtet werden. Bei Hunden mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur hingegen waren das proximale und das mittlere Stratum synoviale sowie das distale Stratum subsynoviale frei von Kollagen Typ IV. Im Gegensatz dazu war bei Hunden mit einer Femurfraktur und bei den Kontrollen ein vermehrter Gehalt an Kollagen-Typ IV im proximalen, mittleren und distalen Stratum fibrosum festzustellen.

Kollagen Typ V kam konzentriert im Stratum synoviale vor. Nur bei Hunden mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur trat Kollagen Typ V zusätzlich im proximalen Stratum subsynoviale auf. Sein Gehalt unterschied sich zwischen den Erkrankungen signifikant. Hunde mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur wiesen mehr Kollagen Typ V (Score = 0,33) im proximalen Stratum subsynoviale auf als Hunde mit einer Patellaluxation (Score = 0,01) (P-Wert = 0,001, Bonferroni). Bei Hunden mit einer Kreuzbandruptur, bei jenen mit einer Femurfraktur und bei den Kontrollen war dieser Schichtabschnitt frei von Kollagen Typ V,

weshalb sie um 100 % signifikant weniger Kollagen Typ V als Hunde mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur aufwiesen (P-Wert = 0,002, Bonferroni).

Weitere Unterschiede ergaben sich bezüglich des **Kollagen Typs VI**. Die Scores des semiquantitativen Gehalts an Kollagen Typ VI aller Abschnitte und Schichten der Kniegelenkkapsel zeigten die höchsten Werte in der Gruppe der Hunde mit einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur, gefolgt von Hunden mit einer Patellaluxation und jenen mit einer Kreuzbandruptur. Im Gegensatz dazu lagen bei Hunden mit einer Femurfraktur und bei den Kontrollen die niedrigsten Scores für Kollagen Typ VI vor. Sie nahmen in proximo-distaler Richtung ab (Abbildung 66).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Peaks im Kollagenprofil der chronischen Erkrankungen - also der Patellaluxation, der Kreuzbandruptur und einer Kombination aus beiden - durch das vermehrte Auftreten der Kollagen Typen V und VI im Stratum synoviale charakterisiert sind, während diese bei der akuten Erkrankung der Femurfraktur und den Kontrollen im Stratum fibrosum durch den Gehalt des Kollagen Typen IV gekennzeichnet sind.

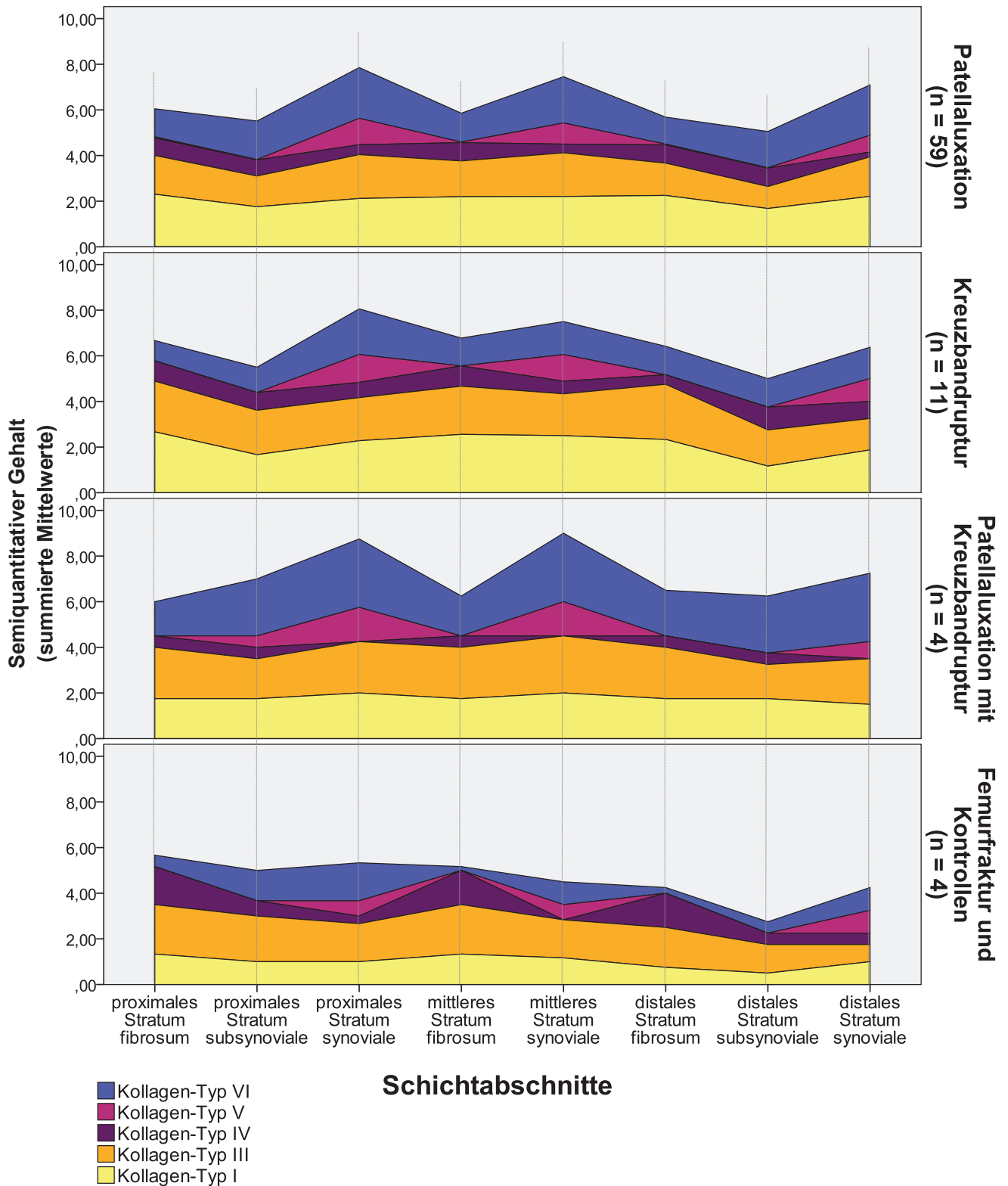


Abbildung 66: Semiquantitativer Gehalt der untersuchten Kollagen-Typen bei den vier Erkrankungen

4.4.4. Scores der Kollagen Typen I, III, IV, V und VI hinsichtlich der Lahmheitsdauer

Zunächst wurden die proximalen, mittleren und distalen Abschnitte jeder Schicht miteinander verglichen. Da sich mit Ausnahme des distalen Stratum fibrosum innerhalb einer Schicht keine Unterschiede zeigten, wurden die Score-Werte des jeweiligen Kollagen Typs in einer Schicht gemittelt.

Die Auswertung der Zusammenhänge zwischen dem Score der Ausprägung der untersuchten Kollagen-Typen in der Kniegelenkkapsel und den unterschiedlich langen Lahmheiten der untersuchten Hunde ergab signifikante Unterschiede im Falle der Kollagen Typen I, III und VI. Dabei lagen die Unterschiede immer, außer im Falle von Kollagen Typ III, zwischen einem perakuten oder einem akuten Stadium einer Lahmheit einerseits und einem subchronischen oder einem chronisch-progredientem Stadium andererseits vor, wobei der Gehalt der jeweiligen Kollagen Typen (I, III oder VI) bei kürzeren Lahmheiten immer geringer war als bei langen Lahmheiten (Abbildung 67).

Im Falle des Gehaltes von **Kollagen Typ I** in der gesamten Kniegelenkkapsel unterschieden sich die Fälle mit einer perakuten Lahmheit signifikant einerseits von jenen mit einer subchronischen Lahmheit (P-Wert = 0,031, Bonferroni) und andererseits von jenen mit einer chronisch-progredienten Lahmheit (P-Wert = 0,030, Bonferroni). Hunde mit einer perakuten Lahmheit zeigten einen Score für Kollagen Typ I von 1,59 im Vergleich zur subchronischen Lahmheit mit 2,25 und 2,16 bei einer chronisch-progredienten Lahmheit. Ergebnisse bei Hunden mit einer akuten Lahmheit (Score = 1,67) unterschieden sich signifikant von Hunden mit einer subchronischen Lahmheit (Score = 2,25) und mit einer chronisch-progredienten Lahmheit (Score = 2,16) (P-Wert = 0,041 bzw. 0,033, Bonferroni).

Kollagen-Typ III zeigte bei akuten Lahmheiten im distalen Stratum fibrosum einen signifikant geringeren Gehalt an Kollagen Typ III (Score = 0,63) als Hunde mit einer subakuten Lahmheit (Score = 3) (P-Wert = 0,024, Bonferroni).

Kollagen-Typ VI kam bei Hunden mit einer perakuten Lahmheit (Score = 1,12) signifikant weniger vor als bei Hunden mit einer subchronischen Lahmheit (Score = 2,07) (P-Wert = 0,001). In Fällen mit einer akuten Lahmheit (Score = 1,39) konnte ein signifikant geringerer Gehalt an Kollagen Typ VI festgestellt werden als bei Hunden, die wegen einer subchronischen Lahmheit vorgestellt worden waren (Score = 2,07).

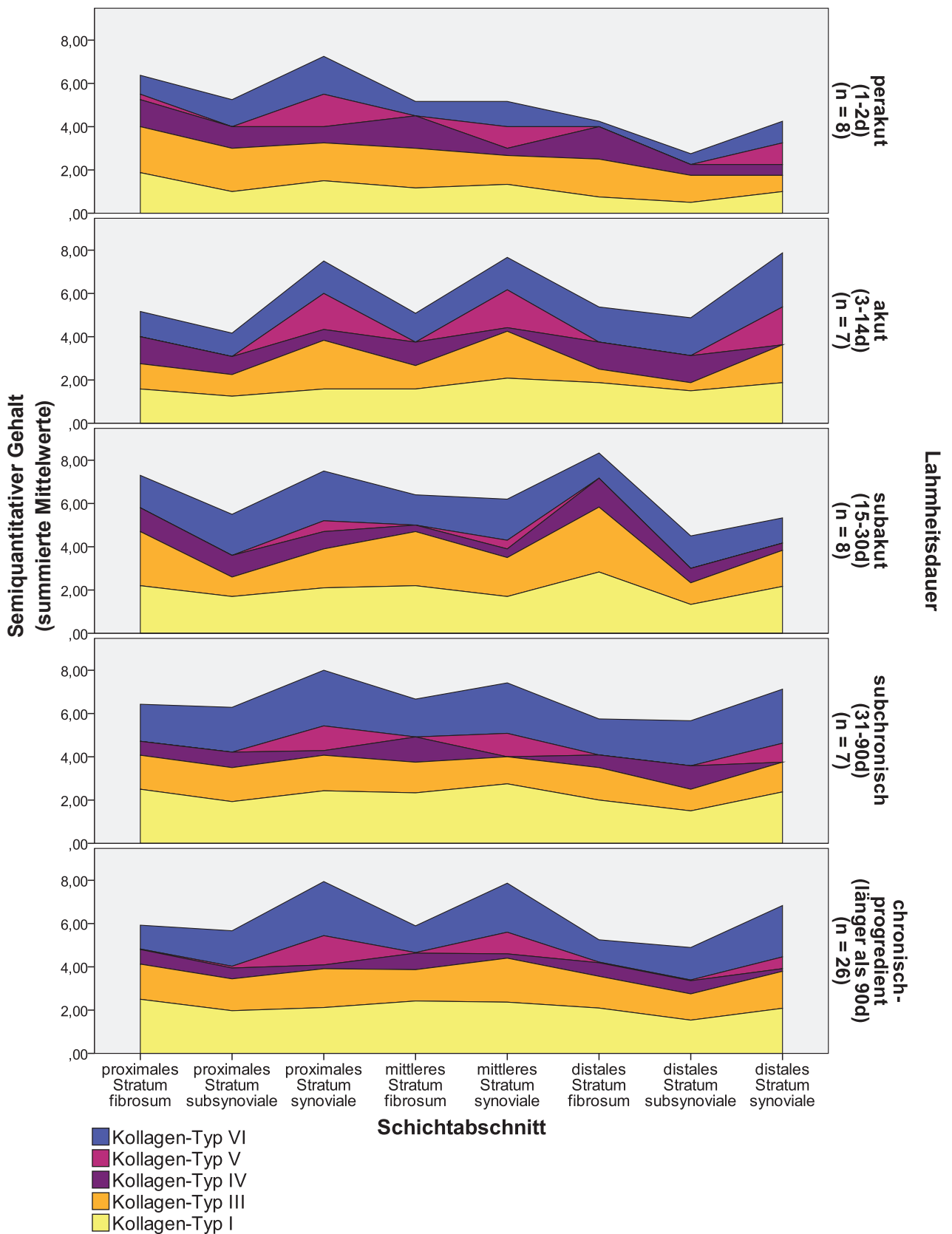


Abbildung 67: Semiquantitativer Gehalt der untersuchten Kollagen-Typen in den unterschiedlichen Stadien der Lahmheit.

4.4.5. Spezielle Beobachtungen bei zwei Fällen - Verknorpelung der Gelenkkapsel

Bei zwei Hunden der untersuchten Stichprobe, einer 3,5 Jahre alten, weiblichen Mischlingshündin (> 20 kg) und einem 9 Jahre alten, männlich kastrierten Mischlingsrüden (10 - 20 kg), fielen in der Gelenkkapsel mehrere Areale aus **Faserknorpelgewebe** auf. Die Hündin wurde wegen einer Patellaluxation Grad 1° bis 2° mit chronisch-progredientem Krankheitsverlauf operiert, bei dem Rüden lagen eine Patellaluxation Grad 2° und eine Kreuzbandruptur vor. In beiden Fällen bestand die Patellaluxation einseitig zum Zeitpunkt der Vorstellung in der Klinik.

Die Verknorpelungszonen konnten ausschließlich im mittleren Kniegelenkkapsel-Abschnitt lokalisiert werden, wo sie im Stratum fibrosum und im Stratum synoviale zu beobachten waren. Ein mittleres Stratum subsynoviale fehlte in beiden Fällen.

Im **Stratum fibrosum** formte das Faserknorpelgewebe mehrere diffus verteilte, rundliche Areale, in denen mehrere, heterochromatische Chondrozyten, die in rundlicher bis ovaler Form einzeln in eine azidophile, interterritoriale Substanz eingebettet waren (Abbildung 68). Von diesen gut abgrenzbaren Arealen zogen faserknorpelige Straßen zu umliegenden Faserknorpel-Arealen (Abbildung 69), wodurch insgesamt eine netzartige Struktur mit mehreren ausgedehnten Knotenpunkten aus Faserknorpel entstand. In die wabenartige Textur des Faserknorpels waren Reste des normalen, kollagenfaserreichen Stratum fibrosum eingefasst, welches in diesen beiden Fällen markant hohe Flächenanteile des Gesamtkollagens aufwies (92,40 - 97,60 %). An manchen Stellen klaffte das mittlere Stratum fibrosum großlumig auseinander und es formten sich dadurch circa 50 bis 225 µm große Hohlräume, deren luminale Begrenzungen vorwiegend zellos waren und aus azidophiler Interzellulärsubstanz bestanden. Vereinzelt ragten Chondrozyten und Fibrozyten nach luminal, die von wenigen elastischen Fasern begleitet waren. Daran anschließend folgte straffes Bindegewebe mit einem dichten Kollagenfasergeflecht und Faserknorpelareale, in dem der Flächenanteil des Gesamtkollagens an den meisten Lokalisationen sogar über 96 % lag. An einigen Stellen war das Stratum fibrosum nur mehr rudimentär vorhanden und weitestgehend von Faserknorpelgewebe ersetzt worden. Ein Perichondrium fehlte in beiden Fällen (Abb. 68 und 69).

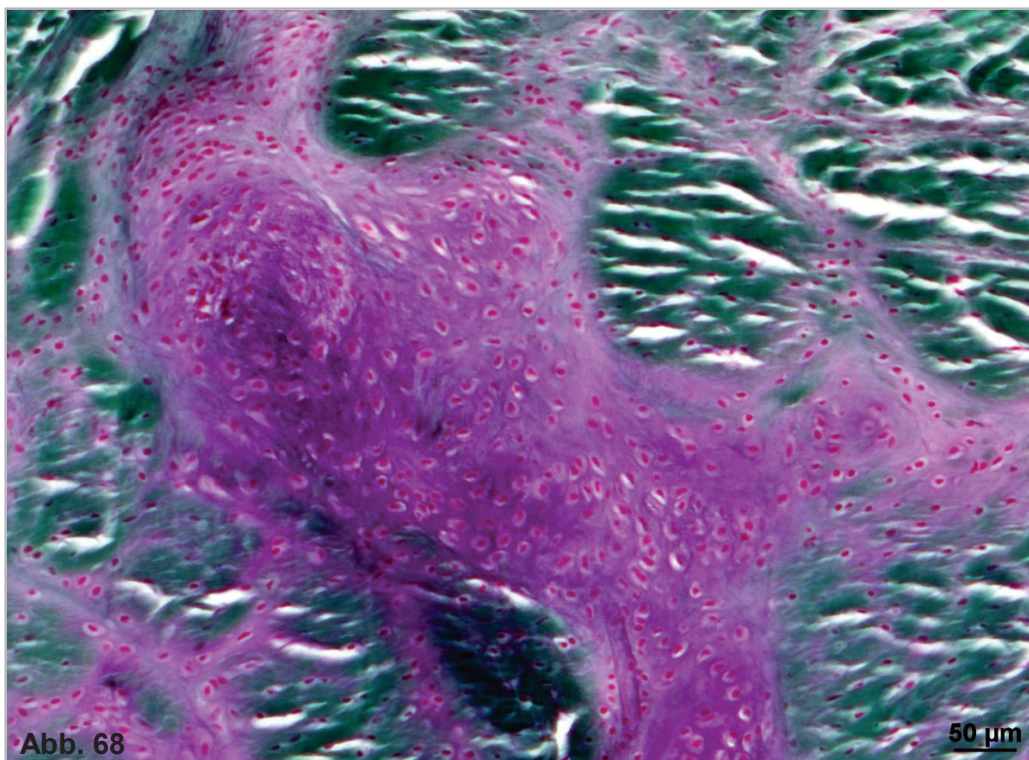
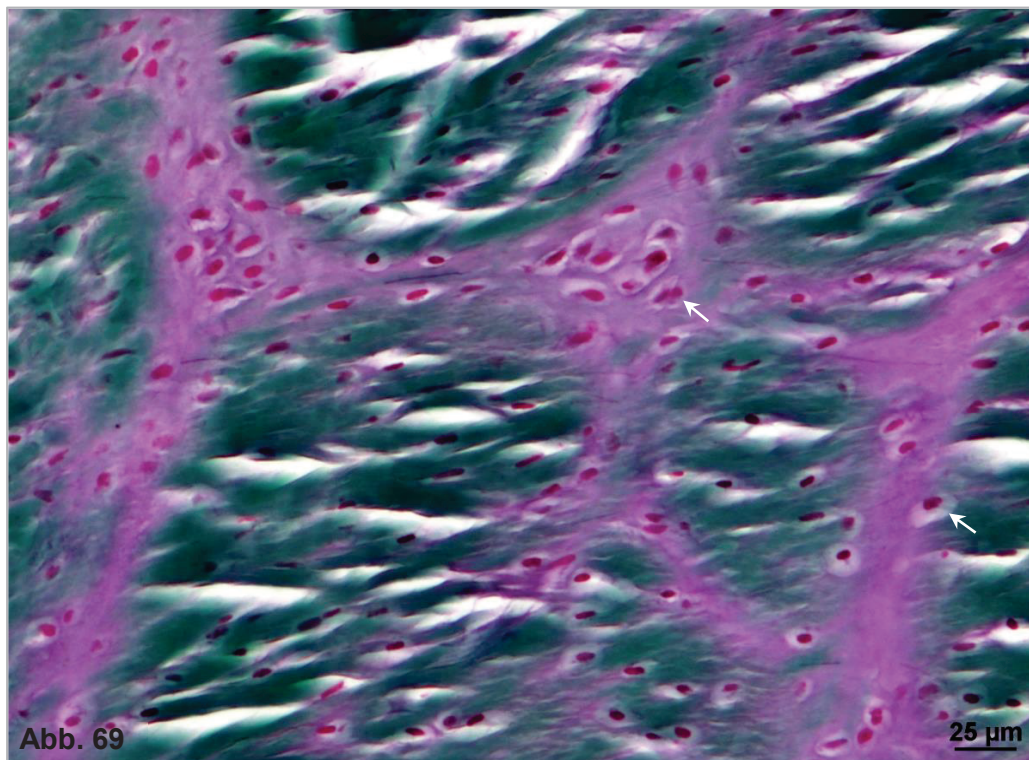


Abbildung 68 und 69: Faserknorpelgewebe (lila) inmitten des Stratum fibrosum. Es wird von verdichteten Kollagenfaserbündeln (grün) begleitet, in dem sich Chondrozyten (Pfeile) ansiedeln und ein faserknorpeliges Netzwerk mit interterritorialer Substanz (lila) anlegen. Färbung nach VOLKMANN-STRAUß.

Das **Stratum synoviale** war minimal dünn (circa 2 - 4 μm) und zellarm. Die Synovialzellen waren durch azidophile, rund-ovale Chondrozyten mit einem gut ausgebildeten, hellrosa gefärbten Zytoplasma ersetzt, die direkt bis zur Innenoberfläche der Gelenkkapsel vorragten (Abbildung 70, 71) und einen ein - bis zweischichtigen Abschluss der Gelenkkapsel bilden. Stellenweise waren sie von spindelförmigen Fibrozyten begleitet. Interterritoriale Substanz füllte den Raum zwischen den Zellen des Stratum synoviale. Unmittelbar daran anschließend folgte das Stratum fibrosum.

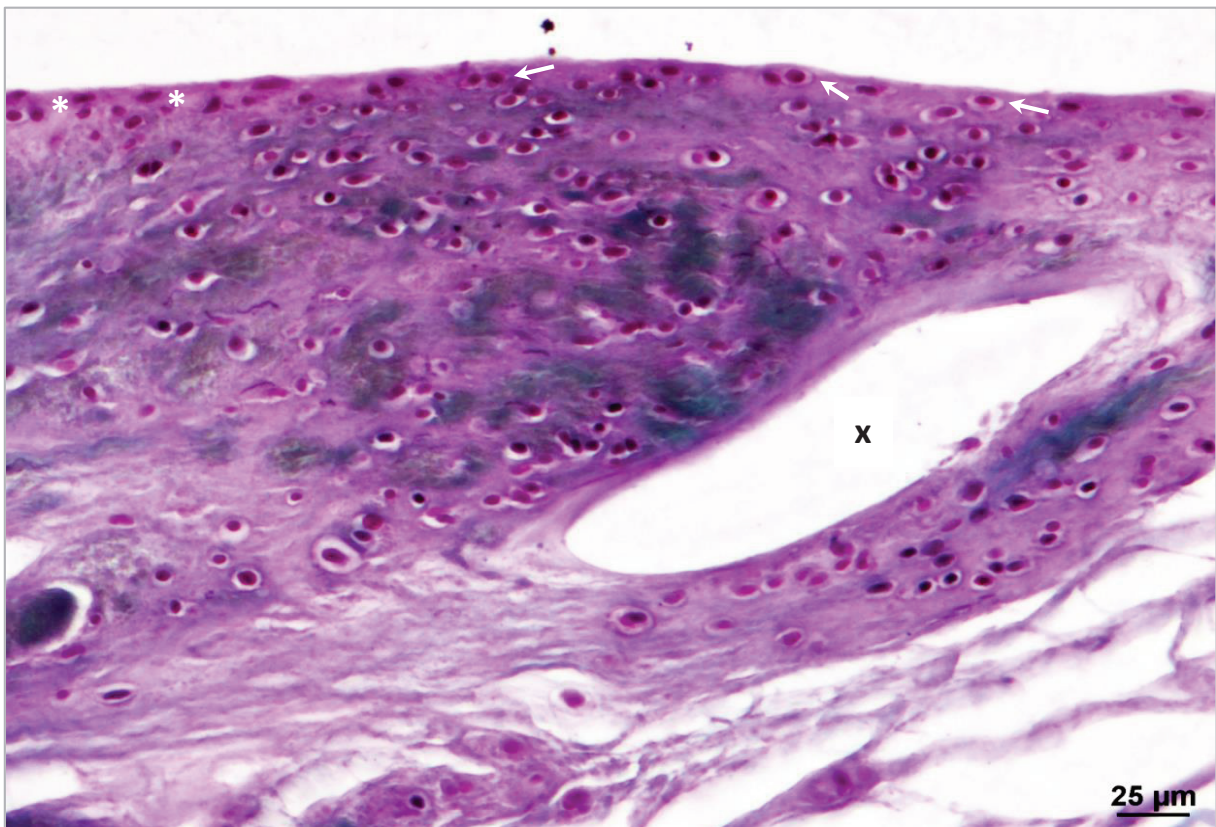


Abbildung 70: Stratum synoviale mit Chondrozyten (Pfeile) und Fibrozyten (*). Daran anschließendes Stratum fibrosum (grün) mit 50 x 225 μm großem Hohlraum (x) wurde weitgehend von Faserknorpelgewebe (lila) ersetzt. Färbung nach VOLKMANN-STRAUß.

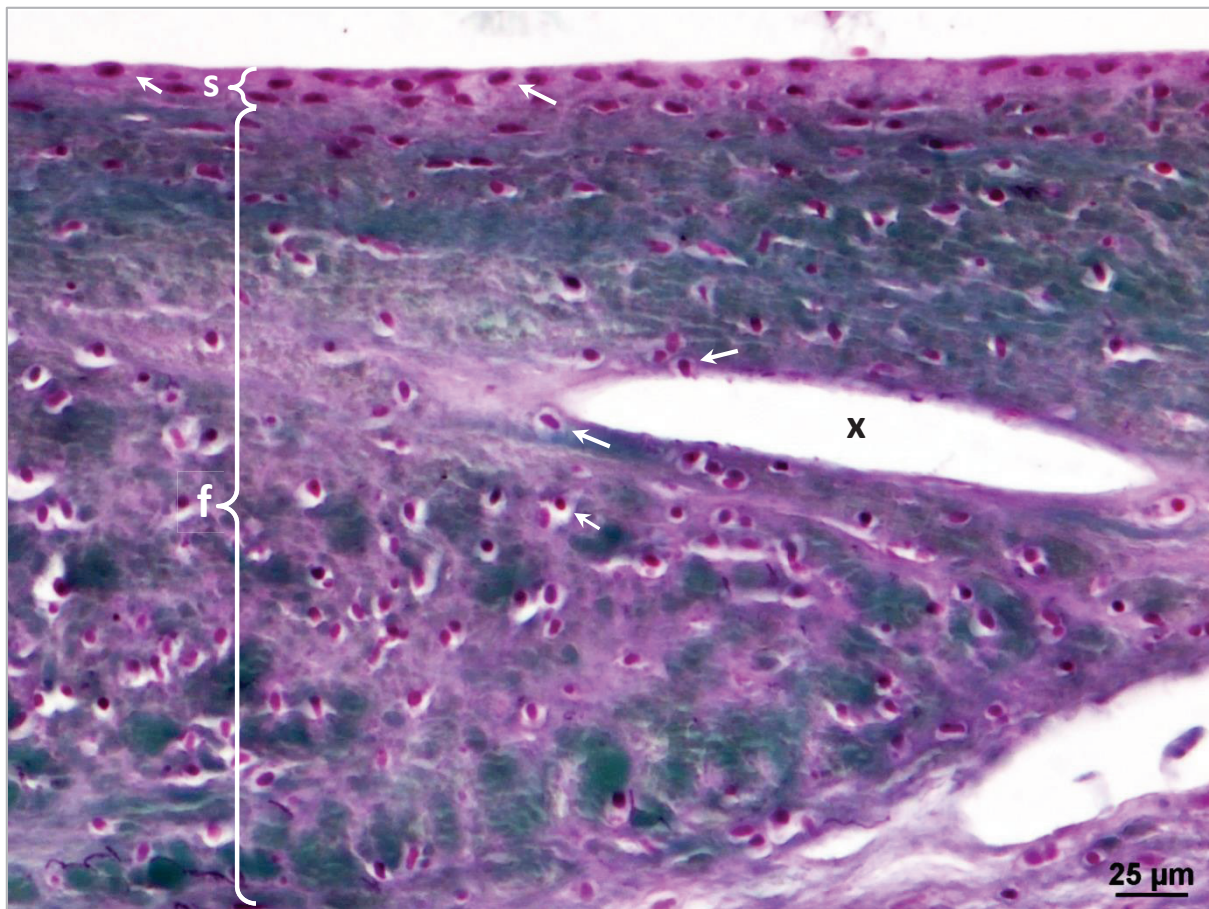


Abbildung 71: Mittlere Gelenkkapsel mit Stratum fibrosum (f) und Stratum synoviale (s). Chondrozyten säumen die Gelenkinnenoberfläche und verteilen sich diffus im nahezu vollständig durch Faserknorpel ersetzten Stratum fibrosum. Hohlraum mit randständigen Chondrozyten (Pfeile.) Färbung nach VOLKMANN-STRAUß.

5 DISKUSSION

Grundgedanke und Zielsetzung

Während beim Hund die Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale die häufigste erworbene Lahmheitsursache ist (PAATSAMA, 1952; HUDSON et al., 2004; GAYNOR und MUIR III, 2014), ist die Patellaluxation eine der häufigsten erblich bedingten Funktionsstörungen des Kniegelenks (KODITUWAKKU, 1962; WEBER, 1992; VEZZONI et al., 2010; FARRELL et al., 2015). Zur Kongenitalität können unter molekularen Aspekten eines Gendefekts bei dieser Missbildung bisher nur Vermutungen zu verantwortlichen Genen und Genloci gegeben werden (LAVRIJSEN et al., 2014; CHOMDEJ et al., 2014; WANGDEE et al., 2014). Die Aussage zur Erbllichkeit der Luxation beruht bisher auf zuchthygienische Analysen (PRIESTER, 1972; ROBINSON, 1990; LaFOND et al., 2002; BOUND et al., 2009; LAVRIJSEN et al., 2013). Der Vererbungsmechanismus ist noch nicht geklärt (HEGREBERG et al., 1970; WANGDEE et al., 2014). Beim Menschen werden insgesamt 35 verschiedene dysmorphe Entwicklungsstörungen genannt, denen mindestens ein Gendefekt zugrunde liegt, der zur Patellaluxation (phänotypisch) führen kann (BONGERS et al., 2005). Dabei sind Mutationen auf 9 verschiedenen Genen bekannt. Darunter ist ein Defekt auf Gen COL6A1, das den Kollagen Typ VI kodiert und phänotypisch die kongenitale Patellaluxation verantwortet (BONGERS et al., 2005; TEMWICHITR et al., 2007).

Kongenitale Bindegewebserkrankungen sind auch beim Hund bekannt (OBERBAUER et al., 2015). Speziesübergreifend werden sie meist mit vergleichbaren genetisch bedingten Erkrankungen des Menschen gleichgesetzt (HEGREBERG, 1975; CAHILL et al., 1980; MINOR et al., 1986; PIERAGGI et al., 1986; RODRIGUEZ et al., 1996; TEMWICHITR et al., 2010; STOCK et al., 2011; LAVRIJSEN et al., 2012; HOU et al., 2013; SOONTORNVIPART et al., 2013; DALY, 2014; SÁNCHEZ-MOLANO et al., 2014). Beim Hund basieren diese Fehlentwicklungen auf fehlerhaft synthetisierten Kollagen- und Elastinfasern, die nahezu in allen Geweben vorkommen. Mehrfach beschrieben ist, dass eine derartige Aberration - wie z. B. beim Ehlers-Danlos-Syndrom - auch beim Hund eine Patellaluxation zur Folge haben kann (ARLEIN, 1947; BARNETT et COTTRELL, 1987; PACIELLO et al., 2003; URI et al., 2015). In der täglichen klinischen Diagnostik können diese Vermutungen beim Hund aber nicht genutzt werden, da es keine einfachen und / oder schnellen Testverfahren gibt, um eine Kollagenose nachzuweisen. Abgesehen davon würde auch ein etwaiger Test die Therapie der Patellaluxation nicht beeinflussen. Aus zuchthygienischen Erwägungen wäre ein derartiges Testverfahren allerdings wertvoll, könnten doch etwaige belastete Tiere von der Zucht frühzeitig ausgeschlossen werden.

Die vorliegende Schrift belegt, dass Kollagenfasern in der Kniegelenkkapsel des Hundes ein Hauptstrukturelement sind. Wie oftmals von z. B. DÄMMRICH und BRASS (1993) oder JOHNSTON (1997) und WONDRATSCHECK (2009) beschrieben, sind diese Fasern ein wichtiger Bestandteil der extrazellulären Matrix. Allerdings konnten in der mir zugänglichen Literatur keine quantitativen (Flächenanteile) und qualitativen (Kollagen Typen) Daten zu den Kollagenfasern in der Gelenkkapsel allgemein oder in den verschiedenen (proximaler, mittlerer, distaler) Abschnitten und dort in den verschiedenen Schichten (Stratum fibrosum, Stratum subsynoviale, Stratum synoviale) gefunden werden.

In dieser Dissertationsarbeit wurde erstmals die Gelenkkapsel des Kniegelenks bei Hunden mit einer kongenitalen Patellaluxation im Hinblick auf den Gehalt an Kollagen - Typen, Dichte - analysiert. Histomorphologisch wurden zudem die Dicken der Gelenkkapsel allgemein und die der jeweiligen Schicht, die Anzahl der Deckzellen des Stratum synoviale, das Ausmaß der Zottenbildung sowie der Fibringehalt bestimmt. Es sollte ggf. unter diesen Aspekten ein etwaiger Zusammenhang zur vererbten Patellaluxation aufgedeckt werden. Weitere Befunde zur Histomorphologie der Kniegelenkkapsel des Hundes waren Dicken an unterschiedlichen Lokalisationen der Kniegelenkkapsel und ihrer Schichten, die Anzahl der Deckzellen des Stratum synoviale, der Grad der Zottenausbildung und der Fibringehalt.

5.1 Diskussion der verwendeten Methoden

5.1.1 Probenentnahme

Zur Probengewinnung wurde das Kniegelenk ob rechts- oder linksseitig routinemäßig lateral parapatellar (SCHEBITZ und BRASS, 1985) von der Tuberositas tibiae bis proximal ins distale Drittel des Oberschenkel dargestellt. In gleicher Schnittlänge und -richtung wurde die Gelenkkapsel bis in den Musculus vastus lateralis verlängert, so dass das proximale Kapselbiopat immer auch über den geringen Muskelanteil für die weiteren Untersuchungen identifiziert war. Kritisch bedacht werden muss, dass die Gewebeproben der Gelenkkapsel nur lateral parapatellar für die histomorphologische Analyse zu Textur und zum Kollagenmuster untersucht wurden. Denkbar ist, dass die Kapsel medial nicht nur Abschnitts- sondern auch Schicht-korreliert anders strukturiert sein könnte. Wie in anderen Publikationen diagnostiziert (ROUSH, 1993; HAYES et al., 1994; BEHRENDT, 2009; OBOLADZE, 2010), litt auch die Mehrzahl der Patienten der vorliegenden Arbeit an einer medialen Patellaluxation. Das heißt die Gelenkkapsel war lateral vor allem bei den Graden 3 und 4 massiv elongiert und medial entsprechend in der Breite reduziert. Das lässt Unterschiede zwischen lateral und medial vermuten. Darauf weisen Untersuchungen von BEY et al. (2005) an der Schultergelenkkapsel des Menschen hin, die regional durchaus verschieden dick ist. Auch wenn nicht wirklich vergleichbar, sei doch erwähnt, dass GERMSCHEID et al. (2006) in der Gelenkkapsel des Ellbogengelenks beim Menschen im Vergleich gesund zu traumatisiert im anterioren Abschnitt posttraumatisch insbesondere vermehrte Myofibroblasten fanden. Eine erhöhte Expression von alpha-Aktin aus glatten Muskelzellen nachweisen konnten HECHT et al. (1998). In der Kniegelenkkapsel von Schafen konnten die Autoren nach Laserbestrahlung zwischen lateral und medial eine unterschiedlich thermische Einwirkung aufzeigen, die histomorphologisch in einem veränderten Kollagenmuster endete.

5.1.2 Fixierung

Formalin ist das häufigst eingesetzte Fixans in der klinischen Praxis und histologischen Routinediagnostik (TITFORD und HORENSTEIN, 2005; MULISCH et al., 2010). Für weiterführende immunhistochemische Untersuchungen ist es allerdings weniger geeignet, da seine Proteinstruktur-verändernde Eigenschaft bei der Inkubation mit verschiedenen Antikörpern die Epitoperkennung erheblich reduziert, sodass falsch negative Ergebnisse möglich sind (SHI et al., 1991; UHLIG et al., 2002; DANESHTALAB et al., 2010; DIETEL et al., 2011; MARWITZ et al., 2011). Für diese Arbeit war es deswegen besonders wichtig, die Qualität der Fixierungslösung, die Fixierungsdauer und die Temperatur während der Fixierung lückenlos zu gewährleisten. Essentiell war außerdem ein an die faserreiche Gewebeart der Gelenkkapsel angepasstes Fixierungsprotokoll. Dafür wurde eine 4 %ige Formaldehydlösung genutzt, der ein Phosphat-Puffer zugesetzt wurde. Wie oftmals angegeben, ist der Puffer sehr wichtig, um der pH-Senkung des Formalins durch Oxidation zu Formiat mit ansteigender Fixierungsdauer entgegenzuwirken (SELLNER, 1989; WIEGAND et al., 1996; MULISCH et al., 2010). Hinsichtlich der Dauer der Fixierung ist nach WIEGAND et al. (1996) eine DNA-Degradation von Gewebe, das in 8 %igem ungepufferten Formalin fixiert wurde, abhängig von der Gewebeart, erst nach circa 70 Tagen zu erwarten. DIETEL et al. (2011) raten die Fixierungszeit von 6 Stunden nicht zu unterschreiten und die von 72 Stunden nicht zu überschreiten. KOMMOSS und RIDDER (2013) geben eine wesentlich kürzere Fixierungszeit an, die optimal in 24 Stunden entsteht. Wird die Zeit zu kurz angesetzt, resultiert daraus während der Dehydrierung in der aufsteigenden Ethanolreihe eine Mischung aus formalinfixierten Geweberändern und einem ethanolisch fixiertem Gewebzentrum. Immunhistochemische Ergebnisse stellen sich unzuverlässig variabel dar und sind dadurch unbrauchbar. Aufgrund dieser Angaben wurde darauf geachtet, dass die Dauer von 3 Tagen für die Fixierung der Gewebeproben für diese Studie nicht überschritten wurde. Alle Proben wurden für circa 55 bis 60 Stunden fixiert.

5.1.3 Färbemethoden - Färbung nach Volkmann-Strauß

Routinemäßig wird zur Übersicht die Hämatoxylin-Eosin-Färbung eingesetzt. Sie bietet unspezifisch, die zellulären und freien Matrixbestandteile im Grundriss zu erkennen. Deswegen wurden die 78 Präparate dieser Arbeit damit und mit der Fibrinfärbung nach LADEWIG markiert. Die Grenzen der Hämatoxylin-Eosin-Färbung und der Fibrinfärbung nach LADEWIG sind jedoch in Bezug auf den Fokus dieser Arbeit, nämlich die Kollagenfasern, wie folgt begründet: Beide Färbemethoden stellen das Bindegewebe samt seiner verschiedenen Bestandteile in einem einheitlichen Farbton dar (MULISCH und WELSCH, 2010). Daher war es für den lichtmikroskopischen Teil dieser Arbeit von Interesse, eine Färbemethode zu finden, die gesonderte Farbtöne für Kollagen-, elastische und Muskelfasern (Anschnitt des Musculus quadriceps femoris, Orientierungspunkt) boten. Auch in der Literatur zu histologischen Techniken, konnten nur getrennte Färbeprotokolle gefunden werden, um kollagene und elastische Fasern darzustellen (MULISCH und WELSCH, 2010; LANG, 2012). Intensive Recherchen ließen die schon alte Färbung von BURCK (1969) entdecken, die sich bestens für die Analysen der vorliegenden Arbeit anbot. Diese Färbung hat sehr schnell als Routinefärbung für zahlreiche histologische Untersuchungen eine Renaissance am Institut für Veterinär-Anatomie erlebt: In der VOLKMANN-STRAUß-Färbung sind Kollagenfasern dunkelgrün, elastische Fasern tiefviolett und Muskelfasern dunkelrot sowie Erythrozyten grell orange gefärbt. Die Identifikation der verschiedenen Gewebebestandteile anhand dieser differenzierten Farbpalette wurden für die 78 Gelenkkapselpräparate genutzt. Allerdings konnte der ursprüngliche Gedanke, eine quantitative Auswertung der elastischen Fasern aufgrund von Limitationen des Bildanalyse-Programms NIS elements® nicht bis zum Ende verfolgt werden. Mit der Software ließ sich zwar der Farbton der elastischen Fasern erkennen, doch die einzelne und feine haarformartige Faser in der extrazellulären Matrix entschwand dem Blickfeld des Bildanalyseprogramms. Es konnten damit nur die Flächenanteile des grün gefärbten Gesamtkollagens als Flächenanteil in Prozent eines Bildausschnittes quantifiziert werden. Somit konnte die Berechnung eines Mengenverhältnisses von kollagenen zu elastischen Fasern bei den verschiedenen Erkrankungen nicht erzielt werden. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Laxizität im Kniegelenk bei Hunden mit einer kongenitalen Patellaluxation mit einem veränderten Verhältnis von kollagenen zu elastischen Fasern in Verbindung steht.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Signalement der Patienten

In der Studie wurden Kniegelenkkapsel-Proben von insgesamt 78 Hunden 26 verschiedener Rassen und 24 Mischlingen untersucht, die in den Jahren 2010 bis 2012 in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der Freien Universität Berlin vorgestellt wurden. In die Untersuchung gingen Hunde ein, die wegen einer Patellaluxation operiert wurden und solche als Kontrolle, die luxationsfrei waren. Die Luxationslosen litten an einer Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale oder an einer distalen Femurfraktur. Ein weiterer Hund war alt und multimorbid und wurde eingeschläfert. Der Tierhalter gab schriftlich sein Einverständnis, die Kniegelenkkapsel beidseits für diese Studie entnehmen zu dürfen. An einer Patellaluxation litten in der Reihenfolge der Häufigkeit unter den Rassehunden Chihuahuas (n = 12; 15,39%) vor Yorkshire Terrier (n = 7; 8,97%) und West Highland White Terrier (n = 4; 5,13%). Dies stimmt mit den Angaben von PRIESTER (1972), HAYES et al. (1994), KINSCHER (2007), BEHRENDT (2008), VEZZONI et al. (2010) und FARRELL et al. (2015) überein. Ganz allgemein sind von der kongenitalen Patellaluxation Hunde kleinwüchsiger Rassen betroffen.

Alter

Das durchschnittliche Alter der Hunde mit einer Patellaluxation in dieser Studie betrug 4,22 Jahre und deckt sich mit den Angaben von ISAKA et al. (2014) und WANGDEE et al. (2015). Die Kreuzbandpatienten dieser Studie waren im Durchschnitt 6 Jahre alt. Dies deckt sich mit den Angaben von GATINEAU et al. (2011), IMHOLT et al. (2011) und THOMPSON et al. (2011). Allerdings variieren die Altersangaben in der Literatur sehr. CAMPBELL et al. (2010) geben ein Durchschnittsalter von 3 Jahren und BERGER (2014) von 8,45 Jahren an. Interessant ist, dass der Altersdurchschnitt von den Tieren mit Patellaluxation und zusätzlicher Kreuzbandruptur vom eigenen Patientengut mit nur 4 Fällen identisch zu dem von CAMPBELL et al. (2010) mit 66 Fällen bei gleicher Krankheitskoinzidenz 7,8 Jahre war.

Geschlecht

Hündinnen waren mit 54,24 % (n = 32) häufiger von einer kongenitalen Patellaluxation betroffen als Rüden mit 45,76 % (n = 27). Dies entspricht eher den Angaben von GUSTAFSSON (1969), PRIESTER (1972), HAYES et al. (1994), KINSCHER (2007), SOONTORNVIPART (2013), ISAKA et al. (2014) und WANGDEE et al. (2014), als denen von SINGLETON (1969), DE ANGELIS (1971), SCHÄFER et al. (1982), KAISER (1999) und

BEHRENDT (2008). GUSTAFSSON (1969) und PRIESTER (1972) vermuten, dass die gehäufte Inzidenz der Luxatio patellae bei Hündinnen der Östrogenwirkung geschuldet ist, weil sie die Proliferation der Knorpelzellen in den Epiphysenfugen antagonisiert.

5.2.2 Diskussion der histologischen Ergebnisse

Anhand der histologischen Untersuchungen wurden im ersten Teil der vorliegenden Arbeit grundlegende histomorphologische Befunde über den Aufbau, die Dicken, die Schichten, die Deckzellen, den Grad der Zottenausbildung, den Gesamtkollagen-Gehalt und die Fibrinablagerungen in der Kniegelenkkapsel des Hundes zur Verfügung gestellt. Diese Ergebnisse ergänzen die bisherigen Details zur Histomorphologie der Kniegelenkkapsel des Hundes (KLOCKE et al., 2005; WONDRATSCHEK, 2009; WARNOCK et al., 2011).

Qualitative Ergebnisse

Deckzellschicht

Die Deckzellschicht - die zum Stratum synoviale gehört - besteht im gesunden Gelenk aus zwei übereinander liegenden Deckzelllagen (HENDERSON und PETTIPHER, 1985; MOSKALEWSKI et al., 2014; KUNG et al., 2015). Nach Untersuchungen von SAGIROGLU (2012) an 24 Kangal-Mischlingen konnten an der Kniegelenkkapsel altersabhängige Anzahlen der Deckzelllagen festgestellt werden. Demnach liegt eine 1 - 2-lagige Deckzellschicht physiologisch nur bei jungen Hunden (0 - 3 Monate) vor, während mittelalte (3,5 - 6 Monate) und alte Hunde (7 Monate - 6 Jahre) 3 - 5 oder 2 - 6 übereinander liegende Deckzelllagen aufwiesen.

Die Deckzellen selbst sind pleomorph und variieren sehr in ihrer Größe, Form, Anzahl und Ausrichtung, was abhängig von der Textur des angrenzenden Stratum subsynoviale zu sein scheint (GEILER, 2013; KUNG et al., 2015). Synoviale Deckzellen haben die Fähigkeit zur Differenzierung in Osteoblasten, Adipozyten und Chondrozyten und sind durch die Expression bestimmter Zelloberflächenmarker identifizierbar (MASSON et al., 2015). Alter des Tieres, Gesundheitsstatus des Gelenks und Lokalisation im Gelenk sind einige der vielen Parameter, die auf die Deckzell-Morphologie Einfluss haben (KUNG et al., 2015). BRONNER und FARACH-CARSON (2007) schenken der Deckzellschicht eine zentrale Bedeutung und beschreiben sie mit den Worten „controlling the environment of the joint“. MOSKALEWSKI et al. (2014) stimmen dem zu und betonen bereits in ihrem Reviewartikel „Synovial membrane asks for independence“, dass die Deckzellschicht aufgrund der heterogenen Eigenschaften

ihrer Zellen als eigenständiges Organ und getrennt von der faserreichen Gelenkkapsel betrachtet werden sollte.

In den vorliegenden Untersuchungen stellten sich die Deckzellen in der VOLKMANN-STRAUß-Färbung als dunkelrosa gefärbte Zellen mit einem heterochromatischen Zellkern dar. Dies entspricht den Angaben von HOGG et al. (1985) und KUNG et al. (2015). Demnach haben die Deckzellen eine geringe Proliferationsrate, da sie aus benachbarten Gefäßen des Stratum subsynoviale einwandern oder von Knochenmark-abgeleiteten Zellen abstammen. Ebenfalls konnte durch diese Arbeit die Pleomorphie der Deckzellen innerhalb ein und desselben Präparats bestätigt werden. Im proximalen und distalen Abschnitt der Gelenkkapsel waren die Deckzellen in der Regel rund bis oval, während sie im mittleren Abschnitt meist abgeplattet vorlagen. Vergleichbar mit bisherigen Literaturangaben waren variable Anzahlen der Deckzelllagen nachzuweisen (PAVLOVICH und LUBOWITZ, 2008; MANUNTA et al., 2014; KUNG et al., 2015). Im proximalen und distalen Abschnitt lagen im Durchschnitt 3 bis 4 Zelllagen vor, während sich der mittlere Abschnitt mit einer häufig stellenweise einzelnen Zelllage davon unterschied. In 73,08 % (n = 57) der Fälle war die Deckzellschicht in mindestens einem der drei Abschnitte (proximal, mittig, distal) mehrschichtig, bestand also aus mindestens 3 Deckzelllagen. Zu ähnlichen Ergebnissen kam WONDRATSCHEK (2009), wonach bei 50 % der Hunde mit einer Osteoarthritis im Kniegelenk eine mehrlagige Deckzellschicht gefunden werden konnte.

Bei den Hunden dieser Studie wiesen jene mit dem längsten Krankheitsverlauf (chronisch-progredient, Lahmheitsdauer > 90 Tage) die meisten Deckzelllagen auf. Dies betraf alle Hunde mit der Erkrankungskoinzidenz Patellaluxation / Kreuzbandruptur. Hunde mit einer Patellaluxation dieser Untersuchungen hatten durchschnittlich vergleichbar viele Deckzelllagen wie die mit Kreuzbandruptur. Dagegen hatten die Kontrollen z. B. mit einer Femurfraktur, das heißt mit der kürzesten Lahmheitsdauer (perakut, Lahmheitsdauer 1 - 2 Tage), die geringste Anzahl an Deckzelllagen. Dies deckt sich mit Angaben von MANUNTA et al. (2014). Sie fanden beim Patient Mensch, der sich regelmäßig und exzessiv sportlich betätigte eine zunehmend mehrschichtige Deckzellschicht, die zudem proliferativ (Hyperplasie der Deckzellen mit reichlich endoplasmatischem Retikulum), exsudativ (mehrkernige neutrophile Granulozyten) und infiltrativ (Lymphozyten, Monozyten) verändert war.

Kapseloberfläche - Villi et plicae synoviales

Anhand des Oberflächenvergrößerungsfaktors wurde der Grad der Zottenausbildung an der Gelenkinnenoberfläche bestimmt. Je höher der Faktor, desto mehr oder größer waren die Zotten in der jeweiligen Gelenkkapselprobe.

Hunde mit einer Patellaluxation wiesen die größten Schwankungen in der Zottenausbildung auf. Im Gegensatz dazu wurden bei allen Tieren der Kontrollgruppe mit einer Femurfraktur ausschließlich sehr hohe bzw. besonders viele Zotten nachgewiesen, womit sich der Mittelwert dieses akuten Erkrankungsbildes (MW = 3,54) von jenen der drei chronischen Gelenkspathologien (Patellaluxation, Kreuzbandruptur, Patellaluxation mit Kreuzbandruptur) (MW = 2,27 - 2,38) signifikant unterscheidet.

Dies deckt sich mit den Befunden von BERTONE (2008), wonach im Verlauf von chronischen Gelenkserkrankungen die synovialen Villi immer stumpfer und kürzer werden und ein keulenförmiges Aussehen annehmen. Dieser Prozess wird im Zusammenhang mit einer reperusionsbedingten Ischämie mit konsekutiver Hypoxie angenommen, von der die Zottenspitzen am stärksten betroffen sind. Ähnliche Ergebnisse erzielten BLEEDORN et al. (2011) mit den Untersuchungen an 16 Hunden mit einer Ruptur des kranialen Kreuzbandes und 10 Kniegelenk-gesunden Kontrollhunden. Eine Hyperplasie im Stratum synoviale mit filamentösen bis keulenförmigen synovialen Zotten kennzeichnete die Gelenkkapselinnenoberfläche von Hunden mit einer Ruptur des kranialen Kreuzbandes. Die Vielgestaltigkeit der synovialen Zotten bei Hunden mit osteoarthritisch veränderten Gelenken beschreibt auch WONDRATSCHEK (2009). In 96 % dieser Hunde konnte eine villöse Hyperplasie mit breiten, schmalen, kurzen und langen Zotten - in einigen Fällen sogar innerhalb eines Präparats - beobachtet werden. Dies konnte durch die vorliegende Arbeit bestätigt werden, wonach die unterschiedlichsten Formen der Zottenausbildung innerhalb der Gruppe der kleinen Hunde gefunden werden konnten. Diese Gruppe wies einerseits die größten Zotten auf und beinhaltete andererseits auch Patienten mit keinen Zotten. Auffällig war in diesem Zusammenhang ein signifikant dünneres distales Stratum subsynoviale in den Fällen ohne Zotten als bei den Hunden mit hohen Zotten.

Fehlen des mittleren Stratum subsynoviale

Über das explizite Fehlen des Stratum subsynoviale konnte in der bisherigen Literatur kein Anhaltspunkt gefunden werden. Da jedoch in 59 von 78 Fällen (75,64 %) kein mittleres Stratum subsynoviale nachgewiesen werden konnte, handelt es sich dabei um ein signifikantes Ergebnis. In diesen Fällen schloss das Stratum synoviale direkt an das Stratum fibrosum an, während im proximalen und distalen Abschnitt ein und derselben Probe alle drei Schichten nachweisbar waren. Bemerkenswert ist, dass Hunde mit einer Patellaluxation signifikant häufiger von einem fehlenden mittleren Stratum subsynoviale betroffen waren als die übrigen. In 81,36 % (n = 44) fehlte bei dieser Gruppe das mittlere Stratum subsynoviale, gefolgt von Hunden mit einer Kreuzbandruptur mit 63,64 % (n = 7). Hinsichtlich der Lahmheitsdauer war jedes Stadium der Lahmheiten von deutlich mehr Fällen mit fehlendem Stratum subsynoviale

betroffen. Bei der längsten Lahmheitsdauer, den chronisch-progredienten Fällen (Lahmheitsdauer > 90 Tage), waren es gar 88,46 % (n = 23), womit der chronisch-progrediente Verlauf bei den Lahmheiten signifikant häufiger mit einem fehlenden mittleren Stratum subsynoviale assoziiert war als kurzzeitigere Lahmheitsdauern.

Es stellt sich die Frage, ob das Stratum subsynoviale im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel in den 59 Fällen von zuvor zwar existiert, aber derart verändert ist, dass es seine physiologischen Erkennungsmerkmale verloren hat und sich dem angrenzenden Stratum fibrosum ununterscheidbar angeglichen hat. Zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang ebenso, dass einige Autoren der aktuellsten Literatur, die Existenz des Stratum subsynoviale nicht erwähnen. Die Gelenkkapsel besteht für sie in allen Lokalisationen ausschließlich aus einem inneren Stratum synoviale und einem äußeren Stratum fibrosum (WESTERMARK et al., 2011; CAMPBELL, 2012; WAGNER et al., 2012; CLAES et al., 2013; CAMPBELL et al., 2015; DOMBROWSKI et al. 2015; ITOI und HAGIWARA, 2015).

Quantitative Ergebnisse

Dicken der Gelenkkapsel und ihrer Schichten

Die Dickenmessungen in dieser Schrift ergaben, dass die Kniegelenkkapsel des Hundes im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt unterschiedlich dick ist. Außerdem korrelieren die Dicken der drei Abschnitte miteinander signifikant. Dies bestätigten die Angaben von RALPHS und BENJAMIN (1994), BEY et al. (2005) und WAGNER et al. (2012), wonach die Dicke der Gelenkkapsel regional variiert, um sich den Belastungsverhältnissen anzupassen. Da die Gelenkkapsel im Rahmen der kontrollierten Bewegung als limitierende Einheit für den Bewegungsradius synovialer Gelenke fungiert, beschreiben die Autoren, dass laufend histomorphologische Umbauvorgänge der Struktur und Textur der Gelenkkapsel vorkommen. Diese verlaufen regional unterschiedlich und der Belastung angepasst. Laut RALPHS und BENJAMIN (1994) ist die Gelenkkapsel dort verdickt, wo sie am Knochen ansetzt. Dies konnte durch die vorliegende Arbeit bestätigt werden. Der proximale Abschnitt der Gelenkkapsel war in 93,60 % (n = 73) der 78 Fälle dicker als der mittlere. Insbesondere ist erwähnenswert, dass Hunde mit einer Patellaluxation verglichen zu denen der anderen Gruppen (Kreuzbandruptur, Patellaluxation mit Kreuzbandruptur, Femurfraktur und Kontrollen) ein um 55,17 % bis 64,65 % signifikant dünneres Stratum synoviale im mittleren Abschnitt aufwiesen. Da Hunde mit einer Ruptur des kranialen Kreuzbandes als häufige Begleiterscheinung eine proliferative, lymphoplasmazelluläre Synovialitis aufweisen, könnte eine Dickenzunahme bei dieser Gruppe darauf zurückzuführen sein. In der Tat beschreiben GALLOWAY und LESTER (1995), LAWRENCE et al. (1998), MUIR et al. (2011), BLEEDORN et al. (2011) und LITTLE et al.

(2014) bei Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale eine Verdickung des Stratum synoviale, in dem ein verdichtetes Gefäßnetzwerk und eine lymphoplasmazelluläre Hypertrophie auftreten. Hinsichtlich der Fälle mit einer Femurfraktur könnte als Ursache für die Synovialitis und Verdickung des Stratum synoviale die Instabilität im benachbarten Kniegelenk vermutet werden. Außerdem war die Kniegelenkkapsel - präziser der proximale und mittlere Abschnitt des Stratum fibrosum sowie der distale Abschnitt des Stratum synoviale - bei Hunden mit einer beidseitigen Patellaluxation (n = 31) signifikant dünner als bei jenen mit unilateraler Luxation (n = 28).

Signifikanzen konnten zwischen den Dicken der Gelenkkapsel und den Rassegruppen nachgewiesen werden. Die Kniegelenkkapsel war bei Toy-Hunden im proximalen Abschnitt im Vergleich zu der von mittelgroßen und großen Hunden und im mittleren Abschnitt verglichen dem aller anderen Rassegruppen signifikant dünner. Im Hinblick auf die Lahmheitsdauer konnten keine signifikanten Zusammenhänge zu den Dicken der Kapsel gefunden werden. Beim Menschen fanden Dickenmessungen der Ellbogengelenkkapsel infolge einer Kontraktur im Gelenk statt (HILDEBRAND et al. (2005). Dabei stellte sich heraus, dass die Gelenkkapsel nach einem Trauma verdickt.

Flächenanteile (in %) des Gesamtkollagens

Kollagen ist der Hauptbestandteil der extrazellulären Matrix der Kniegelenkkapsel des Hundes. Wie in der VOLKMANN-STRAUß-Färbung gezeigt werden konnte, machen die Kollagenfasern zwischen rund 40 % bis 65 % an der Gesamtfläche der Kniegelenkkapsel des Hundes aus. Unter Berücksichtigung der Lokalisationen lagen die Unterschiede in den Flächenanteilen (in %) des Gesamtkollagens mehr zwischen den einzelnen Schichten als zwischen dem proximalen, mittleren und distalen Abschnitt der Gelenkkapsel. In der Tat korrelierten die Flächenanteile der drei Abschnitte signifikant miteinander, während sie sich zwischen den drei Schichten signifikant unterschieden. Bisher wird in der Literatur der Kollagengehalt der Gelenkkapsel nicht in den einzelnen Schichten unterteilt (ÜBEYLI, 2006). Vielmehr liegen vereinzelte Angaben darüber in Form eines Trockenmasse-Gehalts in mg/g vor. Demnach wird der Kollagengehalt einer Sehne - vorwiegend aus Kollagentyp I - mit etwa 810 bis 850 mg/g Trockenmasse angegeben (KREY et al., 1973). Dies kommt nach ÜBEYLI (2006) dem Kollagengehalt der Gelenkkapsel gleich, der bei etwa 900 mg/g liegt. BEY et al. (2005) beschreiben zudem, dass die Schultergelenkkapsel des Menschen eine regional unterschiedliche Orientierung der Kollagenfasern aufweist.

Im Stratum subsynoviale konnten die größten Flächenanteile des Gesamtkollagens bezogen auf eine Referenzfläche von 0,33 mm² nachgewiesen werden. Zwischen 61,11 % im

proximalen und 64,41 % im distalen Abschnitt nahmen die Kollagenfasern an der Gesamtfläche dieser Schicht ein. Dies unterscheidet sich von den Angaben von ÜBEYLI (2006). In seiner Studie zur Kniegelenkkapsel des Menschen berichtet er, dass das Stratum fibrosum den überwiegenden Anteil des Gesamtkollagen-Gehalts der Gelenkkapsel aufweist. Das Stratum fibrosum wies in der vorliegenden Untersuchung nur gering kleinere Flächenanteile des Gesamtkollagens als das Stratum subsynoviale auf.

Das Stratum synoviale, das als zellreich gilt (GEILER, 2013; KUNG et al., 2015), wies mit 42,93 % (mittlerer Abschnitt) bis 44,93 % (distaler Abschnitt) die kleinsten Flächenanteile des Gesamtkollagens auf.

Ein weiterer signifikanter Zusammenhang konnte zwischen mittelgroßen und großen Hunden im proximalen Abschnitt des Stratum fibrosum gefunden werden, in dem mittelgroße Hunde um 29,75 % weniger Gesamtkollagen aufweisen. Da vergleichbare Literatur zum Kollagengehalt in den einzelnen Schichten der Gelenkkapsel - unabhängig von der Spezies oder Art des Gelenks - fehlt, konnte nicht verglichen werden.

5.2.3 Diskussion der immunhistochemischen Ergebnisse

Im zweiten Schritt dieser Schrift wurde das Hauptziel bearbeitet, relevante Kollagen Typen in der caninen Kniegelenkkapsel zu identifizieren und zu lokalisieren. Zudem wurde analysiert, in wie weit sich die Gelenkkapsel Kniegelenk-gesunder (Femurfraktur und Kontrollen) von Kniegelenk-kranken Hunden (Kreuzbandruptur, Kreuzbandruptur mit Patellaluxation) unterscheidet.

Kollagentypen - Das Kollagenmuster der Kniegelenkkapsel des Hundes

Die Kollagen Typen I, III, IV, V und VI konnten in der Kniegelenkkapsel des Hundes nachgewiesen werden. Sie unterschieden sich insbesondere bezüglich ihrer Lokalisationen in der Kapsel. Dabei variierten die Kollagen Typen und ihr Gehalt mehr zwischen den drei Schichten (Stratum fibrosum, Stratum subsynoviale, Stratum synoviale) als zwischen den drei Abschnitten (proximal, mittig, distal).

Die Kollagen Typen I und III waren omnipräsent, das heißt sie waren in allen drei Schichten vordergründig und als dicht gepackte Faserbündel vorhanden. Während sie jedoch bei Hunden mit einer Patellaluxation, jenen mit einer Patellaluxation und einer Kreuzbandruptur und jenen mit einer Kreuzbandruptur beide Kollagen Typen in allen Schichten in gleichen Mengen in den Vordergrund traten, war bei den Kontrollen und den Hunden mit einer Femurfraktur deutlich mehr Kollagen Typ III als Typ I vorhanden. Dieses abweichende

Verhältnis von Kollagen Typ I zu Typ III zwischen akuten und chronischen Kniegelenkspathologien dieser Studie ist mit den Ergebnissen von BRINCKMANN et al. (1999) sowie von PINGEL et al. (2014) vergleichbar. Demnach konnte mit der fibrotischen Veränderung der humanen Haut bei der Lipodermatosklerose und der Achillessehne bei verschiedenen Tendopathien des Menschen ein erhöhter Anteil von Kollagen Typ III im Vergleich zu Kollagen Typ I nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse zu den Kollagen Typen I und III dieser Studie ähneln denen von MONUMENT et al. (2011), in der eine Fibrose der Kniegelenkkapsel - gekennzeichnet durch einen deutlichen Anstieg der Produktion der beiden Kollagen Typen I und III - bei Kaninchen nachgewiesen werden konnte. Die operativ erzeugte Kontraktur des Kniegelenks und die damit einhergehende achtwöchige Immobilisation des Gelenks induzierte Mastzellen-assoziierte Entzündungserscheinungen, die zu Umbauvorgängen der kollagenen Matrixbestandteile der Kniegelenkkapsel führten. Zu übereinstimmenden Ergebnissen einer fibrotischen Veränderung, einer gesteigerten Kollagen-Produktion und einer veränderten Textur des Kollagennetzwerks in der Kniegelenkkapsel kamen STEPLEWSKI et al. (2015) mit vergleichbar angelegten Versuchen am Kniegelenk bei Kaninchen. WONG et al. (2015) konnten eine veränderte genregulatorische Antwort der Kniegelenkkapsel von Ratten auf die Immobilisation des Kniegelenks in Abhängigkeit von ihrer Dauer feststellen. Demnach kam es unter anderem zu einem veränderten Abbau der kapsulären freien Matrixbestandteile, wie auch verschiedener Kollagen Typen. Vergleichbar mit den Bedingungen dieser drei Studien sind die Gelenksteifigkeit infolge einer längeren Bewegungsintoleranz und die konsekutive Gonotrochlose im Kniegelenk von Hunden mit einer chronischen Kniegelenkspathologie wie - im Falle der vorliegenden Studie - der Kreuzbandruptur und der Patellaluxation beim Hund.

Kollagen Typ IV konnte nur in den Gefäßwänden lokalisiert werden, was sein bekanntlich Basalmembran-nahes Vorkommen bestätigte (PLEWIG und DEGITZ, 2013). Es konnten dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Erkrankungen festgestellt werden.

Bemerkenswert war Kollagen Typ V mit seiner nahezu ausschließlichen Präsenz im Stratum synoviale bei allen Tiergruppen außer den Hunden mit einer Patellaluxation und einer Kreuzbandruptur. Bei letzteren war Kollagen Typ V auch im proximalen Abschnitt des Stratum subsynoviale nachweisbar, weshalb sie sich signifikant zu allen anderen Tiergruppen (Patellaluxation, Kreuzbandruptur, Femurfraktur und Kontrollen) unterschieden.

Analog zur Zielsetzung der eigenen Arbeit untersuchten AKHTAR et al. (2012) die Lokalisation des Kollagen Typen V in der Schultergelenkkapsel von Menschen (n = 15) und den möglichen Zusammenhang mit der erhöhten Laxizität und Luxationsneigung im Schultergelenk der Patienten. Die immunhistochemischen Nachweismethoden wurden, wie in den vorliegenden

Versuchen, an in Paraffin eingebetteten Gelenkkapsel-Proben vorgenommen. Parallel zeigt die vorliegende Studie und jene von AKHTAR et al. (2012), dass die Hauptlokalisierung von Kollagen Typ V im Stratum synoviale der Gelenkkapsel war. Außerdem standen dünnere Gelenkkapsel-Proben und ein erhöhter Gehalt an Kollagen Typ V mit einem schwerwiegenderen Luxationsgrad in Verbindung.

Kollagen Typ VI war am meisten bei den Hunden mit einer Patellaluxation und einem Kreuzbandriss nachweisbar, gefolgt von Hunden mit einer Patellaluxation und jenen mit einer Kreuzbandruptur. Hunde mit einer Femurfraktur wiesen die geringsten Mengen an Kollagen Typ VI auf.

Vergleichbare Ergebnisse erzielten BOSZCZYK et al. (2001), wonach in der Gelenkkapsel der thorakalen und lumbalen Zwischenwirbelgelenke des Menschen die Kollagen Typen I, III und VI entdeckt werden konnten. In den lumbalen Zwischenwirbelgelenken war außerdem der Kollagen Typ II nachweisbar, was mit der gegen Kompressionskräfte stabilisierenden Funktion der Gelenkkapsel in diesem Segment zusammenhängen mag und der Gelenkkapsel daher eine band- bzw. faserartige Eigentümlichkeit verleiht. In einer weiteren Studie von BOSZCZYK et al. (2003) wurden die Kollagen Typen I, II, III, V und VI in der posterioren Gelenkkapsel der *Articulatio zygapophysialis* (Wirbelbogengelenk) von Menschen mit einer Instabilität zwischen dem 4. und 5. Lendenwirbel aufgespürt. Dabei war ein umfangreicherer Gehalt der Kollagen Typen I, III und VI in der gesamten Gelenkkapselprobe bei Patienten mit zunehmender Instabilität im Gelenk zu vermerken. In den schwerwiegendsten Fällen war Kollagen Typ II in hohem Maße zu finden.

Hinsichtlich der Lahmheitsdauer waren die Peaks des Kollagenprofils der chronischen Erkrankungen - also der Patellaluxation, der Kreuzbandruptur und einer Kombination aus beiden - durch das vermehrte Vorkommen der Kollagen Typen V und VI charakterisiert.

Ein signifikant erhöhter Gehalt an Kollagen Typ I, III, V und VI bei subchronischen und chronisch-progredienten Lahmheiten im Vergleich zu perakuten und akuten Fällen war nachweisbar. Während die Kollagen Typen I und VI in der gesamten Kniegelenkkapsel-Probe mit der Dauer der Lahmheit signifikant zunahmen, war der Gehalt von Typ III nur im distalen Abschnitt des Stratum fibrosum signifikant erhöht.

Dies deckt sich mit vergleichbaren Untersuchungen. Demnach konnte eine Zunahme der Expression der Kollagen Typen I, III und V in der Ellbogengelenkkapsel des Menschen mit einer chronischen Kontraktur um das 1,5- bis 2,5-fache nachgewiesen werden (HILDEBRAND et al.; 2005). In einer weiteren Studie am medialen Kollateralband der Kniegelenke von Kaninchen bestanden langzeitige Umbauvorgänge des Kollagenmusters auch noch zwei Jahre nach einem Trauma (HILDEBRAND et al., 2004). Vergleichbare Erkenntnisse wurden

an Ellbogengelenkkapseln des Menschen gewonnen. Ein histologisch sich veränderndes Kollagenmuster und ein sich verdichtender Gehalt an Kollagen ließ sich noch bis zu 16 Monate nach einer Verletzung finden (McFARLAND et al., 2002). ITOI und HAGIWARA (2015) fanden, dass der Kollagengehalt beim sogenannten „Frozen Shoulder“ Syndrom (Adhäsive Kapsulitis) zunimmt, vor allem jener der Kollagen Typen I und III.

5.2.4 Spezialfälle - Verknorpelung der Gelenkkapsel

Bei zwei Tieren dieser Arbeit fielen mehrere rundliche Faserknorpel-Areale auf. Sie waren gut abgegrenzt und aus ihnen zogen faserknorpelige Straßen, sodass eine netzartige Struktur aus mehreren ausgedehnten Knotenpunkten aus Faserknorpel mit azidophiler Interterritorialsubstanz und reichlichen, heterochromatischen Chondrozyten entstand. Reste eines normalen, kollagenfaserreichen Stratum fibrosum waren in die wabenartige Textur des Faserknorpels eingefasst. Die Flächenanteile des Gesamtkollagens waren darin außerordentlich hoch (92,40 - 97,60 %).

Diese Faserknorpel-Gebilde konnten ausschließlich im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel sowohl im Stratum synoviale als auch fibrosum nachgewiesen werden. Beiden Patienten fehlte hier ein Stratum subsynoviale.

Entsprechend der Literatur ist zu erwarten, dass in den Arealen ein hoher Anteil an Kollagen Typ II nachweisbar ist. Dies wird aus den Untersuchungen von BOSZCZYK et al. (2003) geschlossen, wonach Patienten mit einer hochgradigen Instabilität zwischen dem 4. und 5. Lendenwirbel außerordentlich hohe Mengen an Kollagen Typ II in der Gelenkkapsel aufweisen. Ein erhöhter Gehalt an Kollagen Typ II steht nach BOSZCZYK et al. (2003) mit einer ausgeprägten Proliferation von Knorpelzellen in der Gelenkkapsel in Zusammenhang. Die Autoren betonen, dass einige Areale mehr dem hyalinen Knorpelgewebe als dem Faserknorpelgewebe ähneln, da kollagene Fasern dort kaum in der extrazellulären Matrix des Knorpelgewebes vorkamen und Kollagen Typ I nicht nachgewiesen werden konnte. Dies unterscheidet sich von der vorliegenden Studie, in der sich auch die verknorpelten Regionen im Nachweis von Kollagen Typ I als positiv erwiesen.

Synovialzellen und Knorpelzellen entstammen nachgewiesen bei Maus und Mensch einer gemeinsamen Zellpopulation (ARCHER et al., 2003; KOYAMA et al., 2008). Bei manchen Erkrankungen, wie zum Beispiel bei der synovialen Chondromatose oder bei der rheumatoiden Arthritis, konnte beim Menschen eine erhöhte Proliferation von Synovialzellen der Kniegelenkkapsel festgestellt werden, die Biomarker der Knorpelzellen exprimieren (ALLARD et al., 1988; MASSON et al., 2015). Bei Kaninchen und Mäusen konnte nachgewiesen werden, dass die multipotenten Synovialzellen eine entscheidende Rolle in der Antwort auf Knorpeldefekte spielen, indem sie zuerst innerhalb des Stratum synoviale proliferieren und

dann zur Knorpeloberfläche in den Bereich des Knorpeldefekts migrieren (HUNZIKER, 2001; KURTH et al., 2011). MASSON et al. (2015) stellten fest, dass mit zunehmendem Grad einer Synovialitis bei Menschen mit einer Osteoarthritis die Fähigkeit der Synoviozyten zur chondrogenen Differenzierung vermindert wird. Im Gegensatz dazu beschreiben HAGIWARA et al. (2012) eine chondrogene Differenzierung in der Schultergelenkkapsel des Menschen beim sogenannten Frozen Shoulder Syndrom (Adhäsive Kapsulitis). Diese korreliert mit einer Entzündung und konsekutiver Fibrose der Gelenkkapsel, die durch eine Verdichtung der Kollagenfaserbündel - die in sich eine chaotische Anordnung der Kollagenfasern aufweisen - sowie durch eine erhöhte Zellzahl charakterisiert ist.

Es ist anzunehmen, dass diese beiden Patienten, die wegen einer Patellaluxation und einer Kreuzbandruptur vorgestellt wurden, zugleich auch Knorpeldefekte der artikulierenden Knochen aufwiesen. Dies würde die Proliferation der Chondrozyten im Stratum synoviale erklären. Beim Menschen wurden im Stratum synoviale Progenitoren der Chondrozyten entdeckt (KATANO et al., 2015). Ob diese beim Hund wie beim Menschen in dieser Schicht vorkommen, ist bis jetzt ungeklärt. Die ausgedehnten Knorpelgewebe-Areale im Stratum fibrosum erscheinen dafür jedoch zu umfangreich und deuten außerdem nicht auf eine Migration der Knorpelzellen zur Gelenkkapselinnenoberfläche hin. Die wabenartige Textur des Knorpelgewebes, das sich über die gesamte Dicke des mittleren Abschnitts der Gelenkkapsel erstreckt, erscheint mehr einer stabilisierenden Funktion nachzukommen. Da beide Patienten unter einer Patellaluxation bzw. unter einer Patellaluxation mit Kreuzbandruptur litten, könnte dies als eine kompensatorische Reaktion auf eine ausgeweitete Gelenkkapsel gedeutet werden.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die Patellaluxation ist eine der häufigsten erblich bedingten Funktionsstörungen und am Kniegelenk wohl die häufigste beim Hund. Eine mikroskopische Untersuchung der Kniegelenkkapsel blieb bei den bisherigen zahlreichen Studien zu dieser Erkrankung aus Acht gelassen.

Ziel dieser Dissertation ist es, histomorphologische Veränderungen der Kniegelenkkapsel von Hunden mit und ohne Patellaluxation zu charakterisieren. Hunde mit einer Femurfraktur, mit einer Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale oder mit einer Luxation und zusätzlichem Kreuzbandriss sowie ein altes, multimorbides Tier und eines mit einem inoperablen Ileus und daher eingeschläfertes Tier dienten als Kontrollen. Mit dieser Schrift wurde erstmals die Gelenkkapsel des Kniegelenks von Hunden mit dieser Erkrankung hinsichtlich des Gehalts und der Dichte an Kollagen mit Unterscheidung der Typen I, III, IV, V und VI untersucht. Zudem wurden Dicken der Gelenkkapsel und definierter Schichtabschnitte, die Anzahl der Deckzellen des Stratum synoviale, das Ausmaß der Zottenbildung und der Fibringehalt bestimmt.

Die Kniegelenkkapsel aller untersuchten Hunde besteht aus drei Schichten und zwar dem inneren, die Gelenkhöhle auskleidenden Stratum synoviale, auf das nach außen das Stratum subsynoviale folgt, und das Stratum fibrosum, welches den äußeren Abschluss der Gelenkkapsel bildet. Alle drei Schichten lassen sich in proximo-distaler Richtung in einen proximalen, mittleren und distalen Abschnitt unterteilen. Dadurch lassen sich wie folgt insgesamt neun verschiedene Schichtabschnitte der Gelenkkapsel unterscheiden: proximales Stratum synoviale, proximales Stratum subsynoviale, proximales Stratum fibrosum, mittleres Stratum synoviale, mittleres Stratum subsynoviale, mittleres Stratum fibrosum, distales Stratum synoviale, distales Stratum subsynoviale und distales Stratum fibrosum. Bis auf das Stratum subsynoviale des mittleren Kapselabschnittes weisen alle Schichtabschnitte einen kontinuierlichen Verlauf in proximo-distaler Richtung auf. Hunden mit Patellaluxation fehlte in 81,36 % und denen mit Kreuzbandriss 63,64 % das mittlere Stratum subsynoviale. Bei den Kontrollen hatten 50 % der Tiere ein Stratum subsynoviale im mittleren Bereich, während es 50 % fehlte. Bestand die Lahmheit schon länger, fehlte dieser Schichtabschnitt signifikant häufiger. Die Kniegelenkkapsel des Hundes ist im proximalen, mittleren und distalen Abschnitt unterschiedlich dick. Bezogen auf die gesamte Population der untersuchten Tiere korrelieren die Dicken der drei Abschnitte miteinander signifikant und zwar war der proximale Abschnitt in 93,60 % dicker als der mittlere. Die Kniegelenkkapsel von Toy-Hunden ist insgesamt signifikant dünner als die der anderen Rassegruppen. Hunde mit Patellaluxation haben ein signifikant dünneres Stratum synoviale im mittleren Abschnitt als die anderen Gruppen (Femurfraktur und andere, Kreuzbandruptur und Luxation mit Kreuzbandruptur). Lag bei einem Patienten die Luxation bilateral vor, waren der proximale und mittlere Abschnitt des Stratum

fibrosum und der distale des Stratum synoviale signifikant dünner als bei Patienten mit einer unilateralen Luxation.

Die Deckzellen des Stratum synoviale bilden den inneren Abschluss zur Gelenkhöhle. In der VOLKMANN-STRAUß-Färbung stellten sie sich pleomorph und heterochromatisch dar, waren rund bis oval und dunkelviolett gefärbt. Die Anzahl ihrer Zelllagen war sehr variabel, daher ordneten sich die Deckzellen sowohl bei Kniegelenk-gesunden (Femurfraktur und Kontrollen) als auch bei Kniegelenk-kranken (Patellaluxation, Kreuzbandruptur, Luxation mit Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale) Tieren in einer bis zwei oder mehreren Zelllagen dicht nebeneinander an. Je länger die Lahmheitsdauer bei den Kniegelenk-kranken Tieren, desto mehr Deckzelllagen waren zu finden. Demnach betraf dies alle Hunde mit Patellaluxation / Kreuzbandruptur, während sich bei den Kontrollen (z. B. mit einer Femurfraktur) die geringste Anzahl der Deckzelllagen bestätigte.

Zotten - Plicae synoviales - stellen sich als fingerförmige Ausläufer an der Gelenkinnenoberfläche dar und werden aus einer oder mehreren Deckzelllagen und subsynovialen Bindegewebe gebildet. In der Rassegruppe „kleine Hunde“ und der Gruppe „Patellaluxation“ konnten die größten Schwankungen in der Zottenausbildung festgestellt werden, es waren keine (Oberflächenvergrößerungsfaktor (OVF) 0) bis große ($2,5 < OVF \leq 5$) und viele Zotten zu finden. Im Gegensatz dazu hatten die Kontrolltiere ausschließlich große bzw. viele Zotten.

Kollagenfasern machen zwischen 40 % und 65 % an der Gesamtfläche der Kniegelenkkapsel des Hundes aus. Die drei Schichten (Stratum fibrosum, Stratum subsynoviale, Stratum synoviale) weisen signifikant differente Flächenanteile (in %) des Gesamtkollagens auf, während die drei Abschnitte (proximal, mittig, distal) innerhalb derselben Schicht signifikant korrelierte Kollagengehalte auszeichnet. Im Stratum subsynoviale finden sich die größten Flächenanteile (61,11 % - 64,41 %) des Gesamtkollagens, während sie im Stratum synoviale am kleinsten ausfielen.

Die immunhistochemischen Nachweismethoden stellten heraus, dass die Kollagen Typen I und III am meisten in der Kniegelenkkapsel des Hundes vertreten waren und in 88,7 % (n = 69) der Gesamtpopulation einen Score von 3 aufwiesen. Sie waren omnipräsent, das heißt sie kamen in allen drei Schichten und in allen drei Abschnitten als dicht gepackte Faserbündel vor. Das Vorkommen von Kollagen Typ I und III war bei Hunden mit einer chronischen Funktionsstörung, also einer Luxation, einem Kreuzbandriss oder einer Kombination aus beiden gleichermaßen ausgeprägt, während hingegen bei Hunden mit einer akuten Lahmheit wie bei Femurfraktur und bei den anderen Kontrollen deutlich mehr Kollagen Typ III als Kollagen Typ I vorkam. Kollagen IV kam ausschließlich in Gefäßwänden vor und zwar unabhängig von Erkrankung, Rasse, Geschlecht, Alter und Lahmheitsdauer. Dahingegen war Kollagen V ausschließlich im Stratum synoviale präsent, ein geringer Gehalt auch im

proximalen Abschnitt des Stratum subsynoviale von Hunden mit einer Kreuzbandruptur mit einer Luxatio patellae. Kollagen VI ähnelte im Verteilungsmuster jenem der Typen I und III, war jedoch quantitativ seltener. Während bei Hunden mit einer Femurfraktur der Kollagen Typ VI im geringsten Ausmaß vorkam, wurde der Typ bei denen mit Patellaluxation und Kreuzbandruptur am meisten nachgewiesen. Je länger eine Lahmheit bestand, desto mehr Kollagen aller Typen wurde insgesamt in der Kapsel der Hunde detektiert.

Zwei Besonderheiten kamen bei zwei Hunden in Form von netzartigen Faserknorpelarealen neben rudimentär vorhandenem, physiologischem Kniegelenkkapsel-Gewebe vor. Diese Knorpelzonen kamen ausschließlich im mittleren Abschnitt der Kniegelenkkapsel und zwar im Stratum synoviale und im Stratum fibrosum, vor. Ein Stratum subsynoviale fehlte beiden Patienten im mittleren Abschnitt. Beide Hunde litten an einer Patellaluxation, einer mit einer Ruptur des Ligamentum cruciatum craniale.

Die histomorphologischen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen spezifische Veränderungen bei der kongenitalen Patellaluxation auf.

7 SUMMARY

Patellar luxation represents the most frequent hereditary disorder in dogs. However, microscopic studies of the knee joint capsule have not been carried out yet.

Thus, objective of this study was to establish histomorphological alterations of the knee joint capsule in dogs with or without patellar luxation. Dogs suffering from femur fracture or rupture or luxation of the cranial cruciate ligament were used as control specimens. A multimorbid dog and a dog that was euthanized due to an inoperable ileus were used as control as well.

In this study, the knee joint capsule of dogs suffering from patellar luxation was examined with regard to concentrations of collagen types I, III, IV, V, and VI. Moreover, thickness of the knee joint capsule in general and its layers, the quantity of lining cells of the synovial membrane, the degree of synovial plicae formation, and fibrin concentrations were established.

The knee joint capsule in dogs consists of three layers: an external stratum fibrosum, the stratum subsynoviale, and an internal stratum synoviale, which can be divided into proximal, medial, and distal sections. Except for the stratum subsynoviale of the medial capsular region, all layers display a continuous proximo-distal distribution. The stratum subsynoviale was lacking in 81.36 % or 63.64 % of the dogs suffering from patellar luxation or rupture, respectively. 50% of the control group displayed a stratum subsynoviale in the medial capsular region, whereas the other 50% did not. If the lameness had been present for a longer period of time (several month) there was a significant deficiency of this layer. Proximal, medial, and distal parts of the knee joint capsule in dogs displayed different thicknesses, which correlated significantly. The proximal part was thicker than the medial part in 93.60% of the dogs. The knee joint capsule of toy-dogs is significantly thinner than that of other breeds. In dogs suffering from patellar luxation, the stratum synoviale of the medial capsular region was significantly thinner than that of the other groups (femur fracture and others, cruciate ligament rupture, luxation a with cruciate ligament rupture). Proximal and medial part of the stratum fibrosum and the distal part of the stratum synoviale were significantly thinner in dogs suffering from bilateral luxation than those displaying unilateral luxation.

Lining cells of the synovial membrane represent the internal border of the joint cavity. These cells appeared round to ovoid, pleomorphic and heterochromatic, and of dark purple color in VOLKMANN-STRAUß staining. The number of cell layers displayed a high degree of variation. Thus, the lining cells formed one or two layers of closely packed cells both in healthy (femur fracture and others) as well as in sick dogs (patellar luxation, cruciate ligament rupture, luxation a with cruciate ligament rupture). The longer the lameness had persisted, the more layers of lining cells were present. Accordingly, all dogs suffering from patellar luxation/ cruciate ligament rupture were affected, whereas the controls groups, e.g. those suffering from femur fracture, displayed the fewest layers of lining cells.

Plicae synoviales are finger-shaped protrusion of the inner surface of the joint. They consist of one or more layers of lining cells and subsynovial fibrous tissue. In small dogs and those suffering from patellar luxation, the largest variation regarding plicae formation was observed: plicae ranged from being absent to being enlarged and increased in number. In contrast, the control group displayed only large plicae or an increased number of them.

40 to 65 % of the total area of the knee joint capsule in dogs consists of collagen fibers. The three layers (stratum fibrosum, stratum subsynoviale, stratum synoviale) differ significantly regarding the distribution of the total area of collagen (in %), whereas the collagen content of the three parts (proximal, medial, distal) correlates significantly within the individual layer. The largest area (61.11 % - 64.41 %) of the total collagen content was located in the stratum subsynoviale. In contrast, the stratum synoviale displayed the fewest collagen fibers.

Immunohistochemistry showed that collagen I and III were the main types of collagen in the knee joint capsule of the dogs. Densely arranged fibers of these were present in all three layers and all three parts of the joint capsule. There was an even relationship of collagen I and III in dogs suffering from chronic lameness, i.e. luxation, cruciate ligament rupture, or a combination of both. However, collagen type III content was higher the control group or in dogs with acute lameness, such as femur fracture. Collagen type IV was present only in blood vessel walls irrespective of any disease, breed, gender, age, or duration of lameness. Collagen type V was present only in the stratum synoviale and in the proximal part of the stratum subsynoviale of dogs suffering from a luxation of the patella and cruciate ligament rupture. The distribution of collagen type VI corresponds to that of collagen types I and III, but was less frequent. Whereas collagen type VI was lowest in dogs suffering from femur fractures, it was highest in dogs displaying luxation of the patella and cruciate ligament rupture. The longer the lameness had persisted the higher was the content of any collagen type in the knee joint capsule.

Two unusual features could be observed in two dogs: reticular fibrocartilage combined with a rudimentary physiological knee joint capsule tissue. These cartilaginous areas were present in the medial part of the knee joint capsule only, in the stratum synoviale and the stratum fibrosum. There was no stratum subsynoviale in either patient in the medial part. Both dogs suffered from luxation of the patella, with a cruciate ligament rupture in one dog.

Histomorphological results of this study show specific alterations due to hereditary patella luxation and suggest certain physiological characteristics of the knee joint capsule in the dog.

8 LITERATURVERZEICHNIS

Aalto, M., Potila, M. & Kulonen, E. (1976). The effect of silica-treated macrophages on the synthesis of collagen and other proteins in vitro. *Experimental cell research*, 97(1), 193-202.

Aigner, T., Reichenberger, E., Bertling, W., Kirsch, T., Stöss, H. & Von der Mark, K. (1993). Type X collagen expression in osteoarthritic and rheumatoid articular cartilage. *Virchows Archiv B*, 63(1), 205-211.

Akhtar, M. A., Robinson, C. M., Keating, J. F., Ingman, T. G., Salter, D., Muir, A. Y. & Simpson, H. (2012). Hyperlaxity, capsule strength, collagen V and small leucine rich proteoglycans expression: is there a link? *Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume*, 94(36), 112-112.

Albert, E. (1871). *Zur Histologie der Synovialhäute*. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, aus der kk Hof-und Staatsdruckerei.

Albrecht, J. (1999). *Arthroskopische Diagnostik und Therapie der Luxation patellae congenita des Hundes*. Tierärztliche Hochschule Hannover, Vet. med. Diss.

Allard, S. A., Maini, R. N. & Muirden, K. D. (1988). Cells and matrix expressing cartilage components in fibroblastic tissue in rheumatoid pannus. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 17(S76), 125-129.

Anderson, J. (1994). The stifle. In Houlton, J. & Collinson, R. (Hrsg.), *Manual of small animal arthrology* (S. 267-300). Bournemouth: BSAVA.

Andrade, D. G. A., Pavan, L. F., Amorim, R. M., Chiacchio, S. B., Laufer-Amorim, R., Gonçalves, R. C. & Oliveira-Filho, J. P. (2014). Clinical, histopathological and molecular aspects of the dermatosparaxis in White Dorper sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 34(5), 443-448.

Ansay, M., Gillet, A. & Hanset, R. (1968). La dermatosparaxie héréditaire des bovidés: observations complémentaires sur le collagène et les mucopolysaccharides acides. *Annals de Médecine Vétérinaire*, 112, 465-478.

Archer, C. W., Dowthwaite, G. P. & Francis-West, P. (2003). Development of synovial joints. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 69(2), 144-155.

Arlein, M. S. (1947). Generalized acute cutaneous asthenia in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 111(844), 52-52.

Arnoczky, S. P. & Tarvin, G. B. (1980). Surgery of the Stifle - The Patella (Part II). *Compendium*, 3, 200-207.

Arnoldi, C. C., Reimann, I., Mortensen, S., Christensen, S. B., Kristoffersen, J., Sønnichsen, H. V. & Smith, M. (1980). The Effect of Joint Position on Juxta-Articular Bone Marrow Pressure: Relation to Intra-articular Pressure and Joint Effusion-An Experimental Study on Horses. *Acta Orthopaedica*, 51(1-6), 893-897.

Aschoff, L. (1919). *Spezielle pathologische Anatomie* (S. 245-256). Paderborn: Salzwasser Verlag.

Aumailley, M., Mann, K., von der Mark, H. & Timpl, R. (1989). Cell attachment properties of collagen type VI and Arg-Gly-Asp dependent binding to its $\alpha 2$ (VI) and $\alpha 3$ (VI) chains. *Experimental cell research*, 181(2), 463-474.

Aumailley, M. & Gayraud, B. (1998). Structure and biological activity of the extracellular matrix. *Journal of Molecular Medicine* 76(3-4), 253-265.

Backenköhler, U., Halata, Z. & Strasmann, T. J. (1996). The sensory innervation of the shoulder joint of the mouse. *Annals of Anatomy*, 178(2), 173-181.

Bargmann, W. (1977). *Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen* (7., überarb. Aufl., S. 382-393). Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

Barland, P., Novikoff, A. B. & Hamerman, D. (1962). Electron microscopy of the human synovial membrane. *The Journal of cell biology*, 14(2), 207-220.

Barland, P., Smith, C. & Hamerman, D. (1968). Localization of hyaluronic acid in synovial cells by radioautography. *The Journal of cell biology*, 37(1), 13-26.

Barnes, M. J., Morton, L. F., Bennett, R. C., Bailey, A. J. & Sims, T. J. (1976). Presence of type III collagen in guinea-pig dermal scar. *Biochemical Journal*, 157(1), 263.

Barnes, D. M., Anderson, A. A., Frost, C. & Barnes, J. (2015). Repeatability and Reproducibility of Measurements of Femoral and Tibial Alignment Using Computed Tomography Multiplanar Reconstructions. *Veterinary Surgery*, 44(1), 85-93.

Barnett, K. C. & Cottrell, B. D. (1987). Ehlers-Danlos syndrome in a dog: ocular, cutaneous and articular abnormalities. *Journal of Small Animal Practice*, 28(10), 941-946.

Barrera, R., Mañe, C., Duran, E., Vives, M. A. & Zaragoza, C. (2004). Ehlers-Danlos syndrome in a dog. *The Canadian Veterinary Journal*, 45(4), 355.

Barrow, M. V., Simpson, C. F. & Miller, E. J. (1974). Lathyrism: a review. *Quarterly Review of Biology*, 101-128.

Bartok, B., & Firestein, G. S. (2010). Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunological reviews*, 233(1), 233-255.

Bavinton, J. H., Peters, D. E. & Ramshaw, J. A. (1985). A morphologic study of a mild form of ovine dermatosparaxis. *Journal of Investigative Dermatology*, 84(5), 391-395.

Bailey, A. J., Sims, T. J., Le Lous, M. & Bazin, S. (1975). Collagen polymorphism in experimental granulation tissue. *Biochemical and biophysical research communications*, 66(4), 1160-1165.

Bauer, W., Ropes, M. W. & Waine, H. (1940). The physiology of articular structures. *American Physiological Society*, 18.

Beaconsfield, T., Pintore, E., Maffulli, N. & Petri, G. J. (1994). Radiological measurements in patellofemoral disorders: A review. *Clinical orthopaedics and related research*, 308, 18-28.

Becker, U., Timpl, R., Helle, O. & Prockop, D. J. (1976). Amino-terminal extensions on skin collagen from sheep with a genetic defect in conversion of procollagen into collagen. *Biochemistry*, 15(13), 2853-2862.

Beckold, E. M. (2009). *Immunhistochemische Untersuchungen zur Zellproliferation und Apoptose bei Synovialitiden des Hundes*. Tierärztliche Hochschule Hannover. Vet. med. Diss.

Behrendt, U. (2008). *Computertomographische Untersuchungen zur Luxatio patellae congenita des Hundes*. Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin. Vet. med. Diss.

Beighton, P., De Paepe, A., Danks, D., Finidori, G., Gedde-Dahl, T., Goodman, R. & Reynolds, J. F. (1988). International nosology of heritable disorders of connective tissue, Berlin, 1986. *American journal of medical genetics*, 29(3), 581-594.

Beighton, P., De Paepe, A., Hall, J. G., Hollister, D. W., Pope, F. M., Pyeritz, R. E. & Tsipouras, P. (1992). Molecular nosology of heritable disorders of connective tissue. *American journal of medical genetics*, 42(4), 431-448.

Bellini, M. H., Caldini, E. T. E. G., Scapinelli, M. P., Simoes, M. J., Machado, D. B. & Nürnberg, R. (2009). Increased elastic microfibrils and thickening of fibroblastic nuclear lamina in canine cutaneous asthenia. *Veterinary dermatology*, 20(2), 139-143.

Bennett D. (1990). Joints and joint disorders. In Whittick W. G. (Hrsg.), *Canine Orthopaedics* (2. Aufl., S. 761-833). Philadelphia: Lea & Febiger.

Benya, P. D. & Padilla, S. R. (1986). Isolation and characterization of type VIII collagen synthesized by cultured rabbit corneal endothelial cells. A conventional structure replaces the interrupted-helix model. *Journal of Biological Chemistry*, 261(9), 4160-4169.

Berger, B. (2014). *Vergleichende Evaluierung der Therapieergebnisse nach Ruptur des vorderen Kreuzbandes bei Hunden kleinwüchsiger Rassen nach chirurgischer Versorgung mittels Umstellungsosteotomie (TPLO) oder extrakapsulärer Technik*. Ludwig-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.

Bertone, A. L. (2008). Joint physiology: responses to exercise and training. In Kenneth W. Hinchcliff, Raymond J. Geor, Andris J. Kaneps (Hrsg.), *Equine Exercise Physiology*. Elsevier Limited, 132-142.

Bey, M. J., Hunter, S. A., Kilambi, N., Butler, D. L. & Lindenfeld, T. N. (2005). Structural and mechanical properties of the glenohumeral joint posterior capsule. *Journal of shoulder and elbow surgery*, 14(2), 201-206.

Bichat X. (1801). *Anatomie générale appliquée à la physiologie et à la médecine* (2e partie, t. 3, p. 32-33). Paris, Brosson, Gabon.

Blanck, T. J. & Peterkofsky, B. (1975). The stimulation of collagen secretion by ascorbate as a result of increased proline hydroxylation in chick embryo fibroblasts. *Archives of biochemistry and biophysics*, 171(1), 259-267.

Bleedorn, J. A. Greuel, E. N., Manley, P. A., Schaefer, S. L., Markel, M. D., Holzman, G. & Muir, P. (2011). Synovitis in Dogs with Stable Stifle Joints and Incipient Cranial Cruciate Ligament Rupture: A Cross-Sectional Study. *Veterinary Surgery*, 40(5), 531-543.

Blumenkrantz, N. & Søndergaard, J. (1972). Effect of prostaglandins E1 and F1 α on biosynthesis of collagen. *Nature*, 239(95), 246-246.

Bonaldo, P. & Colombatti, A. (1989). The carboxyl terminus of the chicken alpha 3 chain of collagen VI is a unique mosaic structure with glycoprotein Ib-like, fibronectin type III, and Kunitz modules. *Journal of Biological Chemistry*, 264(34), 20235-20239.

Bongers, E. M. H. F., Van Kampen, A., Van Bokhoven, H. & Knoers, N. V. A. M. (2005). Human syndromes with congenital patellar anomalies and the underlying gene defects. *Clinical genetics*, 68(4), 302-319.

Bonn A. (1763). Specimen anatomico-medicum inaugurate de continuationibus membranarum, quod publico; ac solemnibus disquisitionibus submisit, Andreas Bonn, Amstelredamo-Batavus. Med. Diss.

Boone, E. G., Hohn, R. B. & Weisbrode, S. E. (1983). Trochlear recession wedge technique for patellar luxation: an experimental study. *The Journal of the American Animal Hospital Association (USA)* 19, 735-742.

Boot-Handford, R. P. & Tuckwell, D. S. (2003). Fibrillar collagen: the key to vertebrate evolution? A tale of molecular incest. *Bioessays*, 25(2), 142-151.

Bornstein, P. (1974). The biosynthesis of collagen. *Annual review of biochemistry*, 43(1), 567-603.

Boszczyk, B. M., Boszczyk, A. A., Putz, R., Büttner, A., Benjamin, M. & Milz, S. (2001). An immunohistochemical study of the dorsal capsule of the lumbar and thoracic facet joints. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 26(15), E338-E343.

Boszczyk, B. M., Boszczyk, A. A., Korge, A., Grillhösl, A., Boos, W. D., Putz, R. & Benjamin, M. (2003). Immunohistochemical analysis of the extracellular matrix in the posterior capsule of the zygapophysial joints in patients with degenerative L4-5 motion segment instability. *Journal of Neurosurgery: Spine*, 99(1), 27-33.

Bound, N., Zakai, D., Butterworth, S. J. & Pead, M. (2009). The prevalence of canine patellar luxation in three centres. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 22(1), 32.

Braun, H. (1894). Untersuchungen über den Bau der Synovialmembranen und Gelenkknorpel, sowie über die Resorption flüssiger und fester Körper aus den Gelenkhöhlen. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 39(1), 35-86.

Bremer, F. W. (1927). Die pathologisch-anatomische Begründung des Status dysraphicus. *Deutsche Zeitschrift für Nervenheilkunde*, 99(1-3), 104-123.

Brinckmann, J., Notbohm, H., Tronnier, M., Açil, Y., Fietzek, P. P., Schmeller, W. & Bätge, B. (1999). Overhydroxylation of lysyl residues is the initial step for altered collagen cross-links and fibril architecture in fibrotic skin. *Journal of investigative dermatology*, 113(4), 617-621.

Brinker, W. O., Piermattei, D. L. & Flo, G. L. (1990). The stifle: Patellar luxation. In *Handbook of small animal orthopedics and fracture treatment*, (2. Aufl., S. 341-470). Oxford: Elsevier Ltd.

Brinker, W. O., Piermattei, D. L. & Flo, G. L. (1993). Dtsch. Übersetzung u. Bearbeitung von Matis, U., Köstlin, R. und v. Philipp, K.: Luxatio patellae. In Brinker, W. O., Piermattei, D. L. & Flo, G. L. *Orthopädie und Frakturbehandlung beim Kleintier* (S. 307-324). Stuttgart, New York: Schattauer Verlag.

- Brinker, W. O., Piermattei, D. L. & Flo, G. L. (2006). The stifle: Patellar luxation. In *Brinker, Piermattei, and Flo's handbook of small animal orthopedics and fracture repair* (4. Aufl., S. 562-582). Philadelphia, USA: Elsevier Saunders.
- Brinton, W. (1852). Serous and Synovial Membranes. In Todd, R. B. *Cyclopedia of Anatomy and Physiology* (Vol. 4, Teil 1; S. 514). London: Longman, Brown, Green and Longmans.
- Brown, J.C. & Timpl, R. (1995). The collagen superfamily. *International Archives of Allergy and Immunology*, 107, 484-490.
- Bronner, F. & Farach-Carson, M. C. (2007). *Bone and osteoarthritis* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.
- Bruckner-Tuderman, L., Mitsushashi, Y., Schnyder, U. W. & Bruckner, P. (1989). Anchoring fibrils and type VII collagen are absent from skin in severe recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Journal of Investigative Dermatology*, 93(1), 3-9.
- Brunnberg, L. (1998). Kniegelenk: Patellaluxation. In Brunnberg, L. (Hrsg.), *Lahmheitsdiagnostik beim Hund. Untersuchung - Diagnose - Therapiehinweise*. (1. Aufl., S. 184-191). Berlin: Parey Buchverlag.
- Brunnberg, L. (2001): Das kranke Kniegelenk. IX. BPT Intensivfortbildung: Kleintierpraxis Bielefeld - 23.02.-25.02.2001.
- Brunnberg, L., Dürr E. & Knospe C. (1992): Zu den Verletzungen der Patella und des Ligamentum patellae bei Hund und Katze. *Kleintierpraxis*, 37, 179-182.
- Bruns, R. R. (1984). Beaded filaments and long-spacing fibrils: relation to type VI collagen. *Journal of ultrastructure research*, 89(2), 136-145.
- Bruns, R. R., Press, W., Engvall, E., Timpl, R. & Gross, J. (1986). Type VI collagen in extracellular, 100-nm periodic filaments and fibrils: identification by immunoelectron microscopy. *The Journal of cell biology*, 103(2), 393-404.
- Bucher, O. & Wartenberg, H. (1989). Binde- und Stützgewebe; Bewegungsapparat. In Bucher, O. & Wartenberg H. (Hrsg.), *Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen* (12. Aufl. S. 146-200; S. 546-556). Bern: Hans Huber Verlag.

Budras, K.-D., Fricke W. & Richter R. (1996). *Atlas der Anatomie des Hundes*. 5. Auflage. Hannover: Schlütersche Verlagsanstalt.

Büttner, R. & Thomas, C. (2003). *Allgemeine Pathologie: mit 15 Tabellen*. Stuttgart: Schattauer Verlag 60-62.

Burck, H. C. (1969). *Histologische Technik: Leitfaden für die Herstellung mikroskopischer Präparate in Unterricht und Praxis*. Stuttgart: Thieme.

Burkl, W. & Sonnenschein, A. (1952). Über Vorkommen und Verteilung der Mucopolysaccharide in der Synovialis bei Erkrankungen der Kniegelenke. *Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, 322(4), 442-451.

Burgeson, R. E. & Nimni, M. E. (1992). Collagen types. Molecular structure and tissue distribution. *Clinical orthopaedics and related research*, 282, 250-272.

Bywaters, E. G. L. & MacKinnon, M. (1937). The metabolism of joint tissues. *The Journal of Pathology and Bacteriology*, 44(1), 247-268.

Cahill, J. I., Jones, B. R., Barnes, G. R. G. & Craig, A. S. (1980). A collagen dysplasia in a greyhound bitch. *New Zealand veterinary journal*, 28(10), 203-213.

Campagnolo, A. M., Tsuji, D. H., Sennes, L. U., Imamura, R. & Saldiva, P. H. (2010). Histologic study of acute vocal fold wound healing after corticosteroid injection in a rabbit model. *Annals of Otology, Rhinology & Laryngology*, 119(2), 133-139.

Campbell, T. M. (2012). Demographics and Posterior Knee Capsule Histologic and Genetic Characterization in Patients with Severe Knee Osteoarthritis: Comparing Those with Contracture to Those Without Contracture. University of Ottawa. Diss.

Campbell, J. R. & Pond, M. J. (1972). The canine stifle joint II. Medial luxation of the patella. *Journal of Small Animal Practice*, 13(1), 11-18.

Campbell, C. A., Horstman, C. L., Mason, D. R. & Evans, R. B. (2010). Severity of patellar luxation and frequency of concomitant cranial cruciate ligament rupture in dogs: 162 cases (2004–2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(8), 887-891.

- Campbell, T. M., Trudel, G. & Laneuville, O. (2015). Knee flexion contractures in patients with osteoarthritis: clinical features and histologic characterization of the posterior capsule. *Physical Medicine and Rehabilitation*, 7(5), 466-473.
- Carter, D. R. & Caler, W. E. (1983). Cycle-dependent and time-dependent bone fracture with repeated loading. *Journal of Biomechanical Engineering*, 105(2), 166-170.
- Chen, T. L. & Raisz, L. G. (1975). The effects of ascorbic acid deficiency on calcium and collagen metabolism in cultured fetal rat bones. *Calcified tissue research*, 17(2), 113-127.
- Cheselden, W. (1795). *The Anatomy of the Human Body*. First ed. Boston: Manning and Loring, S. 32-33.
- Chomdej, S., Kuensaen, C., Pradit, W. & Nganvongpanit, K. (2014). Detection of DNA Markers in Dogs with Patellar Luxation by High Annealing Temperature-Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Kafkas. Univ. Vet. Fak. Derg.*, 20, 217-222.
- Claes, S., Vereecke, E., Maes, M., Victor, J., Verdonk, P. & Bellemans, J. (2013). Anatomy of the anterolateral ligament of the knee. *Journal of anatomy*, 223(4), 321-328.
- Collier, L. L., Leathers, C. W., & Counts, D. F. (1980). A clinical description of dermatosparaxis in a Himalayan cat [Genetic disease]. *Feline Practice*, 10, 25-36.
- Comoglio, P. M. & Trusolino, L. (2005). Cancer: the matrix is now in control. *Nature medicine*, 11(11), 1156-1159.
- Cornah, M. S., Meachim, G. & Parry, E. W. (1970). Banded structures in the matrix of human and rabbit nucleus pulposus. *Journal of anatomy*, 107(Pt 2), 351.
- Cornil, V. & Ranvier, L. (1869). *Manuel d'histologie pathologique*. (2. Aufl., S. 381). Paris.
- Counts, D. F., Byers, P. H., Holbrook, K. A., & Hegreberg, G. A. (1980). Dermatosparaxis in a Himalayan cat: I. Biochemical studies of dermal collagen. *Journal of Investigative Dermatology*, 74(2), 96-99.
- Curtiss, P. H. (1964). Changes produced in the synovial membrane and synovial fluid by disease. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 46(4), 873-900.

Dämmrich, K. & Loppnow, H. (1982). *Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin*. Berlin, Hamburg: Paul Parey.

Dämmrich, K. & H. Loppnow (1990). Synovialisdeckzellen. Stoffwechselstörungen mit vorwiegend extrazellulären Veränderungen. In STRÜNZI, H., u. E. WEISS: *Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende* (8. Aufl. S. 122-136). Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag.

Dämmrich, K. & Brass, W. (1993). In Schebitz, H., Brass, W. u. Wintzer, H.-J. (Hrsg.), *Allgemeine Chirurgie für Tierärzte und Studierende* (2. Aufl., S.122-123). Berlin: Paul Parey Verlag.

Dahme, E. & Weiss, E. (2007). *Grundriss der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere* (S. 22). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Daly, L. (2014). *Genetics of canine elbow dysplasia*. Budapest: Faculty of Veterinary Science, Szent István University Hungary. Vet. med. Diss.

Daneshtalab, N., Doré, J. J. & Smeda, J. S. (2010). Troubleshooting tissue specificity and antibody selection: Procedures in immunohistochemical studies. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 61(2), 127-135.

Daniel, J. C. (1976). Changes in type of collagen synthesized by chick fibroblasts in vitro in the presence of 5-bromodeoxyuridine. *Cell differentiation*, 5(4), 247-253.

Davies, D. V. (1946). Synovial membrane and synovial fluid of joints. *The Lancet*, 248(6432), 815-819.

DeAngelis, M. (1971). Patellar luxation in dogs. *The Veterinary clinics of North America*, 1(3), 403-415.

DeAngelis, M. & Hohn, R. B. (1970). Evaluation of surgical correction of canine patellar luxation in 142 cases. *J Amer Vet Med Ass*, 156, 587-594.

DeLange-Brokaar, B. J. E., Ioan-Facsinay, A., Yusuf, E., Visser, A. W., Kroon, H. M., Andersen, S. N. & Kloppenburg, M. (2014). Degree of synovitis on MRI by comprehensive whole knee semi-quantitative scoring method correlates with histologic and macroscopic features of synovial tissue inflammation in knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*, 22(10), 1606-1613.

Delvoye, P., Nusgens, B. & Lapière, C. M. (1983). The capacity of retracting a collagen matrix is lost by dermatosparactic skin fibroblasts. *Journal of investigative dermatology*, 81(3), 267-270.

DeMenezes, L. B., de Moraes Faria, A., Paulo, N. M., Fleury, L. F. F. & de Brito, M. S. (2007). Hérnia perineal associada à colagenopatia em uma cadela. *Acta Scientiae Veterinariae*, 35(3), 377-379.

Denny, H. R. (1996). *A Guide to Canine and Feline Orthopaedic Surgery* (3. Aufl.). Hoboken, New Jersey: Blackwell Science Inc.

De Rooster, H., De Bruin, T., & Van Bree, H. (2006). Invited review—morphologic and functional features of the canine cruciate ligaments. *Veterinary surgery*, 35(8), 769-780.

Deutzmann, R., & Bruckner, P. (2014). Extrazelluläre Matrix—Struktur und Funktion. In Löffler/Petrides *Biochemie und Pathobiochemie* (pp. 931-951). Springer Berlin Heidelberg.

Dietel, M., Denkert, C., Hauptmann, K., Anagnostopoulos, I. & Jöhrens, K. (2011). Konzept der prädiktiven Molekularpathologie. *Der Onkologe*, 17(5), 437-452.

Dirmeier, M., Capellino, S., Schubert, T., Angele, P., Anders, S. & Straub, R. H. (2008). Lower density of synovial nerve fibres positive for calcitonin gene-related peptide relative to substance P in rheumatoid arthritis but not in osteoarthritis. *Rheumatology*, 47(1), 36-40.

Dokuzeylül, B., Altun, E. D., Özdoğan, T. H., Bozkurt, H. H., Arun, S. S. & Or, M. E. (2013). Cutaneous asthenia (Ehlers–Danlos syndrome) in a cat. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37(2), 245-249.

Douglas, S. W., Herrtage, M. E. & Williamson, H. D. (1987). *Principles of veterinary radiography* (4. Aufl.). London: Bailliere Tindall.

Dombrowski, M. E., Costello, J. M., Ohashi, B., Murawski, C. D., Rothrauff, B. B., Arilla, F. V. & Musahl, V. (2015). Macroscopic anatomical, histological and magnetic resonance imaging correlation of the lateral capsule of the knee. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, 1-7.

Ebbinghaus, C., Scheuermann, J., Neri, D. & Elia, G. (2004). Diagnostic and therapeutic applications of recombinant antibodies: targeting the extra-domain B of fibronectin, a marker of tumor angiogenesis. *Current pharmaceutical design*, 10(13), 1537-1549.

Edwards, J. C. & Willoughby, D. A. (1982). Demonstration of bone marrow derived cells in synovial lining by means of giant intracellular granules as genetic markers. *Annals of the rheumatic diseases*, 41(2), 177-182.

Edwards, J. C. W. (1987). Functions of synovial lining. *The synovial lining in health and disease*. London: Chapman & Hall, 41-74.

Edwards, J. C. (1994). The nature and origins of synovium: experimental approaches to the study of synoviocyte differentiation. *Journal of anatomy*, 184(Pt 3), 493.

Ehnis, T., Dieterich, W., Bauer, M., Kresse, H. & Schuppan, D. (1997). Localization of a binding site for the proteoglycan decorin on collagen XIV (undulin). *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20414-20419.

Eich, W. & Zeidler, H. (1991). Definition, Terminologie, Klassifikation und Nosologie rheumatischer Erkrankungen. In *Psychosomatische Rheumatologie* (pp. 67-82). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.

Eitner, A., Pester, J., Nietzsche, S., Hofmann, G. O. & Schaible, H. G. (2013). The innervation of synovium of human osteoarthritic joints in comparison with normal rat and sheep synovium. *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(9), 1383-1391.

Endres, B. (1977). *Luxatio patellae congenita des Hundes: Behandlung und Ergebnisse in den Jahren 1966-1975*. (Doctoral dissertation). Ludwig-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.

Engel, J. & Bächinger, H. P. (2005). Structure, stability and folding of the collagen triple helix. In Brinckmann, J., Notbohm, H. & Müller, P. K. (Hrsg.), *Collagen - Primer in structure, processing and assembly* (S. 7-33). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.

Epstein, E. H. (1974). [α 1 (III)]₃ Human skin collagen Release by pepsin digestion and preponderance in fetal life. *Journal of Biological Chemistry*, 249(10), 3225-3231.

Evans, H. E. (1993). Arthrology. In Evans, H. E.: *Miller's Anatomie of the Dog*. WB Saunders Company, Philadelphia.

Evans, P. J., Bell, G. D. & Frank, C. Y. (1993). Prospective evaluation of the McMurray test. *The American journal of sports medicine*, 21(4), 604-608.

Exposito, J. Y., Cluzel, C., Garrone, R. & Lethias, C. (2002). Evolution of collagens. *The Anatomical Record*, 268(3), 302-316.

Eyre, D. (1986). Collagen cross-linking amino acids. *Methods in enzymology*, 144, 115-139.

Eyre, D. R., Apon, S., Wu, J. J., Ericsson, L. H. & Walsh, K. A. (1987). Collagen type IX: evidence for covalent linkages to type II collagen in cartilage. *FEBS letters*, 220(2), 337-341.

Eyre, D. R., Wu, J. J. & Woods, P. E. (1991). The cartilage collagens: structural and metabolic studies. *The Journal of rheumatology. Supplement*, 27, 49-51.

Farrell, L. L., Schoenebeck, J. J., Wiener, P., Clements, D. N. & Summers, K. M. (2015). The challenges of pedigree dog health: approaches to combating inherited disease. *Canine Genetics and Epidemiology*, 2(1), 3.

Ferguson, J. (1997). Patellar luxation in the dog and cat. *In Practice*, 19(4), 174-184.

Fessler, J. H. & Fessler, L. I. (1978). Biosynthesis of procollagen. *Annual review of biochemistry*, 47(1), 129-162.

Fietzek, P. P. & Kühn, K. (1976). The primary structure of collagen. *Int Rev Connect Tissue Res*, 7(1), 60.

- Finsterbush, A. & Friedman, B. (1975). Reversibility of joint changes produced by immobilization in rabbits. *Clinical orthopaedics and related research*, 111, 290-298.
- Fisher, A. T. (1923). Some Researches into the physiological principles underlying the treatment of injuries and diseases of the articulations. A Lecture delivered before the Physiological Society of the Middlesex Hospital. *The Lancet*, 202(5220), 541-548.
- FitzGerald, O., Soden, M., Yanni, G., Robinson, R. & Bresnihan, B. (1991). Morphometric analysis of blood vessels in synovial membranes obtained from clinically affected and unaffected knee joints of patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*, 50(11), 792-796.
- Fitzpatrick, C. L., Krotscheck, U., Thompson, M. S., Todhunter, R. J. & Zhang, Z. (2012). Evaluation of tibial torsion in Yorkshire terriers with and without medial patellar luxation. *Veterinary Surgery*, 41(8), 966-972.
- Fjølstad, M. & Helle, O. (1974). A hereditary dysplasia of collagen tissues in sheep. *The Journal of pathology*, 112(3), 183-188.
- Flo, G. F. & Brinker, W. O. (1970). Fascia lata overlap procedure for surgical correction of recurrent medial luxation of the patella in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 156(5), 595-599.
- Fonrobert, B. (2003). Untersuchungen im infraroten Spektralbereich zur Aufklärung der Struktur- und Dynamik von Biopolymeren. (Doctoral dissertation). Ludwig-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.
- Font, B., Aubert-Foucher, E., Goldschmidt, D., Eichenberger, D. & Van der Rest, M. (1993). Binding of collagen XIV with the dermatan sulfate side chain of decorin. *Journal of Biological Chemistry*, 268(33), 25015-25018.
- Font, B., Eichenberger, D., Rosenberg, L. M. & Van der Rest, M. (1996). Characterization of the interactions of type XII collagen with two small proteoglycans from fetal bovine tendon, decorin and fibromodulin. *Matrix biology*, 15(5), 341-348.
- Fossum, T. W. (2011). *Chirurgie der Kleintiere*. Stuttgart, Jena: Elsevier, Urban & Fischer Verlag.

Freeman, M. A. & Wyke, B. (1967). The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat. *Journal of anatomy*, 101(Pt 3), 505.

Frerichs, F. (1846). Synovia (Gelenksflüssigkeit). In *Hardia's Wörterbuch der Physiologie* (Vol. 3, p. 463). Braunschweig: Vieweg and Sohn.

Fritz, R. M. (1989). *Zur Luxatio patellae des Hundes: klinisches und röntgenologisches Spätergebnis nach Transposition der Tuberositas tibiae und/oder Vertiefung der Trochlea ossis femoris*. Ludwig-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.

Frot, B., Zeitoun, F., Sterin, P., Silbermann, O., Drape, J. L., Thivet, A. & Benacerraf, R. (1996). Imaging of external instabilities of the patella. State of the art. *Journal de radiologie*, 77(1), 5-15.

Gabay, C. (2006). Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis research and therapy*, 8(2), S3.

Gabella, G. & Yamey, A. (1977). Synthesis of collagen by smooth muscle in the hypertrophic intestine. *Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences*, 62(3), 257-264.

Gabbiani, G., Le Lous, M., Bailey, A. J., Bazin, S. & Delaunay, A. (1976). Collagen and myofibroblasts of granulation tissue. *Virchows Archiv B*, 21(1), 133-145.

Galloway, R. H. & Lester, S. J. (1994). Histopathological evaluation of canine stifle joint synovial membrane collected at the time of repair of cranial cruciate ligament rupture. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 31(4), 289-294.

Gardner, E. (1948). The innervation of the hip joint. *The Anatomical Record*, 101(3), 353-371.

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 & Rheumatism*, 43(5), 953-968.

Gatineau, M., Dupuis, J., Planté, J. & Moreau, M. (2010). Retrospective study of 476 tibial plateau levelling osteotomy procedures. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 2011(24).

Gay, S. & Miller, E. J. (1978). Collagen. In Gay, S. & Miller, E. J. (Hrsg.), *The physiology and pathology of connective tissue*. New York: Gustav Fischer Inc.

Gay, S. & Miller, E. J. (1983). What is collagen, what is not. *Ultrastruct Pathol*, 4, 365-377.

Gaynor, J. S. & Muir III, W. W. (2014). *Handbook of veterinary pain management*. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Health Sciences.

Gayetskyy, S., Museyko, O., Käßer, J., Hess, A., Schett, G. & Engelke, K. (2014). Characterization and quantification of angiogenesis in rheumatoid arthritis in a mouse model using muCT. *BMC musculoskeletal disorders*, 15(1), 298.

Gazieux, A., Genevois, J. P., Goebel, J., & Autefage, A. (1977). Luxations rotuliennes du chien et lesions associees: choix du traitement chirurgical. *Rev Med Vet Toulouse*, 128, 681-699

Geiler, G. (2013). *Die Synovialome: Morphologie und Pathogenese*. Berlin: Springer Verlag.

Gerlach, J. (1849). *Handbuch der allgemeinen u. speziellen Gewebelehre des menschlichen Körpers für Aerzte und Studierende*. Mainz: Janitsch, Müller Library.

Germerscheid, N. M. & Hildebrand, K. A. (2006). Regional variation is present in elbow capsules after injury. *Clinical orthopaedics and related research*, 450, 219.

Gibbons, S. E., Macias, C., Tonzing, M. A., Pinchbeck, G. L. & McKee, W. M. (2006). Patellar luxation in 70 large breed dogs. *Journal of small animal practice*, 47(1), 3-9.

Gitterle, E. (1991). Die Patellaluxation beim Hund - Klinik und adäquate Therapie. *Kleintierpraxis* 36, 232-244.

Goebel, J. & Autefage, A. (1977). Luxations rotuliennes du chien et lesions associees: choix du traitement chirurgical. *Revue de Médecine Veterinaire de Toulouse*, 128, 681-698.

Goldenberg, D. L., Egan, M. S. & Cohen, A. S. (1981). Inflammatory synovitis in degenerative joint disease. *The Journal of rheumatology*, 9(2), 204-209.

Goodship, A. E., Cunningham, J. L. & Kenwright, J. (1998). Strain rate and timing of stimulation in mechanical modulation of fracture healing. *Clinical orthopaedics and related research*, 355, 105-115.

Gordon, M. K., Gerecke, D. R. & Olsen, B. R. (1987). Type XII collagen: distinct extracellular matrix component discovered by cDNA cloning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(17), 6040-6044.

Gordon, M. K. & Olsen, B. R. (1990). The contribution of collagenous proteins to tissue-specific matrix assemblies. *Current opinion in cell biology*, 2(5), 833-838.

Gotthardt, M., Bleeker-Rovers, C. P., Boerman, O. C. & Oyen, W. J. (2010). Imaging of inflammation by PET, conventional scintigraphy, and other imaging techniques. *Journal of Nuclear Medicine*, 51(12), 1937-1949.

Graabaek, P. M. (1982). Ultrastructural evidence for two distinct types of synoviocytes in rat synovial membrane. *Journal of ultrastructure research*, 78(3), 321-339.

Grant, C. A., Phillips, M. A. & Thomson, N. H. (2012). Dynamic mechanical analysis of collagen fibrils at the nanoscale. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 5(1), 165-170.

Greisen, H. A., Summers, B. A. & Lust, G. (1982). Ultrastructure of the articular cartilage and synovium in the early stages of degenerative joint disease in canine hip joints. *American journal of veterinary research*, 43(11), 1963-1971.

Griffon, D. J., Thomas, M. W., Dunning, D. & Johnson, A. (2004). Pre-and postoperative radiographic and reconstructed three-dimensional computed tomographic evaluation of dogs with medial patellar luxation. *13th ECVS-Congress Proceedings, Prague: Czech Republic*, 423-424.

Guengo, L. & Bardet, J. F. (1996). Luxation rotulienne laterale de stade 4 sur quatre chiens de races geantes. *Pratique médicale et chirurgicale de l' animal de compagnie*, 31, 527-538.

Guercio, A., Marco, P., Casella, S., Cannella, V., Russotto, L., Purpari, G. & Piccione, G. (2012). Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints. *Cell biology international*, 36(2), 189-194.

Gustafsson, P. O., Kasstrom, H. & Ljunggren, G. (1969). Estradiol induced patellar luxation in the dog: An experimental study 1. *Veterinary Radiology*, 10(1), 49-54.

Hagen-Torn, O. (1882). Entwicklung und Bau der Synovialmembranen. *Archiv für Mikroskopische Anatomie*, 21(1), 591-663.

Hagiwara, H., Schröter-Kermani, C. & Merker, H. J. (1993). Localization of collagen type VI in articular cartilage of young and adult mice. *Cell and tissue research*, 272(1), 155-160.

Hagiwara, Y., Ando, A., Onoda, Y., Takemura, T., Minowa, T., Hanagata, N., & Itoi, E. (2012). Coexistence of fibrotic and chondrogenic process in the capsule of idiopathic frozen shoulders. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20(3), 241-249.

Halata, P. D. Z. & Groth, H. P. (1976). Innervation of the synovial membrane of the cats joint capsule. *Cell and tissue research*, 169(3), 415-418.

Halata, Z., Rettig, T. & Schulze, W. (1985). The ultrastructure of sensory nerve endings in the human knee joint capsule. *Anatomy and embryology*, 172(3), 265-275.

Hammar, J. A. (1894). Über den feineren Bau der Gelenke. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, 43(1), 266-326.

Hanset, R. (1971). Dermatoparaxis of calf, a genetic defect of connective tissue. 1. Genetic aspects. In *Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie* (Vol. 352, Nr. 1, S. 13). Berlin: Walter de Gruyter & Co.

Hanset, R. & Ansay, M. (1967). Dermatoparaxie (peau déchirée) chez le veau: un défaut général du tissu conjonctif, de nature héréditaire. *Ann Méd Vét*, 7, 451-470.

Hanset, R. & Lapière, C. M. (1974). Inheritance of Dermatoparaxis in the Calf A genetic defect of connective tissues. *Journal of Heredity*, 65(6), 356-358.

Haraldsson, B. T., Aagaard, P., Crafoord-Larsen, D., Kjaer, M. & Magnusson, S. P. (2009). Corticosteroid administration alters the mechanical properties of isolated collagen fascicles in rat-tail tendon. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 19(5), 621-626.

Hausmann, E. (1967). Cofactor requirements for the enzymatic hydroxylation of lysine in a polypeptide precursor of collagen. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 133(3), 591-593.

Havers, C. (1691) zitiert von Todd, R. B. (1836). *Cyclopaedia of Anatomy and Physiology*. London: Sherwood, Gilbert and Piper.

Hay, E. D. (1973). Origin and role of collagen in the embryo. *American Zoologist*, 13(4), 1085-1107.

Hayashi, K., Massa, K. L., Thabit, G., Fanton, G. S., Dillingham, M. F., Gilchrist, K. W. & Markel, M. D. (1999). Histologic evaluation of the glenohumeral joint capsule after the laser-assisted capsular shift procedure for glenohumeral instability. *The American journal of sports medicine*, 27(2), 162-167.

Hayes, A. G., Boudrieau, R. J. & Hungerford, L. L. (1994). Frequency and distribution of medial and lateral patellar luxation in dogs: 124 cases (1982-1992). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(5), 716-720.

Hecht, P., Hayashi, K., Cooley, A. J., Lu, Y., Fanton, G. S., Thabit, G. & Markel, M. D. (1998). The Thermal Effect of Monopolar Radiofrequency Energy on the Properties of Joint Capsule. An In Vivo Histologic Study Using a Sheep Model. *The American journal of sports medicine*, 26(6), 808-814.

Hegreberg, G. A. (1975). Animal model of human disease: Ehlers-Danlos syndrome. *The American journal of pathology*, 79(2), 383.

Hegreberg, G. A., Padgett, G. A. & Henson, J. B. (1970). Connective tissue disease of dogs and mink resembling the Ehlers-Danlos syndrome of man. *Arch. Pathol*, 90, 159.

Heine, H. & Pischinger, A. (2014). *Das System der Grundregulation: Grundlagen einer ganzheitsbiologischen Medizin*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Helle, O. & Nes, N. N. (1971). A hereditary skin defect in sheep. *Acta veterinaria Scandinavica*, 13(3), 443-445.

Henderson, B. & Pettipher, E. R. (1985). The synovial lining cell: biology and pathobiology. In *Seminars in arthritis and rheumatism* (Vol. 15, Nr. 1, 1-32). Philadelphia: WB Saunders.

Henle, J. (1838). Über die Ausbreitung des Epithelium im menschlichen Körper. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*, 5, 103-128.

Henle, J. (1866). Handbuch der Bänderlehre. In Henle, J. (Hrsg.), *Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen*. (1. Band, 2. Abth., S. 483). Braunschweig.

Henschel, E., Teichert, G. & Wallenburg, J. (1981). Zur Instabilität des Kniegelenkes. Ein Beitrag zur Behandlung des Kreuzbandrisses und der Patellaluxation beim Hund. *Kleintierpraxis* 26, 187-191.

Herron, M. R. (1969). Medial luxation of the canine patella: A simple technic for surgical correction. *Mod Vet Pract*, 50, 30.

Heuck, F. (1979). Quantitative Radiologie. In *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin*. München: J. F. Bergmann-Verlag.

Hildebrand, K. A., Sutherland, C. & Zhang, M. (2004). Rabbit knee model of post-traumatic joint contractures: The long-term natural history of motion loss and myofibroblasts. *Journal of orthopaedic research*, 22(2), 313-320.

Hildebrand, K. A., Zhang, M., & Hart, D. A. (2005). High rate of joint capsule matrix turnover in chronic human elbow contractures. *Clinical orthopaedics and related research*, 439, 228.

Hodgman, S. F. J. (1963). Abnormalities and defects in pedigree dogs. I. An investigation into the existence of abnormalities in pedigree dogs in the British Isles. *Journal of small animal practice*, 4(6), 447-456.

Hofbauer, L. (1898). Zur Pathogenese der Gelenkaffektionen. *Wiener klinische Wochenschrift*, XI, 86.

Hoffmann, G. (1983). Ergebnisse der chirurgischen Therapie bei der Luxatio patellae congenita des Hundes (Doctoral dissertation). Tierärztliche Hochschule Hannover. Vet. med. Diss.

Hogg, N., Palmer, D.G. & Revell, P.A. (1985). Mononuclear phagocytes of normal and rheumatoid synovial membrane identified by monoclonal antibodies. *Immunology*, 56, 673-681.

Holbrook, K. A., Byers, P. H., Counts, D. F. & Hegreberg, G. A. (1980). Dermatosparaxis in a Himalayan cat: II. Ultrastructural studies of dermal collagen. *Journal of Investigative Dermatology*, 74(2), 100-104.

Hollister, D. W. (1978). Heritable disorders of connective tissue: Ehlers-Danlos syndrome. *Pediatric Clinics of North America*, 25(3), 575-591.

Holmes, D. F., Watson, R. B., Steinmann, B. & Kadler, K. E. (1993). Ehlers-Danlos syndrome type VIIB. Morphology of type I collagen fibrils formed in vivo and in vitro is determined by the conformation of the retained N-propeptide. *Journal of Biological Chemistry*, 268(21), 15758-15765.

Horn, M. M., Martins, V. C. A. & de Guzzi Plepis, A. M. (2009). Interaction of anionic collagen with chitosan: Effect on thermal and morphological characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 239-243.

Horne, R. D. (1971). Canine patellar luxation (a review). *Veterinary medicine, small animal clinician*, 66, 211-218.

Horne, R. D. (1979). Transplantation of the cranial head of the sartorius muscle for correction of medial patellar luxations. *J Am Anim Hosp Assoc*, 15, 361-365.

Horwitz, A. L., Hance, A. J. & Crystal, R. G. (1977). Granulocyte collagenase: selective digestion of type I relative to type III collagen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(3), 897-901.

Hou, Y., Wang, Y., Xuemei Lu, X., Zhang, X., Zhao, Q., Todhunter, R. J. & Zhang, Z. (2013). Monitoring hip and elbow dysplasia achieved modest genetic improvement of 74 dog breeds over 40 Years in USA. *PloS one*, 8(10), e76390.

- Hudson, J. T., Slater, M. R., Taylor, L., Scott, H. M. & Kerwin, S. C. (2004). Assessing repeatability and validity of a visual analogue scale questionnaire for use in assessing pain and lameness in dogs. *American journal of veterinary research*, 65(12), 1634-1643.
- Hueter, C. (1866). Zur Histologie der Gelenkflächen und Gelenkkapseln, mit einem kritischen Vorwort über die Versilberungsmethode. *Virchows Archiv*, 36(1), 25-80.
- Hui, A. Y., McCarty, W. J., Masuda, K., Firestein, G. S. & Sah, R. L. (2012). A systems biology approach to synovial joint lubrication in health, injury, and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, 4(1), 15-37.
- Hulland, T. J. (1993). Muscle and tendon. *Pathology of domestic animals*, 1, 183-265.
- Hulmes, D. J. S. (2002). Building collagen molecules, fibrils, and suprafibrillar structures. *Journal of structural biology*, 137(1), 2-10.
- Hulmes, D. J. S. (2008). Collagen diversity, synthesis and assembly. In *Collagen* (S. 15-47). New York City: Springer US.
- Hulse, D. A. (1981). Pathophysiology and management of medial patellar luxation in the dog. *Veterinary medicine, small animal clinician: VM, SAC*, 76(1), 43.
- Hulse, D. A., Miller, D., Roberts, D., Shires, P. & Shoji, H. (1986). Resurfacing canine femoral trochleoplasties with free autogenous periosteal grafts. *Veterinary Surgery*, 15(4), 284-288.
- Hulse, D. A. & Shires, P. K. (1993). The stifle joint. In Slatter, D. *Textbook of small animal surgery* (2. Aufl., S. 2220-2228), Philadelphia: W. B. Saunders.
- Hunter, W. (1742). Of the structure and diseases of articulating cartilages, by William Hunter, surgeon. *Philosophical Transactions*, 42(462-471), 514-521.
- Hunziker, E. B. (2001). Growth-factor-induced healing of partial-thickness defects in adult articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage*, 9(1), 22-32.

- Hutter, H, Punzet, G. & Kopf, N. (1983). Patellaluxation nach medial beim Hund - Modifikation der Fixation der versetzten Tuberositas Tibiae. *Wiener tierärztliche Monatsschrift*, 70, 269-276.
- Hutton, J. J., Tappel, A. L. & Udenfriend, S. (1967). Cofactor and substrate requirements of collagen proline hydroxylase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 118(1), 231-240.
- Hyc, A., Osiecka-Iwan, A., Niderla-Bielinska, J., Jankowska-Steifer, E. & Moskalewski, S. (2009). Pro-and anti-inflammatory cytokines increase hyaluronan production by rat synovial membrane in vitro. *International journal of molecular medicine*, 24(4), 579-585.
- Hyc, A., Osiecka-Iwan, A., Niderla-Bielinska, J. & Moskalewski, S. (2011). Influence of LPS, TNF, TGF- α 1 and IL-4 on the expression of MMPs, TIMPs and selected cytokines in rat synovial membranes incubated in vitro. *International journal of molecular medicine*, 27(1), 127-137.
- Hyrtl, J. (1880). *Onomatologia anatomica*. Wien: Wilhelm von Braumüller. S. 521-523.
- Imholt, K. M., Möller, S., Fehr, M. & Meyer-Lindenberg, A. (2011). Lahmheits-und Osteoarthroseentwicklung nach Tibial Plateau Leveling Osteotomy (TPLO) und potenzielle prognostische Einflussfaktoren. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 39(5), 323-335.
- Insall, J., Goldberg, V. & Salvati, E. (1972). Recurrent dislocation and the high-riding patella. *Clinical orthopaedics and related research*, 88, 67-69.
- International Committee on Veterinary Histological Nomenclature (1994): *Nomina histologica*, 2nd edn. Rev. Zurich: International Committee on Veterinary Histological Nomenclature (Together with *Nomina Anatomica Veterinaria*, 4th edn. and *Nomina Embriologica Veterinaria*).
- Isaka, M., Befu, M., Matsubara, N., Ishikawa, M., Arase, Y., Tsuyama, T. & Namba, S. (2014). Corrective surgery for canine patellar luxation in 75 cases (107 limbs): landmark for block recession. *Veterinary Science Development*, 4(2).
- Itoi, E. & Hagiwara, Y. (2015). Pathophysiology of Frozen Shoulders: Histology and Laboratory Tests. In *Shoulder Stiffness* (pp. 149-153). Berlin Heidelberg: Springer Verlag.

Iwanaga, T., Shikichi, M., Kitamura, H., Yanase, H. & Nozawa-Inoue, K. (2000). Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint. *Archives of histology and cytology*, 63(1), 17-31.

Janssen, G. (1979). Fehlerquellen bei der Ausmessung der Standard-Röntgenbilder des Kniegelenkes. *Orthop. Praxis* 6, 468-470.

Jobling, R., D'Souza, R., Baker, N., Lara-Corrales, I., Mendoza-Londono, R., Dupuis, L. & Kannu, P. (2014). The Collagenopathies: Review of Clinical Phenotypes and Molecular Correlations. *Current rheumatology reports*, 16(1), 1-13.

Johnston, S. A. (1997). Osteoarthritis: joint anatomy, physiology, and pathobiology. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 27(4), 699-723.

Junqueira, L. C. & Carneiro, J. (1986). Knochen und Knochenverbindungen. In *Histologie* (S. 169-195). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.

Kadler, K. (1994). Extracellular matrix 1: Fibril-forming collagens. *Protein profile*, 2(5), 491-619.

Kaiser, S. (1999). *Magnetresonanztomographische und röntgenologische Untersuchungen zur Luxatio patellae congenita des Hundes*. Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin. Vet. med. Diss.

Kalff, S., Butterworth, S. J., Miller, A., Keeley, B., Baines, S. & McKee, W. M. (2014). Lateral patellar luxation in dogs: a retrospective study of 65 dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 27(2), 130-134.

Kalson, N. S., Starborg, T., Lu, Y., Mironov, A., Humphries, S. M., Holmes, D. F. & Kadler, K. E. (2013). Nonmuscle myosin II powered transport of newly formed collagen fibrils at the plasma membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(49), 4743-4752.

Kaltwasser, J. P. (2013). Pathophysiologie und Klinik der Synovitis. In Scharrer, I. und Schramm, W. (Hrsg.), *25. Hämophilie-Symposium Hamburg 1994: Verhandlungsberichte: HIV-Infektion Pädiatrische Hämostaseologie Synovitis Thrombophilie: APC-Cofaktor Hepatitis C* (p. 107). Berlin: Springer Verlag.

- Kamimoto, M., Kikuchi, M., Yashiro, T., Nihe, A., Kariya, Y. & Hoshino, Y. (2003). Immunohistochemical study of the proliferation modality of synovium in rat adjuvant arthritis. *Journal of orthopaedic science*, 8(3), 400-407.
- Kang, A. H. & Trelstad, R. L. (1973). A collagen defect in homocystinuria. *Journal of Clinical Investigation*, 52(10), 2571.
- Kao, W. W. Y., Berg, R. A. & Prockop, D. J. (1975). Ascorbate increases the synthesis of procollagen hydroxyproline by cultured fibroblasts from chick embryo tendons without activation or prolyl hydroxylase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 411(2), 202-215.
- Kása, F., Kása, G. & Kása, A. (2001). In Niemand, G., Suter, F. (Hrsg.), *Praktikum der Hundeklinik* (9. Auflage, S. 1023-1025). Berlin: Paul Parey Verlag.
- Katano, N., Muneta, T. & Sekiya, I. (2015). Current topics of regenerative medicine: joint-synovium mesenchymal stem cells for cartilage regeneration. *Nihon Jibiinkoka Gakkai kaiho*, 118(6), 723-727.
- Kaufmann, E. (1922). *Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie* (Vol. 2). Berlin: Verlag Walter de Gruyter.
- Keene, D. R., Engvall, E. & Glanville, R. W. (1988). Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network. *The Journal of cell biology*, 107(5), 1995-2006.
- Keene, D. R., Lunstrum, G. P., Morris, N. P., Stoddard, D. W. & Burgeson, R. E. (1991). Two type XII-like collagens localize to the surface of banded collagen fibrils. *The Journal of cell biology*, 113(4), 971-978.
- Ker, R. F., Wang, X. T. & Pike, A. V. (2000). Fatigue quality of mammalian tendons. *Journal of Experimental Biology*, 203(8), 1317-1327.
- Key, J. A. (1932). The synovial membrane of joints and bursae. *Special cytology*. New York: PB Hoeber, 2, 1055-76.

- Kielty, C. M., Boot-Handford, R. P., Ayad, S., Shuttleworth, C. A. & Grant, M. E. (1990). Molecular composition of type VI collagen. Evidence for chain heterogeneity in mammalian tissues and cultured cells. *Biochem. J.*, 272, 787-795.
- Kielty, C. M. & Grant, M. E. (2003). The collagen family: structure, assembly, and organization in the extracellular matrix. In Royce, P. M. & Steinmann, B. (Hrsg.), *Connective tissue and its heritable disorders: molecular, genetic, and medical aspects* (2nd Ed., S. 159-221). Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Kinscher, S. (2007). *Zur Luxatio patellae congenita direkte Beurteilung der Tiefe der Trochlea ossis femoris und bestimmter Parameter mittels der Computertomographie*. Freie Universität Berlin. Vet. med. Diss.
- Kivirikko, K. I. & Prockop, D. J. (1967). Purification and partial characterization of the enzyme for the hydroxylation of proline in protocollagen. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 118(3), 611-618.
- Kivirikko, K. I. & Risteli, L. (1976). Biosynthesis of collagen and its alterations in pathological states. *Medical biology*, 54(3), 159-186.
- Klareskog, L., Forsum, U. & Wigzell, H. (1982). Murine Synovial Intima Contains I-A-, I-E/C-Positive Bone-Marrow-Derived Cells. *Scandinavian journal of immunology*, 15(5), 509-514.
- Klocke, N. W., Snyder, P. W., Widmer, W. R., Zhong, W., McCabe, G. P. & Breur, G. J. (2005). Detection of synovial macrophages in the joint capsule of dogs with naturally occurring rupture of the cranial cruciate ligament. *American journal of veterinary research*, 66(3), 493-499.
- Knapp, T. R., Luck, E. & Daniels, J. R. (1977). Behavior of solubilized collagen as a bioimplant. *Journal of Surgical Research*, 23(2), 96-105.
- Knese, K. H. (2013). *Stützgewebe und Skelettsystem* (Vol. 2). Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- Knight, G. C. (1963). Abnormalities and Defects in Pedigree Dogs - III. Tibio-Femoral Joint Deformity and Patella Luxation. *Journal of Small Animal Practice*, 4(6), 463-464.

- Knight, A. D. & Levick, J. R. (1983). The density and distribution of capillaries around a synovial cavity. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 68(4), 629-644.
- Knutsson, F. (1941). Über die Röntgenologie des Femoropatellargelenks. Sowie eine gute Projektion für das Kniegelenk. *Acta Radiologica*, 22(3), 371-376.
- Kodituwakku, G. E. (1962). Luxation of the patella in the dog. *Veterinary Records*, 74(51), 1499-1506.
- König, H. E. & Liebich H. G. (2009). *Anatomie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis; mit 53 Tabellen* (S. 236-238). Stuttgart: Schattauer Verlag.
- Kohn, L. D., Isersky, C., Zupnik, J., Lenaers, A., Lee, G. & Lapière, C. M. (1974). Calf tendon procollagen peptidase: its purification and endopeptidase mode of action. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(1), 40-44.
- Kommoss, F. & Ridder, R. (2013). 4.1 Molekulare Diagnostik. In Beckmann, M. W., Dall, P., Fasching, P., Krüssel, J. S., Niederacher, D., & Tutschek, B. (Eds.). (2013). *Molekulare Medizin in der Frauenheilkunde: Diagnostik und Therapie* (S. 311). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Korting, G. W. & Holzmann, H. (1965). Zur Hydroxyprolin-Ausscheidung im Harn von Hautkranken. *Klinische Wochenschrift*, 43(7), 361-364.
- Konttinen, Y. T., Tiainen, V., Gomez-Barrena, E., Hukkanen, M. & Salo, J. (2006). Innervation of the joint and role of neuropeptides. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1069(1), 149-154.
- Koyama, E., Shibukawa, Y., Nagayama, M., Sugito, H., Young, B., Yuasa, T. & Pacifici, M. (2008). A distinct cohort of progenitor cells participates in synovial joint and articular cartilage formation during mouse limb skeletogenesis. *Developmental biology*, 316(1), 62-73.
- Kramer, F. J., Baethge, C., Swennen, G., Teltzrow, T., Schulze, A., Berten, J. & Brachvogel, P. (2004). Intra- and perioperative complications of the LeFort I osteotomy: a prospective evaluation of 1000 patients. *Journal of Craniofacial Surgery*, 15(6), 971-977.

- Krey, P. R., Cohen, A. S. & Sherwood, M. E. (1973). Fine structural analysis of rabbit synovial cells I. The normal synovium and changes in organ culture. *Arthritis & Rheumatism*, 16(3), 324-340.
- Kroh, F. (1908). Studien über den Bau der Synovialmembran und die Resorption des Gelenkinhaltes unter dem Einfluss variabler mechanischer Momente. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 94(3), 215-240.
- Kung, M. S., Markantonis, J., Nelson, S. D., & Campbell, P. (2015). The Synovial Lining and Synovial Fluid Properties after Joint Arthroplasty. *Lubricants*, 3(2), 394-412.
- Kurth, T. B., Dell'Accio, F., Crouch, V., Augello, A., Sharpe, P. T. & De Bari, C. (2011). Functional mesenchymal stem cell niches in adult mouse knee joint synovium in vivo. *Arthritis & Rheumatism*, 63(5), 1289-1300.
- Kuwabara, M., Kobayashi, M. & Sato, K. (1980). Studies on patellar luxation in dogs: on analysis of the silhouette of the distal end of the femur. *Japanese Journal of Veterinary Science*, 42(1), 73-81.
- Lacroix, J. V. (1930). Recurrent luxation of the patella in the dogs. *North Am. Vet*, 11, 47-48.
- LaFond, E., Breur, G. J. & Austin, C. C. (2002). Breed susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(5), 467-477.
- Lainer, D. T. & Brahn, E. (2005). New antiangiogenic strategies for the treatment of proliferative synovitis. *Expert opinion on investigational drugs*, 14(1), 1-17.
- Landzert, (1867). Zur Histologie der Synovialhaut. *Medizinisches Zentralblatt*, 4, 369-371.
- Lang, J. (1957). Die Gelenkinnenhaut, ihre Aufbau-und Abbauvorgänge. *Morphologisches Jahrbuch*, 98, 387-482.
- Lang, G. (2013). Histologische Färbung. In *Histotechnik* (S. 169-250). Wien: Springer Verlag.
- Langer, E. & Huth, F. (1960). Untersuchungen über den submikroskopischen Bau der Synovialmembran. *Cell and Tissue Research*, 51(5), 545-559.

- Lash, J. W. & Vasan, N. S. (1978). Somite chondrogenesis in vitro: Stimulation by exogenous extracellular matrix components. *Developmental biology*, 66(1), 151-171.
- Lavrijsen, I. C. M., Heuven, H. C. M., Voorhout, G., Meij, B. P., Theyse, L. F. H., Leegwater, P. A. J. & Hazewinkel, H. A. W. (2012). Phenotypic and genetic evaluation of elbow dysplasia in Dutch Labrador Retrievers, Golden Retrievers, and Bernese Mountain dogs. *The Veterinary Journal*, 193(2), 486-492.
- Lavrijsen, I. C. M., Heuven, H. C. M., Breur, G. J., Leegwater, P. A. J., Meutstege, F. J. & Hazewinkel, H. A. W. (2013). Phenotypic and genetic trends of patellar luxation in Dutch Flat-Coated Retrievers. *Animal genetics*, 44(6), 736-741.
- Lavrijsen, I. C., Leegwater, P. A., Wangdee, C., van Steenbeek, F. G., Schwencke, M., Breur, G. J. & Hazewinkel, H. A. (2014). Genome-wide survey indicates involvement of loci on canine chromosomes 7 and 31 in patellar luxation in flat-coated retrievers. *BMC genetics*, 15(1), 64.
- Lawrence, D., Bao, S., Canfield, P. J., Allanson, M. & Husband, A. J. (1998). Elevation of immunoglobulin deposition in the synovial membrane of dogs with cranial cruciate ligament rupture. *Veterinary immunology and immunopathology*, 65(1), 89-96.
- Leighton, R. L. (1970). A technic for repair of medial patellar luxation in the dog. *Veterinary medicine, small animal clinician*, 65(4), 365 - 368.
- Lenaers, A., Nusgens, B. V., Lapière, C. M. & Ansay, M. (1971). Collagen made of extended α -chains, procollagen, in genetically-defective dermatosparaxic calves. *European Journal of Biochemistry*, 23(3), 533-543.
- Leonhardt, H. (1990). *Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- Lever, J. D. & Ford, E. H. R. (1958). Histological, histochemical and electron microscopic observations on synovial membrane. *The Anatomical Record*, 132(4), 525-539.
- Levick, J. R. & McDonald, J. N. (1990). Microfibrillar meshwork of the synovial lining and associated broad banded collagen: a clue to identity. *Annals of the rheumatic diseases*, 49(1), 31-36.

Levick, J. R., Price, F. M. & Mason, R. M. (1996). Synovial Matrix-Synovial Fluid System of Joints. *Extracellular matrix*, 1, 328.

Liebich, H. G. (2010). *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis; mit 4 Tabellen und 21 Übersichten zu differenzialdiagnostischen Merkmalen*. Stuttgart: Schattauer Verlag.

Linck, G. & Porte, A. (1980). B-cells of the synovial membrane. III. Relationship with the specific collagenous structure of the intimal interstitium in the mouse. *Cell and tissue research*, 218(1), 117-121.

Linck, G. & Porte, A. (1981). B-cells of the synovial membrane. *Cell and Tissue Research*, 218(1), 117-121.

Lindström, J. (1963). Structure and function of the capillary bed in synovial tissue. *Acta Rheumatologica Scandinavica*, 9(1-4), 10-13.

Lipowitz, A. J., Wong, P. L. & Stevens, J. B. (1985). Synovial membrane changes after experimental transection of the cranial cruciate ligament in dogs. *American journal of veterinary research*, 46(5), 1166-1170.

Litschauer, B., Palm, F., Aurich, C., Buchner, H. H. F. & Horvath-Ungerböck, C. (2010). Hereditary equine regional dermal asthenia in two Quarter horses in Austria. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift-Veterinary Medicines Austria*, 97, 3-8.

Little, J. P., Bleedorn, J. A., Sutherland, B. J., Sullivan, R., Kalscheur, V. L., Ramaker, M. A. & Muir, P. (2014). Arthroscopic Assessment of Stifle Synovitis in Dogs with Cranial Cruciate Ligament Rupture. *PloS one*, 9(6), 97329-97329.

Löer, B. (1999). *Computertomographische Torsionsmessung an Femur und Tibia des Hundes: Methode und klinische Anwendung bei der Luxatio patellae congenita*. Ludwig-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.

Loeffler, K. (1990). Zucht- und Aufzuchtmassnahmen zur Vermeidung von Gelenkerkrankungen, insbesondere der Hüftgelenkdysplasie. In *Jahrestagung der Schweizerischen Vereinigung für Kleintiermedizin in Biel vom 10.-12.5.1990*, Kongressbericht.

Löffler, M. (2014). Pathobiochemie des Purin-und Pyrimidinstoffwechsels. In *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie* (pp. 372-378). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.

Loeffler, K. & Lieger, H. (1964). Gelenkanomalien als Problem in der Hundezucht. *Dtsch tierärztl Wschr*, 71, 317-321.

Loeffler, K. & Meyer, H. (1961). Erbliche Patellaluxation bei Toy-Spaniels. *Dtsch tierärztl Wschr*, 68, 619-622.

Löwenstein, C. & Loesenbeck, G. (2007). Ein Fall von Ehlers-Danlos-ähnlichem Syndrom bei einer Katze. *Kleintierpraxis*, 8(7), 430-437.

Lohr, M. (2002). *Original-Prüfungsfragen mit Kommentar GK 2: Pathophysiologie, Pathobiochemie* (Vol. 1000). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Lovell, A. G. & Tanner, H. H. (1908). Synovial membranes, with special reference to those related to the tendons of the foot and ankle. *Journal of Anatomy and Physiology*, 42, 415-32.

Lovett, R. W. (1894). The operative treatment of tuberculosis of joints - (excision). Read in the Section on Surgery and Anatomy, at the Forty-fifth Annual Meeting of the American Medical Association, held at San Francisco, June 5-8, 1894. *Journal of the American Medical Association*, 23(1), 13-17.

Lovett, R. W. & Morse, J. L. (1892). A transient or ephemeral form of hip disease, with a report of cases. *Boston Med Surg J.* 127, 161-163.

Lubberts, E. (2015). Role of T Lymphocytes in the Development of Rheumatoid Arthritis. Implications for Treatment. *Current pharmaceutical design*, 21(2), 142-146.

Lubosch, W. (1910). *Bau und Entstehung der Wirbeltiergelenke: eine morphologische und histogenetische Untersuchung*. Jena: Fischer Verlag.

Magnus, G. (1923). Über die Resorptionswege aus serösen und synovialen Höhlen. *Langenbeck's Archives of Surgery*, 182(5), 325-340.

Maibach, E. (1953). Histochemische Untersuchungen an der Synovialmembran als Beitrag zum Problem der Herkunft der Synovia. *Cells Tissues Organs*, 17(2), 175-200.

Malghem, J. & Maldague, B. (1989). Depth insufficiency of the proximal trochlear groove on lateral radiographs of the knee: Relation to patellar dislocation. *Radiology*, 170(2), 507-510.

Manunta, A. F., Zedde, P., Pisanu, F. & Marras, F. (2014). Sports-related changes of the synovial membrane. *Joints*, 2(4), 181.

Marcelino, J. & McDevitt, C. A. (1995). Attachment of articular cartilage chondrocytes to the tissue form of type VI collagen. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1249(2), 180-188.

Marquort, W. (1930). Zur Histologie der Synovialmembran. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 12, 34-52.

Marwitz, S., Abdullah, M., Vock, C., Fine, J. S., Visvanathan, S., Gaede, K. I. & Goldmann, T. (2011). HOPE-BAL Improved molecular diagnostics by application of a novel technique for fixation and paraffin embedding. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 59(6), 601-614.

Masson, A. O., Hess, R., O'Brien, K., Bertram, K., Taylor, P., Irvine, E., & Krawetz, R. J. (2015). Increased levels of p21 (CIP1/WAF1) correlate with decreased chondrogenic differentiation potential in synovial membrane progenitor cells. *Mechanisms of ageing and development*.

Massoud, S. N., Levy, O., de los Manteros, O. E., Musa, F., Even, T., Sinha, J. & Copeland, S. A. (2007). Histologic evaluation of the glenohumeral joint capsule after radiofrequency capsular shrinkage for atraumatic instability. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 16(2), 163-168.

Matis, U. (1999). Kniegelenk - Zugang zum Kniegelenk bei Luxatio patellae. In Schebitz, H. und Brass, W. (Hrsg.), *Operationen an Hund und Katze* (2. Aufl., S. 401-404). Berlin: Paul Parey Zeitschriftenverlag.

Matis, U. & Schebitz, H. (1985). In Schebitz, H., & Brass, W. (Hrsg.), *Operationen an Hund und Katze. Unter Mitarbeit von 13 Autoren.* (S. 258-261). Berlin: Paul Parey Verlag.

Matsubayashi, S., Shinkai, H. & Sano, S. (1977). Characterization of the synthesized collagen by mouse L-929 (L-5) cells. *Archives of Dermatological Research*, 260(1), 7-15.

- Mayne, R. & Irwin, M. H. (1986). Collagen types in cartilage. In Kuettner, K. E., Schleyerbach, R. & Hascall, V. C. (Hrsg.), *Articular cartilage biochemistry* (S. 23-38). New York: Ravens Press.
- Mayne, R. & Burgeson R. E. (1987). *The structure and function of collagen types*. Orlando: Academic Press.
- McClain, P. E., Wiley, E. R., Beecher, G. R., Anthony, W. L. & Hsu, J. M. (1973). Influence of zinc deficiency on synthesis and cross-linking of rat skin collagen. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 304(2), 457-465.
- McCroskery, P. A., Richards, J. F. & Harris, E. D. (1975). Purification and characterization of a collagenase extracted from rabbit tumours. *Biochemical Journal*, 152, 131-142.
- McDonald, J. A. (1988). Extracellular matrix assembly. *Annual review of cell biology*, 4(1), 183-207.
- McFarland, E. G., Kim, T. K., Banchasuek, P. & McCarthy, E. F. (2002). Histologic evaluation of the shoulder capsule in normal shoulders, unstable shoulders, and after failed thermal capsulorrhaphy. *The American journal of sports medicine*, 30(5), 636-642.
- McInnes, I. B. & Schett, G. (2007). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Immunology*, 7(6), 429-442.
- McKusick, V. A. (1972). *Heritable disorders of connective tissue*. Maryland Heights, Missouri: Cv Mosby imprint.
- McQueen, F. M. & Østergaard, M. (2007). Established rheumatoid arthritis—new imaging modalities. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 21(5), 841-856.
- Meyer, H. (2001). *Zur Luxatio patellae congenita des Hundes - Indirekte Bestimmung der Tiefe der Trochlea ossis femoris mittels der direkten Röntgenvergrößerung (DIMA-Technik)* Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin. Vet. med. Diss.
- Miller, E. J. (1973). A review of biochemical studies on the genetically distinct collagens of the skeletal system. *Clinical orthopaedics and related research*, 92, 260-280.

Miller, E. J., Finch, J. E., Chung, E., Butler, W. T. & Robertson, P. B. (1976). Specific cleavage of the native type III collagen molecule with trypsin: Similarity of the cleavage products to collagenase-produced fragments and primary structure at the cleavage site. *Archives of biochemistry and biophysics*, 173(2), 631-637.

Miller, E. J. & Gay, S. (1978). *Collagen in the physiology and pathology of connective tissue*. Stuttgart: Gustav-Fischer Verlag.

Miller, R. E. J. & Gay, S. (1983). Overview: What is collagen, what is not. *Ultrastructural pathology*, 4(4), 365-377.

Miller, E. J. & Gay, S. (1986). The collagens: an overview and update. *Methods in enzymology*, 144, 3-41.

Minor, R. R. (1973). Somite chondrogenesis A structural analysis. *The Journal of cell biology*, 56(1), 27-50.

Minor, R. R. (1980). Collagen metabolism: a comparison of diseases of collagen and diseases affecting collagen. *The American journal of pathology*, 98(1), 225.

Minor, R. R., Wootton, J. A., Patterson, D. F., Uitto, J. & Bartel, D. (1986). Genetic diseases of collagen in animals. In Uitto, J. & Perejda, A. J. (Hrsg.), *Connective Tissue Disease: Molecular Pathology of the Extracellular Matrix* (S. 293-320). New York, Basel: Marcel Dekker Inc.

Mochal, C. A., Miller, W. W., Cooley, A. J., Linford, R. L., Ryan, P. L. & Rashmir-Raven, A. M. (2010). Ocular findings in Quarter Horses with hereditary equine regional dermal asthenia. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 237(3), 304-310.

Mohr, W. (2010). *Gelenkpathologie: Historische Grundlagen, Ursachen und Entwicklungen von Gelenkleiden und ihre Pathomorphologie*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.

Mohr, W. (2013). *Gelenkpathologie: Historische Grundlagen, Ursachen und Entwicklungen von Gelenkleiden und ihre Pathomorphologie* (S. 27). Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.

- Møller, B. N., Møller-larsen, F. & Frich, L. H. (1989). Chondromalacia induced by patellar subluxation in the rabbit. *Acta Orthopaedica*, 60(2), 188-191.
- Monument, M. J., Hart, D. A., Befus, A. D., Salo, P. T., Zhang, M. & Hildebrand, K. A. (2012). The mast cell stabilizer ketotifen reduces joint capsule fibrosis in a rabbit model of post-traumatic joint contractures. *Inflammation Research*, 61(4), 285-292.
- Moskalewski, S., Osiecka-Iwan, A., Jankowska-Steifer, E. & Hyc, A. (2014). Synovial membrane asks for independence. *Folia morphologica*, 73(4), 395-398.
- Muir, P., Kelly, J. L., Marvel, S. J., Heinrich, D. A., Schaefer, S. L., Manley, P. A. & Plisch, E. (2011). Lymphocyte populations in joint tissues from dogs with inflammatory stifle arthritis and associated degenerative cranial cruciate ligament rupture. *Veterinary Surgery*, 40(6), 753-761.
- Mulisch, M. & Welsch, U. (Hrsg.), 2010. Romeis Mikroskopische Technik (18. Aufl., S. 393-396). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Myllyharju, J. & Kivirikko, K. I. (2001). Collagens and collagen-related diseases. *Annals of medicine*, 33(1), 7-21.
- Nagaoka, D. & Tsukise, A. (2001). Histochemical analyses of glycosaminoglycans in the synovial membrane of the canine knee joint. *Annals of Anatomy*, 183(2), 111-121.
- Nagaoka, D., Tsukise, A. & Meyer, W. (2001). Ultracytochemistry of glycosaminoglycans in the canine knee synovium. *Annals of Anatomy*, 183(3), 229-236.
- Nagaoka, D., Tsukise, A., Meyer, W. & Hirabayashi, Y. (2003). Ultracytochemical demonstration of glycoproteins in the canine knee synovium. *Annals of Anatomy*, 185(6), 555-564.
- Naito, M., Hayashi, S. I., Yoshida, H., Nishikawa, S. I., Shultz, L. D. & Takahashi, K. (1991). Abnormal differentiation of tissue macrophage populations in 'osteopetrosis' (op) mice defective in the production of macrophage colony-stimulating factor. *The American journal of pathology*, 139(3), 657.

Nalla, R. K., Kinney, J. H. & Ritchie, R. O. (2003). Effect of orientation on the in vitro fracture toughness of dentin: the role of toughening mechanisms. *Biomaterials*, 24(22), 3955-3968.

Neumann, E., Lefèvre, S., Zimmermann, B., Gay, S. & Müller-Ladner, U. (2010). Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts. *Trends in molecular medicine*, 16(10), 458-468.

Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. et al. (2003). *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere* (Band 1, S. 215-220). Berlin, Hamburg: Paul Parey Verlag.

Niedermeier, M., Pap, T., & Korb, A. (2010). Therapeutic opportunities in fibroblasts in inflammatory arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 24(4), 527-540.

Niemand, H. G. (1994). In Suter, P. F. und Niemand, H. G. (Hrsg.), *Praktikum der Hundeklinik* (8. Aufl., S. 698-700). Berlin: Paul Parey Verlag.

Nimni, M. E. (1973). Metabolic pathways and control mechanisms involved in the biosynthesis and turnover of collagen in normal and pathological connective tissues. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2(4), 175-202.

Nimni, M. E. (1975). Collagen: Its structure and function in normal and pathological connective tissues. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 4(2), 95-150.

Nunamaker, D. M. (1985). Patellar luxation. In Newton, C. D. (Hrsg.), *Textbook of small animal orthopaedics* (S. 1110). Philadelphia: Lippincott.

Oberbauer, A. M., Belanger, J. M., Bellumori, T., Bannasch, D. L. & Famula, T. R. (2015). Ten inherited disorders in purebred dogs by functional breed groupings. *Canine Genetics and Epidemiology*, 2(1), 1-12.

Oboladze, T. (2010). *Die Luxatio patellae beim Hund-Behandlung und Ergebnisse in den Jahren 1999 bis 2008*. Ludwigs-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.

O'Connor, B. L., & Woodbury, P. (1982). The primary articular nerves to the dog knee. *Journal of anatomy*, 134(Pt 3), 563.

Ogata, S. & Uthoff, H. K. (1990). The development of synovial plicae in human knee joints: an embryologic study. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, 6(4), 315-321.

O'Hara, P. J., Read, W. K., Romane, W. M. & Bridges, C. H. (1970). A collagenous tissue dysplasia of calves. *Laboratory investigation* 23, 307-314.

Olmstead, M. L. (1981). Lateral luxation of the patella. In Bojrab, M. J. (Hrsg.), *Pathophysiology in small animal surgery* (2. Aufl., S. 638-640). Philadelphia: Lea & Febiger.

Olmstead, M. L. (1999). Luxations of the patella. *Eickemeyer-Fortbildungsseminar "Gelenkchirurgie" vom 30.04.-01.05.1999*, Tuttlingen, Seminarunterlagen.

Olsen, B. R. & Prockop, D. J. (1974). Ferritin-conjugated antibodies used for labeling of organelles involved in the cellular synthesis and transport of procollagen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(5), 2033-2037.

Ortega, N. & Werb, Z. (2002). New functional roles for non-collagenous domains of basement membrane collagens. *Journal of cell science*, 115(22), 4201-4214.

Ostendorf, B., Mattes-György, K., Reichelt, D. C., Blondin, D., Wirrwar, A., Lanzman, R., & Scherer, A. (2010). Early detection of bony alterations in rheumatoid and erosive arthritis of finger joints with high-resolution single photon emission computed tomography, and differentiation between them. *Skeletal radiology*, 39(1), 55-61.

Ossyssek, B., Anders, S., Grifka, J. & Straub, R. H. (2011). Surgical synovectomy decreases density of sensory nerve fibers in synovial tissue of non-inflamed controls and rheumatoid arthritis patients. *Journal of Orthopaedic Research*, 29(2), 297-302.

Oxley, B., Gemmill, T. J., Pink, J., Clarke, S., Parry, A., Baines, S. & Malcolm McKee, W. (2013). Precision of a novel computed tomographic method for quantification of femoral varus in dogs, and an assessment of the effect of femoral malpositioning. *Veterinary Surgery*, 42(6), 751-758.

Otte, P. (2000). Der Arthrose-Prozess Teil I. *Gelenkknorpel: Erhaltung, Gefährdung, Destruktion* www.arthrose-prozess.de/derArthroseProzess_Teil1.pdf (Stand: 01.06. 2013).

Paatsama, S. (1952). Ligament injuries in the canine stifle joint. A clinical and experimental study. Faculty of Veterinary Medicine Helsinki, Royal Vet. Coll. Vet med. Diss.

Paciello, O., Lamagna, F., Lamagna, B. & Papparella, S. (2003). Ehlers-Danlos-Like Syndrome in 2 Dogs: Clinical, Histologic, and Ultrastructural Findings. *Veterinary clinical pathology*, 32(1), 13-18.

Palmer, A. J. R., Brown, C. P., McNally, E. G., Price, A. J., Tracey, I., Jezzard, P. & Glyn-Jones, S. (2013). Non-invasive imaging of cartilage in early osteoarthritis. *Bone & Joint Journal*, 95(6), 738-746.

Panayi, G. S., Lanchbury, J. S. & Kingsley, G. H. (1992). The importance of the T cell in initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism*, 35(7), 729-735.

Parry, D. A. & Craig, A. S. (1984). Growth and development of collagen fibrils in connective tissue. In Parry, D. A. D., Craig, A. S., Ruggeri, A., & Motta, P. M. *Ultrastructure of the connective tissue matrix* (S. 34-64). New York City: Springer US.

Patterson, D. F. & Minor, R. R. (1977). Hereditary fragility and hyperextensibility of the skin of cats. A defect in collagen fibrillogenesis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 37(2), 170-179.

Paulissen, S. M., van Hamburg, J. P., Dankers, W. & Lubberts, E. (2015). The role and modulation of CCR6+ Th17 cell populations in rheumatoid arthritis. *Cytokine*, 74(1), 43-53.

Pavlovich, R. I. & Lubowitz, J. (2008). Current concepts in synovial tissue of the knee joint. *Orthopedics - New Jersey*, 31(2), 160.

Pearson, P. T. & Ramsey, F. K. (1963). Evaluation of polytetrafluoroethylene implants to implants to correct canine medial patellar luxations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 143, 843-853.

Perez-Tamayo, R. (1978). Pathology of collagen degradation. A review. *The American journal of pathology*, 92(2), 508.

Petrides, P. E. (1997). Binde-und Stützgewebe. In Löffler, G., & Petrides, P. E. *Biochemie und Pathobiochemie* (Vol. 6, S. 732-759). Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer Verlag.

Pezzoli, G. & und Bignozzi, L. (1954). Surgical treatment of rupture of the anterior cruciate ligament of the stifle joint in a dog. *Nuova Vet.*, 30, 105-114.

Pieraggi, M. T. Regnier, A. & Bouissou, H. (1986). An unusual dermal collagen disorder in a dog. *Journal of comparative pathology*, 96(3), 289-299.

Piersol, G. A. (1907). *Human anatomy, including structure and development and practical considerations* (Vol. 1). Philadelphia, London: Lippincott company.

Pike, A. V., Ker, R. F. & Alexander, R. M. (2000). The development of fatigue quality in high- and low-stressed tendons of sheep (*Ovis aries*). *Journal of Experimental Biology*, 203(14), 2187-2193.

Pingel, J., Lu, Y., Starborg, T., Fredberg, U., Langberg, H., Nedergaard, A. & Kadler, K. E. (2014). 3-D ultrastructure and collagen composition of healthy and overloaded human tendon: evidence of tenocyte and matrix buckling. *Journal of anatomy*, 224(5), 548-555.

Pinnell, S. R. (1975). Abnormal collagens in connective tissue diseases. *Birth defects original article series*, 11(6), 23.

Plewig, G. & Degitz, K. (Eds.). (2013). *Fortschritte der praktischen Dermatologie und Venerologie* (Vol. 17, S. 55). Berlin: Springer-Verlag.

Priester, W. A. (1972). Sex, size, and breed as risk factors in canine patellar dislocation. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 160(5), 740-2.

Priester, W. A., Glass, A. G. & Waggoner, N. S. (1970). Congenital defects in domesticated animals: general considerations. *American journal of veterinary research*, 31, 1871-1879.

Prockop, D. J. & Tuderman, L. (1982). Posttranslational enzymes in the biosynthesis of collagen: extracellular enzymes. *Methods in enzymology*, 82, 305.

Pschyrembel, W. (2015). Pschyrembel–Klinisches Wörterbuch, 266. Auflage. Berlin-Boston: Walter de Gruyter GmbH.

Putnam, R. W. (1968). *Patellar luxation in the dog* (Doctoral dissertation). University of Guelph, Guelph.

Rainey, G. (1846). On the ganglionic character of the arachnoid membrane of the brain and spinal marrow. *Medico-chirurgical transactions*, 29, 85.

Raisz, L. G. & Koolemans-Beynen, A. R. (1974). Inhibition of bone collagen synthesis by prostaglandin E 2 in organ culture. *Prostaglandins*, 8(5), 377-385.

Ralphs, J. R. & Benjamin, M. (1994). The joint capsule: structure, composition, ageing and disease. *Journal of anatomy*, 184(Pt 3), 503.

Ramachandran, G. N. & Reddi, A. H. (1976). Biochemistry of collagen. In Prockop, D. J., Berg, R. A., Kivirikko, K. I., Uitto, J., Ramachandran, G. N., & Reddi, A. H. (Hrsg.) *Biochemistry of collagen* (S. 163-273). New York: Plenum Press.

Ramshaw, J. A. M., Peters, D. E., Jones, L. N., Badman, R. T. & Brodsky, B. B. (1983). Ovine dermatosparaxis. *Australian veterinary journal*, 60(5), 149-151.

Rashmir-Raven, A. M., Winand, N. J., Read, R. W., Hopper, R. M., Ryan, P. L., Poole, M. H. & Erb, H. N. (2004). Equine hyperelastosis cutis update. In *Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners* (S. 47-57). Lexington, KY: American Association of Equine Practitioners.

Rashmir-Raven, A. M. & Spier, S. J. (2015). Hereditary equine regional dermal asthenia (HERDA) in Quarter Horses: A review of clinical signs, genetics and research. *Equine Veterinary Education*, 27(11), 604-611.

Reddi, A. H., Gay, R., Gay, S. & Miller, E. J. (1977). Transitions in collagen types during matrix-induced cartilage, bone, and bone marrow formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5589-5592.

Reese, S. (1995). *Untersuchungen am intakten und rupturierten Ligamentum cruciatum craniale des Hundes*. Freie Universität Berlin. Vet. med. Diss.

Regauer, S., Seiler, G. R., Barrandon, Y., Easley, K. W. & Compton, C. C. (1990). Epithelial origin of cutaneous anchoring fibrils. *The Journal of cell biology*, 111(5), 2109-2115.

Reichert, K. B. (1849). Bericht über die Fortschritte in der mikroskopischen Anatomie. Arch. Anat. Physiol. wiss. Med., S. 1.

Reichler, I. M., Grundmann, S. & Koch, D. (1999). Diagnostische Effizienz der Vorsorgeuntersuchung der Patellarluxation bei Zwerghunderassen. *Kleintierpraxis*, 44(11), 825-829.

Rein, S., Hanisch, U., Zwipp, H., Fieguth, A., Lwowski, S. & Hagert, E. (2013). Comparative Analysis of Inter-and Intraligamentous Distribution of Sensory Nerve Endings in Ankle Ligaments A Cadaver Study. *Foot & ankle international*, 34(7), 1017-1024.

Remedios, A. M., Basher, A. W., Runyon, C. L. & Fries, C. L. (1992). Medial patellar luxation in 16 large dogs a retrospective study. *Veterinary Surgery*, 21(1), 5-9.

Rex, M. A. E. (1963). Surgical treatment of three common orthopaedic conditions of the dog's stifle. *Australian Veterinary Journal*, 39(7), 268-274.

Ricard-Blum, S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 3(1), 1-19.

Ricard-Blum S., Dublet B. & Rest M. van der (2000). *Unconventional Collagens, Types VI, VII, VIII, IX, X, XIV, XVI and XIX. Protein Profile Series*. Oxford, Great Britain: Oxford University Press.

Ricard-Blum, S., Ruggiero, F. & van der Rest, M. (2005). The collagen superfamily. In Brinckmann, J., Notbohm, H. & Müller, P. K. (Hrsg.), *Collagen - Primer in structure, processing and assembly* (S. 35-84). Berlin, Heidelberg: Springer.

Richards, C. D. (1975). Surgical correction of medial patellar luxation: tibial crest transplantation and trochlear arthroplasty. *Veterinary Medicine and Small Animal Clinician*, 70, 322-325.

Riser, W. H., Parkes, L. J., Rhodes, W. H. & Shirer, J. F. (1969). Genu valgum: A stifle deformity of giant dogs. *Veterinary Radiology*, 10(1), 28-37.

Rittig, M., Lütjen-Drecoll, E., Rauterberg, J., Jander, R. & Mollenhauer, J. (1990). Type-VI collagen in the human iris and ciliary body. *Cell and tissue research*, 259(2), 305-312.

Robins, G. M. (1990). The canine stifle joint. In Whittick, W.G. *Canine Orthopedics* (2. Aufl., S. 693-760). Philadelphia: Lea & Febiger.

Robinson, R. (1990). Genetics for dog breeders. *Genetics for dog breeders.*, (2. Aufl).

Rodenbeck, H. (1971). Ein Beitrag zur chirurgischen Therapie der Patellarluxation. *Kleintierpraxis*, 16, 119-121.

Rodriguez, F., Herraiez, P., Monteros, A., Calabuig, P. & Rodriguez, J. L. (1996). Collagen Dysplasia in a Litter of Garaffiano Shepherd Dogs. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 43(1-10), 509-512.

Roush, J. K. (1993). Canine patellar luxation. *Veterinary Clinics of North America: small animal practice*, 23(4), 855-868.

Roy, S., Ghadially, F. N., & Crane, W. A. (1966). Synovial membrane in traumatic effusion. Ultrastructure and autoradiography with tritiated leucine. *Annals of the rheumatic diseases*, 25(3), 259.

Roy, S. & Ghadially, F. N. (1967). Synthesis of hyaluronic acid by synovial cells. *The Journal of pathology and bacteriology*, 93(2), 555-557.

Roy, R. G., Wallace, L. J., Johnston, G. R. & Wickstrom, S. L. (1992). A retrospective evaluation of stifle osteoarthritis in dogs with bilateral medial patellar luxation and unilateral surgical repair. *Veterinary Surgery*, 21(6), 475-479.

Rudy, R. L. (1965). Stifle joint. In Archibald, J. & Mayer, C. (Hrsg.), *Canine surgery; a text and reference work* (2. Aufl., S. 771-783). Santa Barbara, California: Drawer K.

Rudy, R. L. (1974). Stifle joint. In Archibald, J. (Hrsg.), *Canine surgery* (2. Aufl, S. 533-540). Santa Barbara, California: American veterinary pub.

Sage, H., Bornstein, P., Mayne, R. & Burgeson, R. E. (1987). Type VIII collagen. In Maynes, R. & Burgeson, R. E. (Hrsg.) *Structure and function of collagen types* (S. 173). Academic Press Orlando, FL.

Sagiroglu, A. O. (2012). The Light Microscopic Study of Age-Associated Changes in Dog Synovial Membrane Cells. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(18), 3369-3377.

Sakai, L. Y., Keene, D. R., Morris, N. P. & Burgeson, R. E. (1986). Type VII collagen is a major structural component of anchoring fibrils. *The Journal of cell biology*, 103(4), 1577-1586.

Salomon, F. V. (2015). Bewegungsapparat. In Salomon, F. V., Geyer, H., & Gille, U. (Hrsg.), (2015). *Anatomie für die Tiermedizin*. (3. Aufl., S. 84). Stuttgart: Enke Verlag.

Sánchez-Molano, E., Woolliams, J. A., Pong-Wong, R., Clements, D. N., Blott, S. C. & Wiener, P. (2014). Quantitative trait loci mapping for canine hip dysplasia and its related traits in UK Labrador Retriever. *BMC genomics*, 15(1), 833.

Sappey, P. (1867). *Traité d'anatomie descriptive*. Paris. In: Weinstabl, R., Herz, H., Firbas, W. (1986). *Zusammenhang des Ligamentum coracoglenoidale mit dem Musculus pectoralis minor*. *Acta Anat*, 125, 126-131.

Sawada, H., Konomi, H. & Hirosawa, K. (1990). Characterization of the collagen in the hexagonal lattice of Descemet's membrane: its relation to type VIII collagen. *The Journal of cell biology*, 110(1), 219-227.

Schäfer, G. (1981). *Die Luxatio patellae congenita des Hundes und ihre Behandlung mit einer neuartigen Operationsmethode*. Justus-Liebig-Universität Gießen. Vet. med. Diss.

Schäfer G., Nolte, I., Reinhard F. & Rudolph, R. (1982). Die Luxatio patellae congenita des Hundes. I. Experimentelle Untersuchungen. II. Klinik, Ätiologie und Therapieergebnisse. *Kleintierpraxis*, 27, 121-130.

Schebitz, H. & Brass, W. (1999). *Operationen an Hund und Katze* (2. Aufl., S. 401-405). Berlin: Paul Parey Verlag.

Schebitz, H. & Wilkens, H. (1989). Atlas der Röntgenanatomie von Hund und Katze (5. Aufl.). Berlin: Paul Parey Verlag.

Schönbauer, H. R., Polt, E. & Grill, F. (2013). *Orthopädie: Methodische Diagnostik und Therapie*. Berlin: Axel Springer-Verlag.

Schünke, M. (2014). Topografie und Funktion des Bewegungssystems: funktionelle Anatomie (2. Aufl., S. 296-299). Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

Schütz, E., Drögemüller, C., Leeb, T., Scharfenstein, M. & Brenig, B. (2012). Osteogenesis imperfecta beim Dackel. *Kleintierpraxis*, 6(2), 57-62.

Schwab, W., Bilgicyildirim, A. & Funk, R. H. W. (1997). Microtopography of the autonomic nerves in the rat knee: a fluorescence microscopic study. *Anatomical Record*, 247(1), 109-118.

Sellner, W. (1989). Fixierung histologischer Präparate. In Romeis, B. (Hrsg.) *Mikroskopische Technik* (17. Aufl., S. 83-87).

Shekhter, A. B. (1986). Connective tissue as an integral system: Role of cell-cell and cell-matrix interactions. *Connective tissue research*, 15(1-2), 23-31.

Shi, S. R., Key, M. E. & Kalra, K. L. (1991). Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 39(6), 741-748.

Shim, S. S. & Leung, G. (1986). Blood Supply of the Knee Joint: A Microangiographic Study in Children and Adults. *Clinical orthopaedics and related research*, 208, 119-125.

Shoshan, S. & Gross, J. (1974). Biosynthesis and metabolism of collagen and its role in tissue repair processes. *Israel journal of medical sciences*, 10(5), 537-561.

Shuttleworth, A. C. (1935). Dislocation of the patella in the dog. *Vet Rec*, 15, 765-774.

Shuttleworth, C. A., Forrest, L. & Jackson, D. S. (1975). Comparison of the cyanogen bromide peptides of insoluble guinea-pig skin and scar collagen. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure*, 379(1), 207-216.

Sigurdson, L. A. (1930). The structure and function of articular synovial membranes. *The Journal of Bone & Joint Surgery*, 12(3), 603-639.

Singleton, W. B. (1957). The diagnosis and surgical treatment of some abnormal stifle conditions in the dog. *Vet Rec*, 69, 1387-1394.

Singleton, W. B. (1969). The surgical correction of stifle deformities in the dog. *Journal of Small Animal Practice*, 10(2), 59-69.

Slatter, D. H. (Ed.). (2003). *Textbook of small animal surgery* (3. Aufl., Vol. 2). Philadelphia: Saunders.

Slocum, B., Slocum, D. B., Devine, T. & Boone, E. (1982). Wedge recession for treatment of recurrent luxation of the patella: a preliminary report. *Clinical orthopaedics and related research*, 164, 48-53.

Slocum, B. & Devine, T. (1985). Trochlear recession for correction of luxating patella in the dog. *J Am Vet Med Assoc*, 186(4), 365-369.

Slocum, B. & Slocum, T. D. (1993). Trochlear wedge recession for medial patellar luxation: an update. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 23(4), 869-875.

Soontornvipart, K., Wangdee, C., Kalpravidh, M., Brahmasa, A., Sarikaputi, M., Temwichitr, J. & Hazewinkel, H. A. W. (2013). Incidence and genetic aspects of patellar luxation in Pomeranian dogs in Thailand. *The Veterinary Journal*, 196(1), 122-125.

Soubbotine, M. (1880). Recherches histologiques sur la structure des membranes synoviales. *Archives de physiologie normale et pathologique*, (s 2), 7.

Spreng, D. E. & Schawalder, P. C. (1997). Osteoarthritis in the dog. *Praktische Tierarzt - Hannover*, 78(5), 364-381.

Staszyk, C. & Gasse, H. (2002): Zur Innervation der Gelenkkapsel beim Hund. Teil 4: Kniegelenk. *Kleintierpraxis* 47, 333-339.

Steinberg, (1874). *Untersuchungen über den Bau der Svnovialhaut*. Universität Petersburg. Diss.

Steplewski, A., Fertala, J., Beredjiklian, P. K., Abboud, J. A., Wang, M. L., Namdari, S. & Fertala, A. (2015). Auxiliary proteins that facilitate formation of collagen-rich deposits in the posterior knee capsule in a rabbit-based joint contracture model. *Journal of Orthopaedic Research*.

Stewart, R. E., Hollister, D. W. & Rimoïn, D. L. (1977). A new variant of Ehlers-Danlos syndrome: an autosomal dominant disorder of fragile skin, abnormal scarring, and generalized periodontitis. *Birth defects original article series*, 13(3B), 85.

Stock, K. F., Klein, S., Tellhelm, B. & Distl, O. (2011). Genetic analyses of elbow and hip dysplasia in the German shepherd dog. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 128(3), 219-229.

Stöhr, P. (1928). Bewegungsapparat. In Stöhr, P. (Hrsg.) *Mikroskopische Anatomie des Vegetativen Nervensystems* (S. 197-208). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.

Stryer, L. (1995). Protein structure and function. In Stryer, L. (Hrsg.), *Biochemistry*, (4. Aufl., S. 17-44). London: W.H. Freeman & Company.

Swoboda, B., Pullig, O., Kirsch, T., Kladny, B., Steinhäuser, B. & Weseloh, G. (1998). Increased content of type-VI collagen epitopes in human osteoarthritic cartilage: Quantitation by inhibition ELISA. *Journal of orthopaedic research*, 16(1), 96-99.

Swoboda, B., Pullig, O., Kladny, B., Pfander, D. & Weseloh, G. (1999). Kollagen Typ VI-Gehalt im gesunden und arthrotischen humanen Kniegelenkknorpel. *Zeitschrift für Orthopädie und ihre Grenzgebiete*, 137(6), 540-544.

Takemura, S., Braun, A., Crowson, C., Kurtin, P. J., Cofield, R. H., O'Fallon, W. M. & Weyand, C. M. (2001). Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *The Journal of Immunology*, 167(2), 1072-1080.

- Takeshita, M., Nakamura, J., Ohtori, S., Inoue, G., Orita, S., Miyagi, M. & Takahashi, K. (2012). Sensory innervation and inflammatory cytokines in hypertrophic synovia associated with pain transmission in osteoarthritis of the hip: a case-control study. *Rheumatology (Oxford)* 51, 1790–1795.
- Talcott, K. W., Goring, R. L. & De Haan, J. J. (2000). Rectangular Recession Trochleoplasty for Treatment of Patellar Luxation in Dogs and Cats. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 13(1), 39-43.
- Tang, X. Y., Liu, L. J., Yang, H. J., Peng, M. X. & Liao, S. H. (2007). Anatomic study of the synovial folds of the occipito-atlanto-axial joints. *Clinical Anatomy*, 20(4), 376-381.
- Tanzer, M. L. (1973). Cross-linking of collagen. *Science*, 180(4086), 561-566.
- Temwichitr, J., Hazewinkel, H. A., Van Hagen, M. A. & Leegwater, P. A. (2007). Polymorphic microsatellite markers for genetic analysis of collagen genes in suspected collagenopathies in dogs. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 54(9), 522-526.
- Temwichitr, J., Leegwater, P. A. & Hazewinkel, H. A. (2010). Fragmented coronoid process in the dog: A heritable disease. *The Veterinary Journal*, 185(2), 123-129.
- Thompson, A. M., Bergh, M. S., Wang, C. & Wells, K. (2011). Tibial plateau levelling osteotomy implant removal: A retrospective analysis of 129 cases. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 24(6), 450-456.
- Tillmanns, H. (1874). Beiträge zur Histologie der Gelenke. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, 10, 401.
- Tillmanns, H. (1876). Die Lymphgefäße der Gelenke. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, Bd. 12, S. 649.
- Timpl, R. & Engel, J. (1987). Type VI collagen. *Structure and function of collagen types*, 3, 105-143.
- Titford, M. E. & Horenstein, M. G. (2005). Histomorphologic assessment of formalin substitute fixatives for diagnostic surgical pathology. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 129(4), 502.

Todd, R. B. & Bowman, W. (1856). The physiological anatomy and physiology of the man (Vol. 1, 2. Aufl.). Philadelphia : Blanchard and Lea.

Todhunter, R. J., Fubini, S. L., Wootton, J. A. & Lust, G. (1996). Effect of methylprednisolone acetate on proteoglycan and collagen metabolism of articular cartilage explants. *The Journal of rheumatology*, 23(7), 1207-1213.

Todhunter, R. J. & Johnston S. A. (2003). Osteoarthritis. In Slatter, D. H. (Ed.). *Textbook of small animal surgery* (Vol. 2, S. 2208-2211). Philadelphia: Elsevier Health Sciences.

Tomlinson, J. & Constantinescu, G. M. (1994). Repair of medial patella luxation. *Veterinary medicine*, 89(1), 48-56.

Tourneux, F. & Herrmann, G. (1880). Contributions à l'étude des membranes synovialis. *Gazette médicale de Paris*, 51.

Towle, H. A., Griffon, D. J., Thomas, M. W., Siegel, A. M., Dunning, D. & Johnson, A. (2005). Pre- and postoperative radiographic and computed tomographic evaluation of dogs with medial patellar luxation. *Veterinary Surgery*, 34(3), 265-272.

Traub, W. & Piez, K. A. (1971). The chemistry and structure of collagen. *Advances in Protein Chemistry*, 25, 243-352.

Tsukise, A., Meyer, W., Nagaoka, D., Kikuchi, K., Kimura, J. & Fujimori, O. (2000). Lectin histochemistry of the canine anal glands. *Annals of Anatomy*, 182(2), 151-159.

Überreiter, O. (1966). Klinische und anatomische Befunde bei der angeborenen Patellaluxation des Hundes. *Kleintierpraxis*, 11, 125-152.

Übeyli, H. (2006). *Die Hydrojet-Synovektomie am Kniegelenk. In-vitro-Studie zur Machbarkeit eines neuen Synovektomieverfahrens*. Universität Marburg. Diss.

Uhlig, U., Haitzma, J. J., Goldmann, T., Poelma, D. L., Lachmann, B. & Uhlig, S. (2002). Ventilation-induced activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. *European Respiratory Journal*, 20(4), 946-956.

Uitto, J. & Prockop, D. J. (1975). Molecular defects in collagen and the definition of "collagen disease". *The Molecular Pathology*, 3, 670-688.

Uitto, J. & Lichtenstein, J. R. (1976). Defects in the biochemistry of collagen in diseases of connective tissue. *Journal of Investigative Dermatology*, 66(2), 59-79.

Urdike, S. J. & Diesem, C. D. (1983). Histologic appearance and distribution of synovial membrane types in the equine stifle joint. *Anatomia, histologia, embryologia*, 12(1), 53-59.

Uri, M., Verin, R., Ressel, L., Buckley, L. & McEwan, N. (2015). Ehlers-Danlos Syndrome Associated with Fatal Spontaneous Vascular Rupture in a Dog. *Journal of comparative pathology*, 152(2), 211-216.

Van den Berg, F. (2003). *Angewandte Physiologie* (2. Aufl., Vol. 1, S. 18). Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

Van Der Heijden, L., Gibbons, C. L. M. H., Dijkstra, P. D. S., Kroep, J. R., van Rijswijk, C. S. P., Nout, R. A. & van de Sande, M. A. J. (2012). The management of diffuse-type giant cell tumour (pigmented villonodular synovitis) and giant cell tumour of tendon sheath (nodular tenosynovitis). *Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume*, 94(7), 882-888.

Van der Rest, M., & Mayne, R. (1987). Type IX collagen. In *Structure and function of collagen types* (S. 195-221). Orlando: Academic Press.

Van der Rest, M., & Garrone, R. (1991). Collagen family of proteins. *The FASEB journal*, 5(13), 2814-2823.

Van der Sluijs, J. G. (1875). *Over den bouw van het synoviaalvlies*. Leiden: P. Somerwil.

Van Sickle, D. C. & Kincaid, S. A. (1978). Comparative arthrology. *The joints and synovial fluid*, 1, 1-47.

Vasanth, L. C., Pavlov, H. & Bykerk, V. (2013). Imaging of rheumatoid arthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 39(3), 547-566.

Vasseur, P. B. (1993). Patellar luxation. In Slatter, D. (Hrsg.), *Textbook of small animal surgery* (3. Aufl., 2122-2126). Philadelphia: W. B. Saunders Company.

Vasseur, P. B. & Arnoczky, S. P. (1981). Collateral ligaments of the canine stifle joint: anatomic and functional analysis. *American journal of veterinary research*, 42(7), 1133-1137.

Vaubel, E. (1933). Über das Synovialgewebe. *Virchows Archiv*, 289(3), 670-687

Vezzoni, A., Boiocchi, S. & Rossi, F. (2010). Hereditary skeletal diseases. *Veterinaria (Cremona)*, 24(4), 7-18.

Vidoni, B. (1997). *Untersuchung auf Patellaluxation bei Klein-und Zwerghunderassen in Österreich Thesis*. Veterinärmedizinische Universität Wien. Vet. med. Diss.

Vollmer, S., Vater, A., Licha, K., Gemeinhardt, I., Gemeinhardt, O., Voigt, J. & Schirner, M. (2009). Extra domain B fibronectin as a target for near-infrared fluorescence imaging of rheumatoid arthritis affected joints in vivo. *Molecular imaging*, 8(6), 330.

Vollmerhaus, B., Waibl, H. & Roos, H. (1994). Gelenke. In Frewein, J. & Vollmerhaus, B. (Hrsg.), *Anatomie von Hund und Katze* (S. 53-76). Berlin: Blackwell Wissenschaftsverlag.

Von Kölliker, A. (1889). Die allgemeine Gewebelehre und die Systems der Haut, Knochen und Muskeln. In von Kölliker, A. (Hrsg.), *Handbuch der Gewebelehre des Menschen* (6. Aufl., 1. Band). Leipzig: Wilhelm Engelmann.

Wagner, F. V., Negrão, J. R., Campos, J., Ward, S. R., Haghghi, P., Trudell, D. J. & Resnick, D. (2012). Capsular ligaments of the hip: anatomic, histologic, and positional study in cadaveric specimens with MR arthrography. *Radiology*, 263(1), 189-198.

Waibl, H., Gasse, H., Kaiser, S. & Brunberg, L. (1997). Zur Anatomie des Kniegelenks beim Hund. In *43. Jahrestag der DVG Fachgruppe Kleintierkrankheiten* (S. 144). Hannover: Referateband.

Wang, X. T. & Ker, R. F. (1995). Creep rupture of wallaby tail tendons. *The Journal of experimental biology*, 198(3), 831-845.

Wang, Y., Rollins, S. A., Madri, J. A. & Matis, L. A. (1995). Anti-C5 monoclonal antibody therapy prevents collagen-induced arthritis and ameliorates established disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(19), 8955-8959.

Wang, L. & Regatte, R. R. (2015). T1 ρ MRI of human musculoskeletal system. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 41(3), 586-600.

Wangdee, C., Leegwater, P. A. J., Heuven, H. C. M., van Steenbeek, F. G., Meutstege, F. J., Meij, B. P. & Hazewinkel, H. A. W. (2014). Prevalence and genetics of patellar luxation in Kooiker dogs. *The Veterinary Journal*, 201(3), 333-337.

Wangdee, C., Hazewinkel, H. A. W., Temwichitr, J. & Theyse, L. F. H. (2015). Extended proximal trochleoplasty for the correction of bidirectional patellar luxation in seven Pomeranian dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 56(2), 130-133.

Warnock, J. J., Fox, D. B., Stoker, A. M. & Cook, J. L. (2011). Evaluation of in vitro growth factor treatments on fibrochondrogenesis by synovial membrane cells from osteoarthritic and nonosteoarthritic joints of dogs. *American journal of veterinary research*, 72(4), 500-511.

Watt, S. L., Lunstrum, G. P., McDonough, A. M., Keene, D. R., Burgeson, R. E. & Morris, N. P. (1992). Characterization of collagen types XII and XIV from fetal bovine cartilage. *Journal of Biological Chemistry*, 267(28), 20093-20099.

Weber, U. T. (1992). *Morphologische Studie am Becken von Papillon-Hunden: unter Berücksichtigung von Faktoren zur Aetiologie der nichttraumatischen Patellaluxation nach medial*. Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich. Vet. med. Diss.

Weber, L., Meigel, W. N. & Spier, W. (1978). Collagen polymorphism in pathologic human scars. *Archives of dermatological research*, 261(1), 63-71.

Weigang, E., Ghanem, N., Chang, X. C., Richter, H., Frydrychowicz, A., Szabo, G. & Beyersdorf, F. (2006). Evaluation of three different measurement methods for dural ectasia in Marfan syndrome. *Clinical radiology*, 61(11), 971-978.

Weingart, C., Haußer, I., Kershaw, O. & Kohn, B. (2014). Ehlers-Danlos-like-Syndrom bei einer Katze. *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*, 156(11), 543-548.

Weinstock, M., & Leblond, C. P. (1974). Formation of collagen. In *Federation proceedings* (Vol. 33, Nr. 5, S. 1205-1218).

Wess, T. J. (2008). Collagen fibrillar structure and hierarchies. In Fratzl, P. (Hrsg.), *Collagen - structure and mechanics* (S. 49-80). New York City: Springer US.

Wessely, M. (2013). *Histologische Untersuchungen am intakten und rupturierten kranialen Kreuzband der Katze*. Ludwig-Maximilians-Universität München. Vet. med. Diss.

Westermarck, A., Leiggener, C., Aagaard, E. & Lindskog, S. (2011). Histological findings in soft tissues around temporomandibular joint prostheses after up to eight years of function. *International journal of oral and maxillofacial surgery*, 40(1), 18-25.

White, S. D., Affolter, V. K., Bannasch, D. L., Schultheiss, P. C., Hamar, D. W., Chapman, P. L. & Ihrke, P. J. (2004). Hereditary equine regional dermal asthenia ('hyperelastosis cutis') in 50 horses: clinical, histological, immunohistological and ultrastructural findings. *Veterinary dermatology*, 15(4), 207-217.

Whittick, W. G. (1974). The stifle joint of the dog. In Whittick, W. G. (Hrsg.), *Canine Orthopaedics* (S. 309-319). Philadelphia: Lea & Febiger.

Wick, G., Brunner, H., Penner, E. & Timpl, R. (1978). The diagnostic application of specific antiprocollagen sera. II. Analysis of Liver Biopsies. *International Archives of Allergy and Immunology*, 56(4), 316-324.

Wiegand, P., Domhöver, J. & Brinkmann, B. (1996). DNA-Degradation in formalinfixierten Geweben. *Der Pathologe*, 17(6), 451-454.

Willauer, C. C. & Vasseur, P. B. (1987). Clinical results of surgical correction of medial luxation of the patella in dogs. *Veterinary Surgery*, 16(1), 31-36.

Winslow, J. B. (1732). *Exposition anatomique de la structure du corps humain par Jacques Bénigne Winslow*. Paris: G. Desprez et J. Desessartz.

Wolff, J. (1892). Das Gesetz der Transformation der Knochen. *DMW-Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 19(47), 1222-1224.

Wondratschek, C. (2009). *Histopathologische Veränderungen an Gelenkkapsel und Gelenkknorpel bei caniner Osteoarthritis in Korrelation zum klinischen Erscheinungsbild*. Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin. Vet. med. Diss.

- Wong, K., Sun, F., Trudel, G., Sebastiani, P. & Laneuville, O. (2015). Temporal gene expression profiling of the rat knee joint capsule during immobilization-induced joint contractures. *BMC musculoskeletal disorders*, 16(1), 125.
- Wu, J. J., Eyre, D. R. & Slayter, H. S. (1987). Type VI collagen of the intervertebral disc. Biochemical and electron-microscopic characterization of the native protein. *Biochem. J*, 248, 373-381.
- Wünsche, A. & Budras, K. D. (2004). Synoviale Einrichtungen (Synovialstrukturen) der Schultergliedmaße. In Budras, K.-D., Fricke W. & Richter R. (Hrgs.), *Atlas der Anatomie des Hundes. Lehrbuch für Tierärzte und Studierende*. (S. 26-27). Hannover: Schlütersche Verlagsanstalt.
- Wyllie, J. C., Haust, M. D. & More, R. H. (1966). The fine structure of synovial lining cells in rheumatoid arthritis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 15(3), 519.
- Yamaguchi, N., Benya, P. D., Van der Rest, M. & Ninomiya, Y. (1989). The cloning and sequencing of alpha 1 (VIII) collagen cDNAs demonstrate that type VIII collagen is a short chain collagen and contains triple-helical and carboxyl-terminal non-triple-helical domains similar to those of type X collagen. *Journal of Biological Chemistry*, 264(27), 16022-16029.
- Zalewski, A. (1928). Lymphatiques de la capsule articulaire chez l'homme et résorption par les synoviales. *Travaux Soc. Sci. et lettres de Vilno* 4, Nr. 3, classe des sciences mathém. et naturelles.
- Zhang, Z., Kang, Y., Zhang, H., Duan, X., Liu, J., Li, X. & Liao, W. (2012). Expression of microRNAs during chondrogenesis of human adipose-derived stem cells. *Osteoarthritis and Cartilage*, 20(12), 1638-1646.
- Zhou, H., Sivasankar, M., Kraus, D. H., Sandulache, V. C., Amin, M. & Branski, R. C. (2011). Glucocorticoids regulate extracellular matrix metabolism in human vocal fold fibroblasts. *The Laryngoscope*, 121(9), 1915-1919.
- Zimny, M. L. (1988). Mechanoreceptors in articular tissues. *American journal of anatomy*, 182(1), 16-32.

9 REAGENZIENVERZEICHNIS

Verwendete Chemikalien	Herstellerfirma - Chargennummer oder Zusammensetzung
Blockierpuffer A	50 ml PBS, 1 ml Tween 20, 2,5 g Milchpulver
Citronensäure	Merck, Darmstadt, Deutschland - 8.18707
Ethanol, vergällt mit 1% MEK	Berkel AHK, Ludwigshafen, Deutschland - 2642M
Hämalaunlösung sauer nach Mayer	Roth, Karlsruhe, Deutschland - T865
HCl rauchend 37%	Merck, Darmstadt, Deutschland - 1.00317
Inkubationspuffer A	8 ml PBS, 2 ml Blockierpuffer A
Milchpulver	Glücksklee, Reichelt, Deutschland
NaCl	Roth, Karlsruhe, Deutschland - 3957
NaOH 1n	Roth, Karlsruhe, Deutschland - K021
PBS powder (nach Dulbecco A, ohne Ca ²⁺ und Mg ²⁺ -Ionen)	Serva, Heidelberg, Deutschland - 47302
Roti®-Histokitt II (Eindeckmittel)	Roth, Karlsruhe, Deutschland - T160
Trinatriumcitrat	Merck, Darmstadt, Deutschland - 1.06448

Tris	Roth, Karlsruhe, Deutschland - AE15.2
Trypsin	Boehringer, Ingelheim am Rhein, Deutschland - 109 827
Tween 20	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland - P1379
Xylol	Roth, Karlsruhe, Deutschland - CN80
PBS Waschpuffer	Aus PBS powder, Serva 47302, Ansatz nach Herstellerangabe (9,55g powder/L)
TBS Waschpuffer	Eigener Ansatz: 0,05M TRIS-HCl pH 7,5 + 0,9% NaCl
Wasserstoffperoxid 30%	Roth, Karlsruhe, Deutschland - 8070.2

Verwendete Antikörper und Seren	Herstellerfirma - Artikelbezeichnung
Polyclonal rabbit anti-Collagen I antibody	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab34710
Polyclonal rabbit anti-Collagen III antibody	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab7778
Polyclonal rabbit anti-Collagen IV antibody	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab6586
Polyclonal rabbit anti-Collagen V antibody	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab7046
Polyclonal rabbit anti-Collagen VI antibody	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab6588
Polyclonal rabbit anti-Collagen X antibody	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab58632
Donkey anti-Rabbit IgG H&L (HRP)	Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich - ab6802
EnVision+ System- HRP Labelled Polymer Anti-Rabbit	Dako, Hamburg, Deutschland - K4002
Kaninchen-Ig	Dako, Hamburg, Deutschland - X0903
Kaninchen-Normalserum	Dako, Hamburg, Deutschland - X0902
LinBlock	Linaris, Dossenheim, Deutschland - RAG0149UK
DAB	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland D5905-100TAB oder Roth, Karlsruhe, Deutschland CN75.3 (Pulver)
Histogreen	Linaris, Dossenheim, Deutschland - E109

Publikationen

Peer, P.; Hünigen, H.; Brunnberg, L.; Plendl, J. (2015):

Collagen arrangement in the canine knee joint capsule with regard to patellar luxation.

8th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists

Poznan, Poland – 15.07.-18.07.2015.

Peer, P.; Hünigen, H.; Brunnberg, L.; Plendl, J. (2014):

Specific distribution of collagens in the knee joint capsule in canine patellar luxation.

18th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations

Singapore – 28.11.-30.11.2014.

Peer, P.; Hünigen, H.; Brunnberg, L.; Plendl, J. (2014):

The knee joint capsule in dogs with patellar luxation: histology and collagen distribution.

the XXXth Congress of the European Association of Veterinary Anatomists

Cluj-Napoca, Romania – 23.07.-26.07.2014.

In: Anatomia, Histologia, Embryologia; 43(Suppl. 1), S. 68, 2014

Peer, P.; Brunnberg, L.; Plendl, J. (2013):

Histo-morphological characteristics of the canine knee joint capsule in dogs displaying patellar luxation.

7th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists

Leipzig – 17.07.-20.07.2013.

In: Proceedings of the 7th Meeting of the Young Generation of Veterinary Anatomists

Lehmanns Media-Verlag Berlin, S. 30, 2013

ISBN: 978-3-86541-548-6

Danksagung

Danken möchte ich allen, die mich unterstützt und gefördert haben, diese Schrift anzufertigen.

Mein Doktorvater, Herr Prof. Leo Brunberg, hat mir das interessante Thema gegeben. Er hat mir nicht nur die Chance gegeben, eine umfangreiche klinische Erfahrung zu gewinnen, sondern hat mich auch fortwährend beraten, geduldig meine Fragen beantwortet und mir vertraut. Seine wertvollen Literaturhinweise und sorgfältige Korrektur des Manuskriptes waren eine geschätzte Unterstützung.

Ebenso danken möchte ich Frau Prof. Johanna Plendl. Kritisch konstruktiv begleitete sie die Fragestellungen der Arbeit, half mir mit einer akkuraten Korrektur des Manuskripts und nahm sich stets für meine Fragen Zeit.

Besonders danken möchte ich auch Frau Dr. Hana Hünigen für ihre hilfreichen Anregungen. Sie hat mich fortwährend gut beraten, verfolgte die Problematik der Arbeit mit Interesse und war fortwährend eine freundliche Unterstützung.

Weiter danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Veterinär-Anatomie, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, insbesondere Frau Tania Fuhrmann-Selter für die Hilfe, Einarbeitung und lehrreichen Erfahrungen bei der Herstellung der immunhistochemischen Präparate und Frau Karin Briest Forch für die Hilfe bei der histologischen Aufarbeitung der Proben. Ebenso gilt der Dank an Frau Barbara Drewes für ihre kritische Beurteilung und ihre Ratschläge für die lichtmikroskopischen Verfahren.

Herzlichster Dank gilt meinen Eltern, deren stets liebevolle Unterstützung und finanzielle Förderung das Studium und diese Arbeit erst ermöglicht haben. Sie haben immer an mich und die Arbeit geglaubt und mich immer wieder neu motiviert.

Danke.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, Petra Peer, die vorliegende Dissertation selbstständig und nur mit den in dieser Arbeit aufgeführten Hilfen und der angegebenen Literatur verfasst zu haben.

Diese Arbeit wurde noch in keinem früheren Promotionsverfahren angenommen oder abgelehnt.

Berlin, den 29.06.2015

Petra Peer